





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**

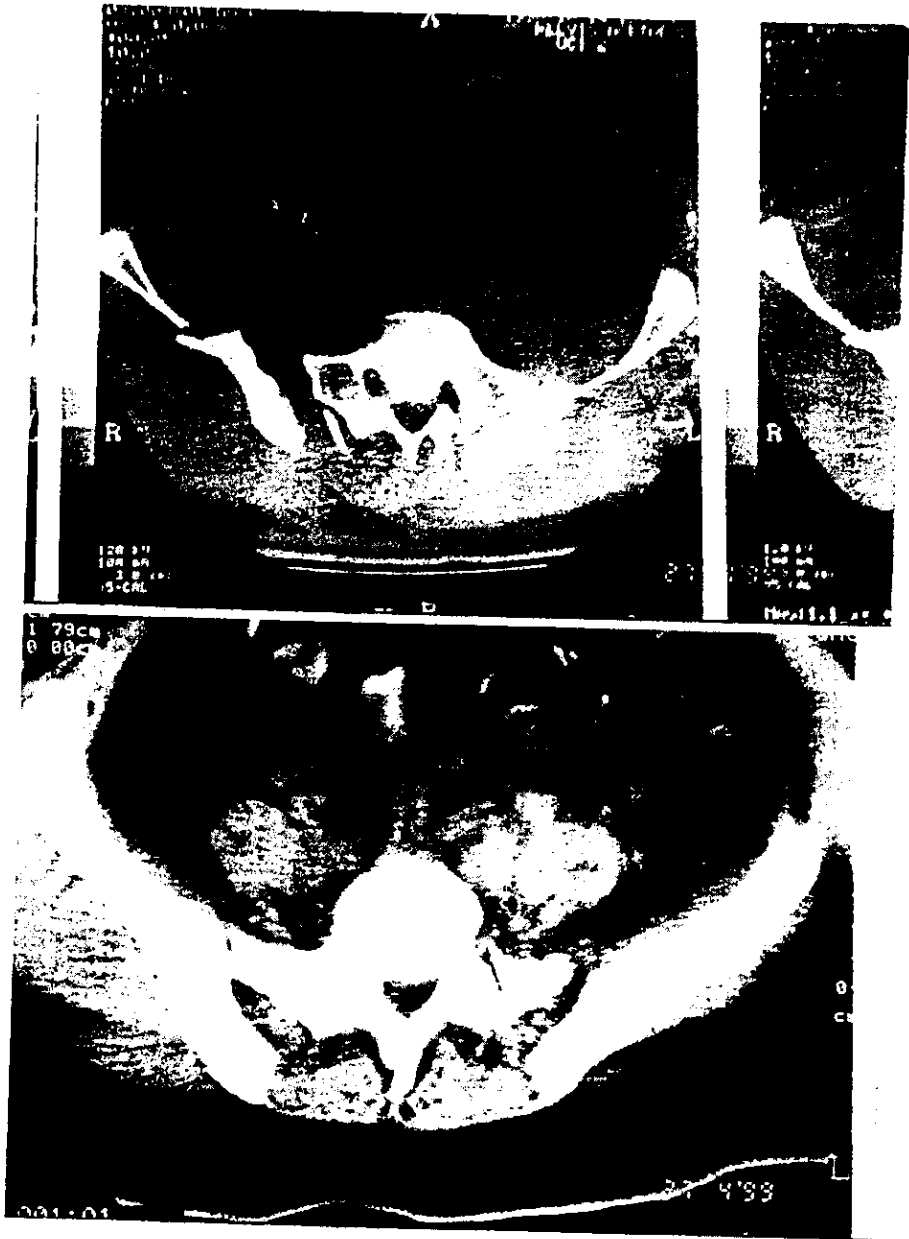


**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta 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.



## II. INTRODUCCIÓN

### i. Regulación de Hormonas Gonadales.

La periodicidad reproductiva observada en las hembras de los mamíferos son el resultado de una serie de cambios debidos a la producción de estrógenos y progestágenos que afectan la morfología, el control de la actividad metabólica del útero y otros tejidos sexuales accesorios. En los roedores, regulan aspectos de la conducta sexual y las actividades fisiológicas esenciales para la reproducción de la especie (1). Los cambios fisiológicos antes mencionados son regulados por hormonas secretadas por el eje hipotálamo-adenohipófisis-gónadas. La porción hipotalámica del cerebro es la fuente de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) que pasan a través de la vena porta a la adenohipófisis, donde estimulan la liberación de la hormona folículo estimulante (FSH) y de la hormona luteinizante (LH). La FSH actúa en los ovarios sobre las células de la granulosa y de los folículos; y LH en los testículos sobre las células de Sertoli y de Leydig, como se observa en al figural (1).

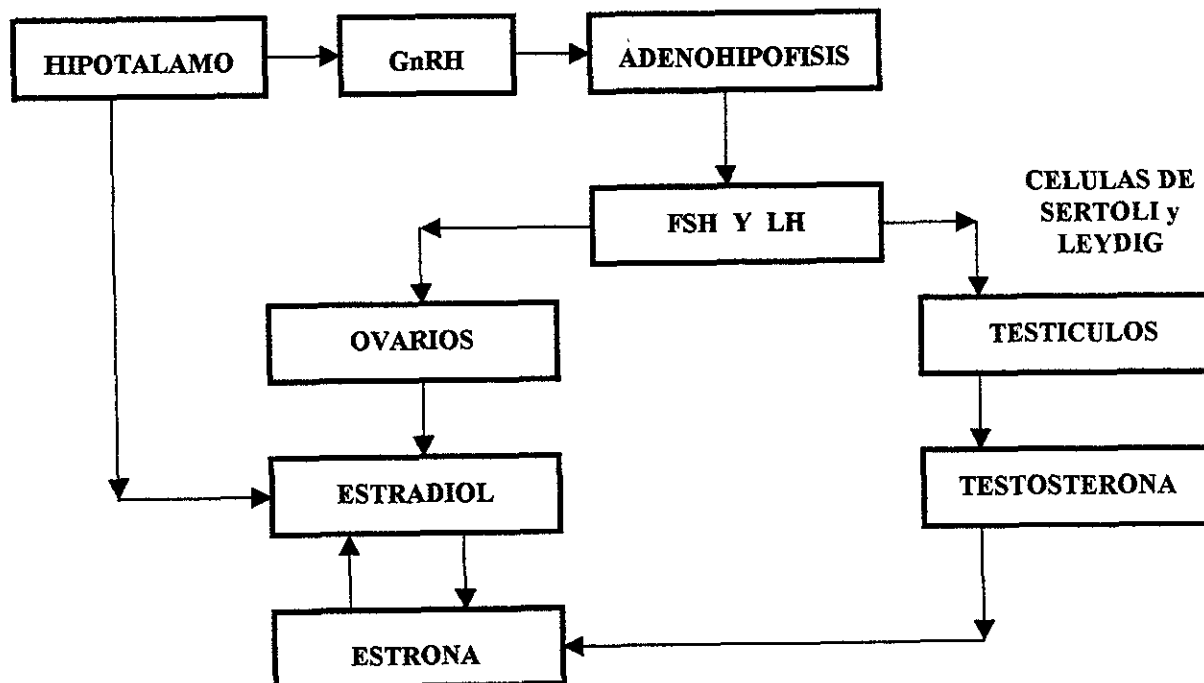


Figura 1. Control hormonal de la biosíntesis de estrógenos y andrógenos. (1)

En los ovarios, la LH se une a su receptor en células de la Teca, esta unión estimula la producción de adenosin 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP) activando la biosíntesis de androstendiona y testosterona. Posteriormente estas difunden a la células de la granulosa, que en presencia de FSH, y cAMP conducen a la aromatización de los andrógenos a estrógenos, produciendo estrona y estradiol (figura 2).

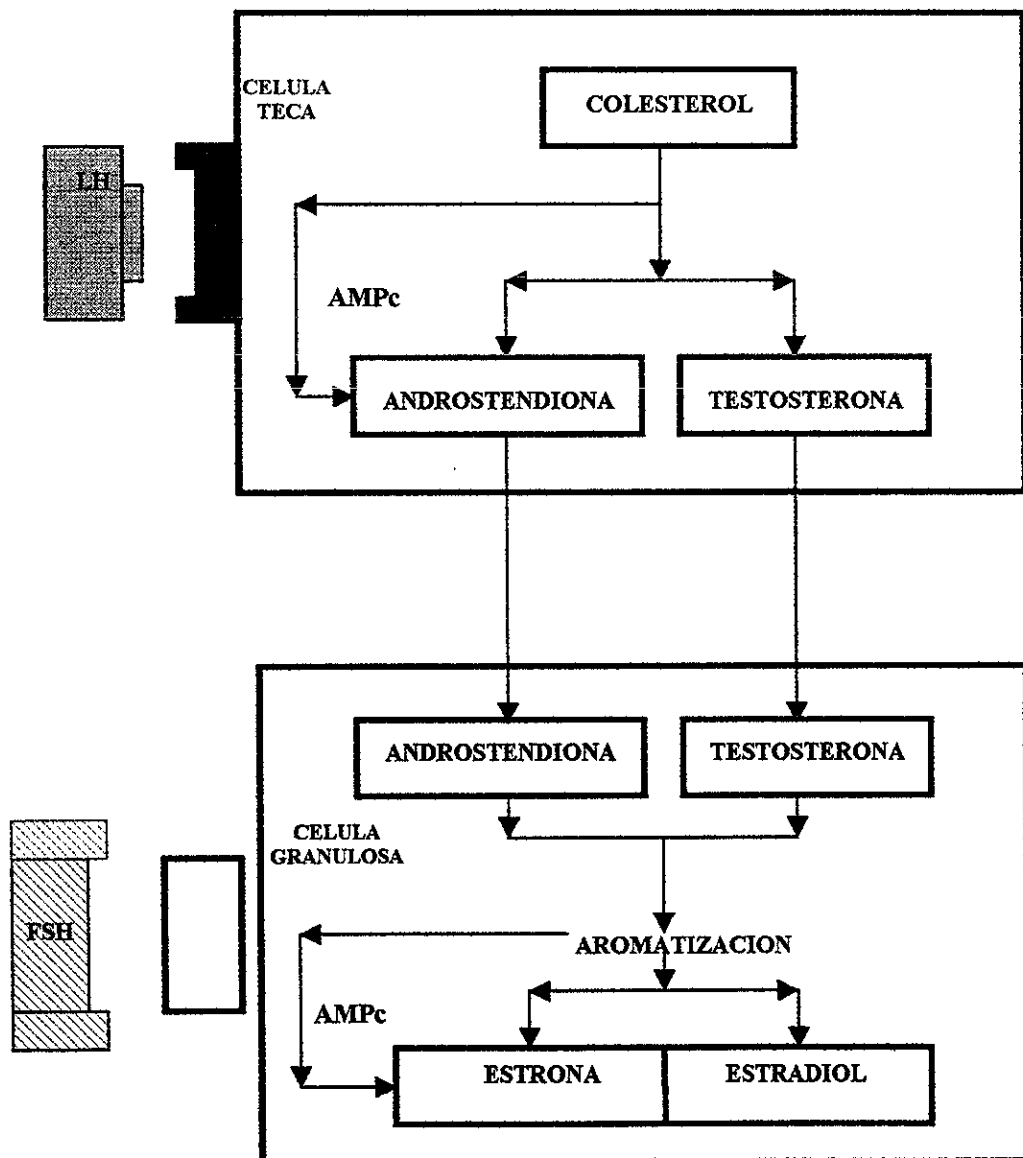


Figura 2. Biosíntesis de estrógenos y andrógenos en el ovario.(17)

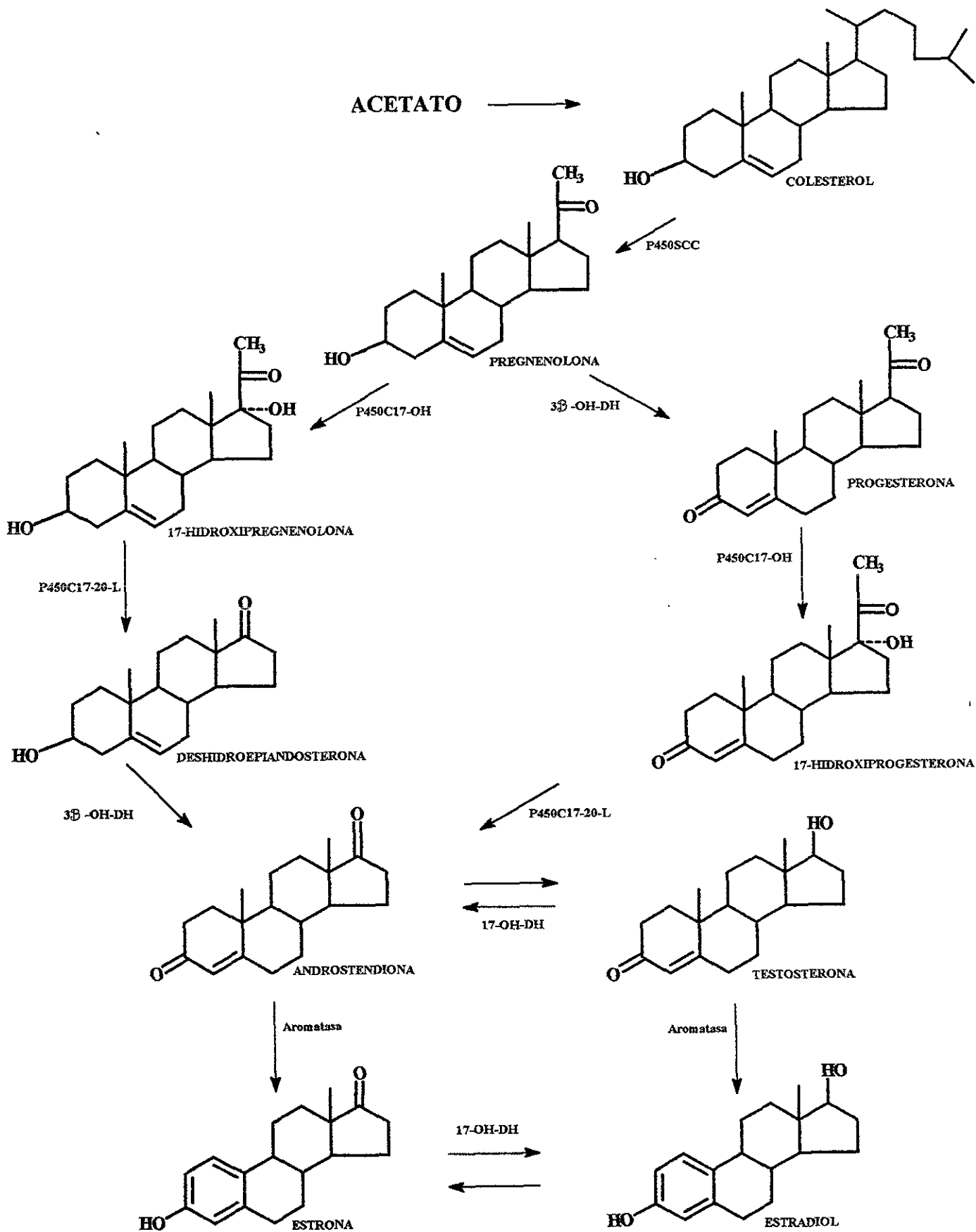


Figura 3. Biosíntesis de estrógenos y andrógenos (17).

La actividad hipotalámica es condicionada en gran parte por los estímulos del ambiente externo, y por la concentración de las hormonas sexuales de la circulación, que es modulada por un proceso de retroalimentación positiva o negativa. Los órganos sexuales accesorios y la mayor parte de los caracteres sexuales secundarios, así como la conducta sexual en animales están bajo control directo de la concentración de las hormonas gonadales, andrógenos, estrógenos y progestágenos (1, 17).

## **ii. Biosíntesis de Hormonas Gonadales**

Las hormonas esteroidales tienen como núcleo estructural al ciclopentano perhidrofenantreno. La biosíntesis de estas hormonas, tiene como precursor al colesterol, del cual se derivan las cinco clases diferentes de hormonas esteroides: andrógenos, estrógenos, progestágenos, glucocorticoides y mineralcorticoides (1, 17). Estas hormonas contienen de 18 a 21 átomos de carbono. En la primera etapa de su biosíntesis se lleva a cabo la eliminación de seis átomos de la cadena lateral del colesterol que conduce a la pregnenolona. En los procesos de formación de estas hormonas, participan un grupo de enzimas que forman parte de un complejo de oxidasas denominado citocromo P450 que se localizan en las mitocondrias o en el retículo endoplásmico.

La pregnenolona puede seguir dos rutas de biotransformación: la vía  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -hidroxi, y la vía  $\Delta^4$ -3-cetona. En la primera ruta, se forma 17alfa-hidroxipregnenolona y posteriormente dehidroepiandrosterona, ambas reacciones están catalizadas por el citocromo P450C17-hidroxilasa (P450C17-OH) y/o 17,20-liasa (P450C17-20L). En la segunda, la acción de la 3 $\beta$ -hidroxi dehidrogenasa (3 $\beta$ OHDH), sobre la pregnenolona, dá lugar a progesterona, que también bajo la influencia de P450C17-OH produce la 17alfa-hidroxiprogesteroa (1, 17).

Posteriormente, por un lado, la dehidroepiandrosterona, por acción de la 3 $\beta$ OHDH y por otro lado la 17-hidroxiprogesterona, por acción de la P450C17-20L, producen la androstendiona que es transformada a testosterona. La androstendiona y la testosterona, se transforman en estrona y estradiol respectivamente, por acción de la P450 aromatasa (P450Ar). En la figura 3 se ilustra la secuencia de estas biotransformaciones (17).

### **iii. Mecanismo de Acción de Estrógenos**

Los órganos blanco para los estrógenos son: útero, vagina, glándula mamaria, adenohipófisis e hipotálamo, a los que se fijan de manera específica debido a la presencia de receptores proteicos intracelulares en estos tejidos. Su mecanismo de acción se ilustra en la figura 4 y consiste en la difusión simple del estrógeno a través de la membrana celular y su paso posterior a la membrana nuclear. En el núcleo se une al receptor de estrógenos, formando el complejo hormona receptor que interacciona con elementos de respuesta (ER) específicos de estrógenos en el DNA. Estos eventos dan como consecuencia la síntesis de RNA mensajero, el cual se transporta hacia los ribosomas y estimula la síntesis de proteínas que da como resultado la activación celular específica (1).

### **iv. Evaluación de la Actividad Estrogénica "in vivo"**

La evaluación de la actividad estrogénica "*In Vivo*" es indispensable cuando se sospecha o se tienen evidencias de experimentos "*In Vitro*" de producción de efectos estrogénicos de alguna substancia. Un modelo ampliamente reconocido para la evaluación de actividad estrogénica es el desarrollado por Allen y Doisy (14) que consiste en la extirpación quirúrgica de los ovarios en la rata produciendo atrofia del útero por la carencia de producción de estrógenos endógenos. Este modelo permite llevar a cabo la terapia de sustitución con la administración (exógena) de E<sub>2</sub> que restaura las funciones gonadales. Así mismo permite comparar los efectos producidos por E<sub>2</sub> con el producido por otras substancias de las que se sospeche puedan tener efecto estrogénico. El modelo de Allen-Doisy utiliza como parámetro de evaluación, los cambios histológicos que se presentan durante el ciclo reproductivo que pueden detectarse en el exudado vaginal de los roedores.



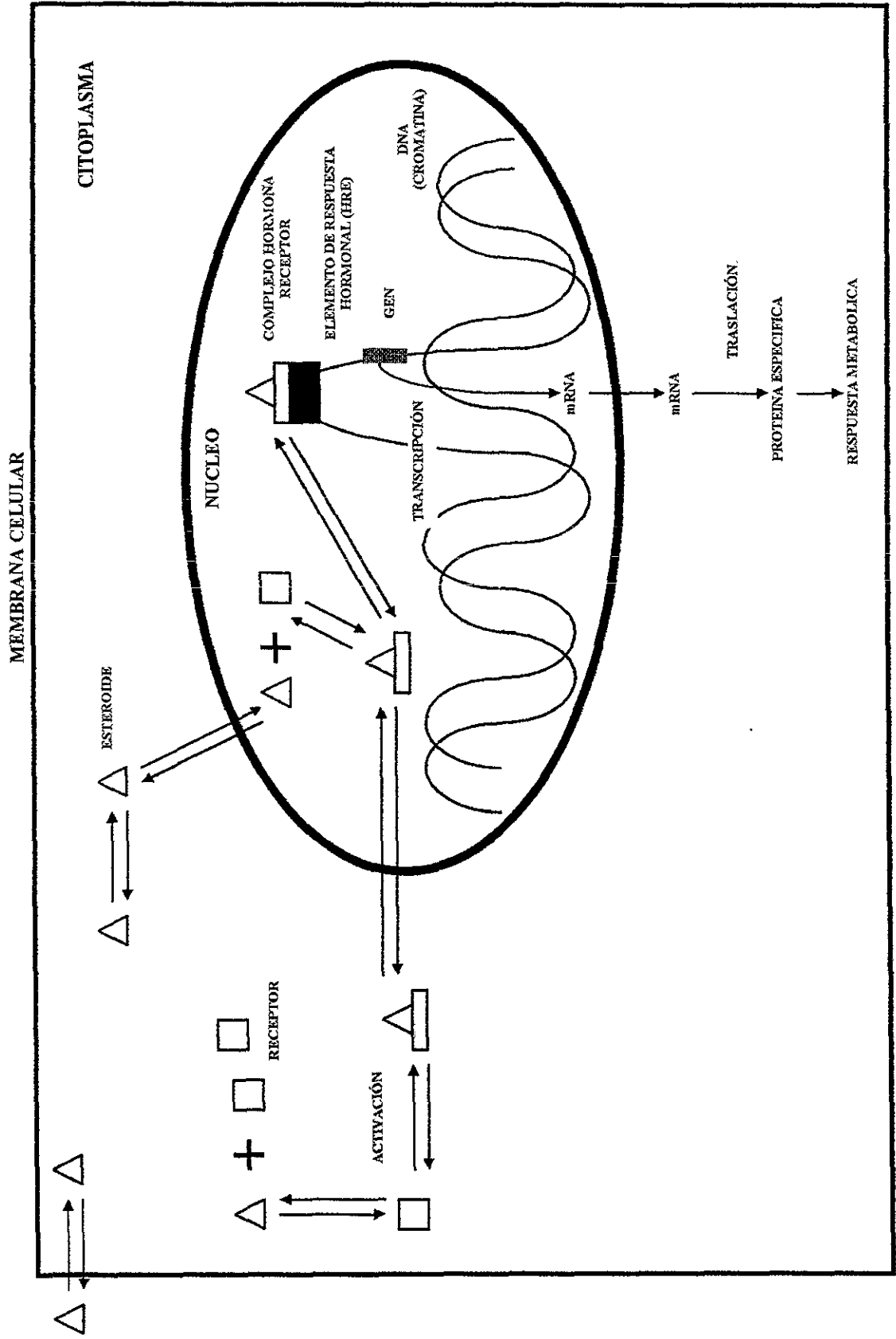


Figura 4. Modelo general de acción estrogénica. La hormona se enlaza con un receptor intracelular en el citoplasma o en el núcleo y causa un cambio conformacional. El complejo hormona receptor se une a una región específica del DNA denominado elemento de respuesta hormonal (HRE). Esta interacción da como resultado la activación o represión de un restringido número de genes (17).

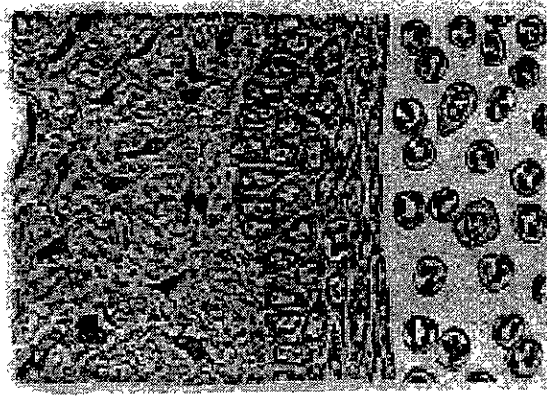
## v. Ciclo Reproductivo del Ratón.

El ciclo reproductivo en las hembras de los mamíferos, requiere de la participación de los órganos que integran su función en condiciones óptimas para la fecundación, la implantación y el desarrollo embrionario. Un término que abarca estos procesos es el de ciclos sexuales, que se han definido y clasificado basándose en el tipo de ovulación que presenta cada especie.

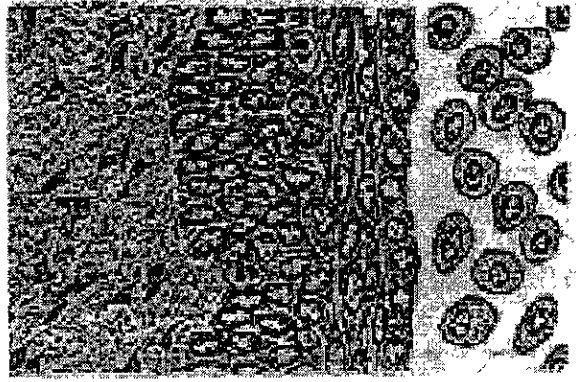
Durante el desarrollo se producen cambios cíclicos en las hembras que culminan en el estro, fase de la ovulación donde se presenta la receptividad sexual al macho y con ello la fecundación. Se denomina ciclo estral al período que transcurre entre dos estadios de estro cuya duración es variable dependiendo de la especie. El ciclo estral de los roedores se divide de manera general en cuatro fases, las cuales tienen características citológicas, histológicas y conductuales bien definidas. Estas son: estro, metaestro, diestro y proestro. A continuación se describirán estas fases tratando solo las características más relevantes del estadio (16).

**Estro:** se caracteriza como la fase de receptividad sexual y en la que ocurre la ovulación. Los cambios conductuales comprenden: vibración de las orejas, lordosis o arqueo en respuesta al manejo o al aproximarse el macho. En esta etapa el ovario presenta folículos maduros, debido a la acción de la FSH que incrementa su concentración y estimula la producción de estrógenos. En el endometrio aumenta la proliferación glandular, el útero aumenta de tamaño y se distiende debido a la acumulación del líquido intraluminal. Se presenta aumento de mitosis en la mucosa vaginal, y a medida que se acumulan nuevas células las capas superficiales se queratinizan, volviéndose escamosas y cornificadas (figura 5A).

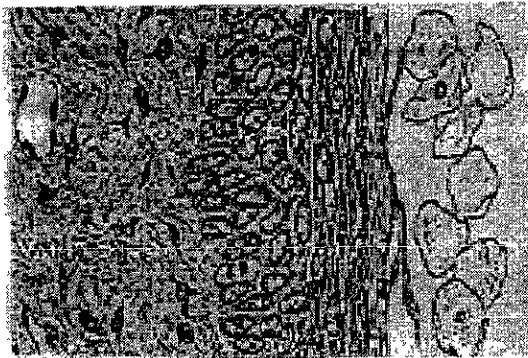
**Metaestro:** se presenta poco después de la ovulación, en esta fase ya no se presenta receptividad sexual. Se caracteriza por desarrollo del cuerpo lúteo y pequeños folículos, el ovario, empieza a secretar progesterona por influencia de la LH, y los niveles de estrógenos disminuyen. También disminuye la vascularización y contractilidad del útero, aparecen leucocitos en la luz vaginal junto con unas cuantas células cornificadas, esta fase es distinguible también por que además se secreta mucina, la cual da un aspecto sucio a las preparaciones de exudado vaginal (figura 5B).



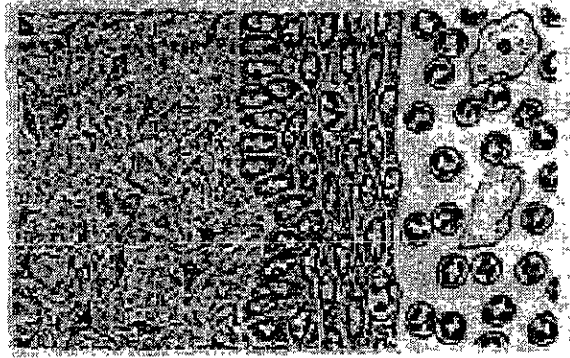
A



B



C



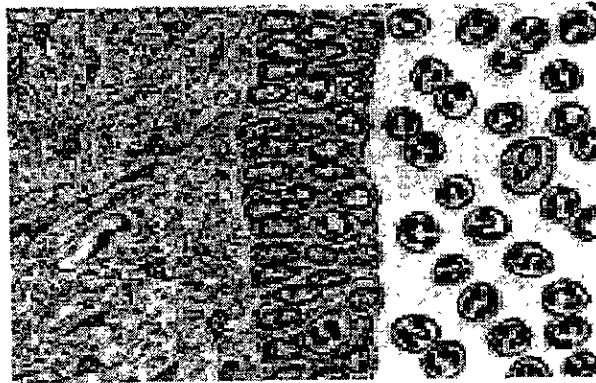
D

Porcion de la pared vaginal

Estroma

Epitelio

Tipos de células presentes en el lumen vaginal.



E

Figura 5.- Ciclo Reproductivo del Ratón

**Diestro:** durante esta fase también se rechaza al macho, frecuentemente se le clasifica como fase del cuerpo amarillo, predomina la influencia de la progesterona sobre las estructuras sexuales accesorias, los niveles de estrógenos disminuyen notablemente. En el ovario se encuentran uno o más cuerpos amarillos. Los úteros son pequeños y levemente contráctiles. La mucosa vaginal es delgada y los leucocitos migran a través de ella, dando al frotis una imagen que consiste casi en su totalidad de este tipo de células. Al finalizar esta etapa, los niveles de estradiol y progesterona disminuyen considerablemente (figura 5C).

**Proestro:** fase en la que la hembra empieza a tener receptividad al macho. Esta antecede a la ovulación. En el ovario se inicia la maduración de los folículos, el endometrio inicia la proliferación glandular, los niveles de progesterona disminuyen, la liberación de la FSH estimula el crecimiento del folículo y los niveles de estrógenos se elevan. Aumenta la retención de líquido en los úteros y su contractilidad. El frotis vaginal se caracteriza por la presencia de células redondas nucleadas (figura 5D).

Otro modelo utilizado para evaluar la actividad estrogénica es el desarrollado por Evans Varney y Koch (15) que se basa en el efecto uterotrópico que produce el E<sub>2</sub> en roedores cuando estos son tratados con estrógenos. Este método puede ser utilizado tanto en animales adultos como en animales inmaduros y constituye un parámetro muy confiable para evaluar estrogénicidad.

#### **vi. Estrógenos Ambientales**

En los últimos 50 años con el advenimiento de la era industrial, ha habido un incremento considerable de la producción de compuestos químicos que son liberados después de su utilización al ambiente, esto ha conducido a un desequilibrio ecológico y está contribuyendo de manera importante a la extinción de un gran número de especies (18).

Los contaminantes ambientales se encuentran de manera casi constante en cualquier ecosistema, algunos tienen la propiedad de bioacumularse produciendo efectos fisiológicos sobre los sistemas inmunológico, cardiovascular, y endocrino entre otros. Sus efectos sobre el sistema endocrino pueden producir interferencia con los procesos normales de reproducción y como consecuencia en el desarrollo de algunas especies animales y del hombre (18).

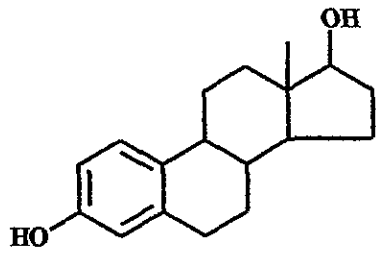
Entre los contaminantes del ambiente se encuentra un grupo de sustancias a las cuales se les ha denominado simuladores hormonales o estrógenos ambientales (EA).

Estos productos son de origen natural o sintético de estructura química muy diversa que no guarda relación aparente con las hormonas naturales, sin embargo, poseen actividad estrogénica (figura 6). Los EA tienen la capacidad de unirse al receptor del estradiol, y de esta manera simular o bloquear los efectos de los estrógenos naturales produciendo efectos agonistas o antagonistas estrogénicos (19). Por otra parte también pueden interferir en algún paso de la biosíntesis o interferir con el metabolismo de los estrógenos naturales (20-23).

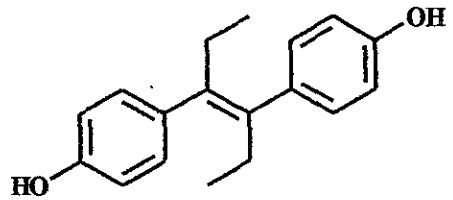
Algunos ejemplos de ellos son el DDT, policlorobencenos (PCBs), dioxinas, p-alquilfenoles y dietilstilbestrol (DEB) de los que dada su importancia describiremos a continuación.

Se estima que se ha liberado en el ambiente cerca de 100 millones de Kg de DDT. Este fármaco produce efectos estrogénicos en mamíferos, aves, y reptiles (2, 3). Tanto el DDT como su producto de biotransformación el DDE se unen al receptor de estrógenos, y producen inhibición de su biosíntesis (4-7). La exposición a estos fármacos en aves, reptiles y mamíferos se ha relacionado con infertilidad y efectos carcinogénicos (8).

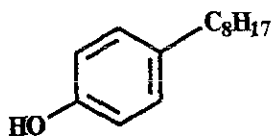
Los PCBs son compuestos relacionados estructuralmente con el DDT, que fueron utilizados entre 1929 y 1977, en la producción de plásticos, resinas, pinturas, pegamentos, jabones y cosméticos, años en los cuales se calcula que hubo una producción de 540,000 toneladas, de las cuales se estima que más de la mitad se encuentra en el ambiente (3, 8). En algunas especies de



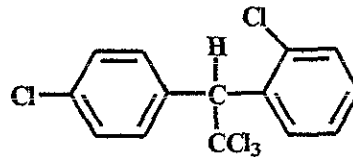
**17β-Estradiol**



**Diethylstilbestrol (DES)**

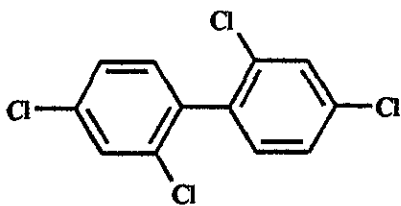


**Octilfenol**

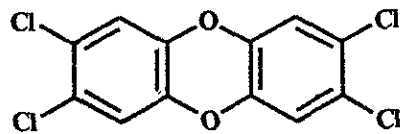


**Diclorodifeniltricloroetano**

**o, p-DDT**



**Bifenilos policlorados**



**Dioxinas**

**Figura 6. Estructura de algunos estrógenos ambientales (18).**

aves en extinción como; águilas, pelicanos, cuervos, gaviotas y golondrinas que han sido estudiadas se han detectado PCBs en sus huevos cuyos productos hembras y machos son estériles (8).

Las dioxinas son sustancias que tienen propiedades herbicidas potentes y de alta toxicidad y carcinogenicidad. La administración prenatal de dioxinas en roedores produce en las crías macho reducción en el peso testicular, de la cuenta espermática, y del número de células de Sertoli, también se manifiesta con mayor frecuencia criptorquidia (8).

Otro compuesto muy importante debido al amplio uso que se le dio entre 1945 y 1971, para prevenir el aborto en el primer trimestre del embarazo, es el dietilestilbestrol (DEB). Se calcula que entre 1 y 4.5 millones de niños y niñas nacidos en estos años estuvieron expuestos al DEB en el útero. Sus efectos no fueron evidentes en los recién nacidos, sin embargo en la vida adulta, estos presentaron trastornos el tracto reproductor. En mujeres adolescentes que habían sido expuestas prenatalmente al DEB se observó un aumento de casos raros de adenocarcinoma cervical. En los varones, pudo observarse disminución de la fertilidad, anomalías en la cantidad y calidad del esperma, así como, un incremento en la frecuencia de quistes epididimales y criptorquidia (8, 18). En las madres no se encontró correlación de su uso y cáncer de útero o mama, siendo el feto más sensible a los efectos dañinos del DEB.

Son de particular interés los hallazgos recientes de la actividad estrogénica que pueden producir los alquil fenoles. Este grupo de EA provienen de la degradación de detergentes, que finalmente llegan a los ríos y lagos en concentraciones altas. Sin embargo, estudios recientes realizados por Sumpter en Inglaterra han demostrado la presencia de un grupo de alquifenoles, entre los cuales el octilfenol y el nonilfenol produjeron efectos estrogénicos en peces, ranas y roedores (5, 21-23).

Experimentos *In Vitro* han demostrado que el octilfenol es capaz de competir con el E<sub>2</sub> por su receptor; produce un aumento en el crecimiento de células tumorales de mama y aumenta la transcripción de células tumorales MCF-7, línea celular cuyo crecimiento es dependiente de estrógenos (5, 23, 24).

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS

Los hallazgos anteriores han dado como resultado que se incremente la investigación dirigida a la detección de sustancias con actividad estrogénica que estén presentes en el ambiente o bien sustancias a las cuales estemos expuestos de manera constante con el objeto de alertar el posible riesgo de que interfieran con el desarrollo y reproducción de animales y humanos.

Una de las características comunes del grupo de sustancias consideradas como EA es su alta liposolubilidad, por lo que se acumulan en tejido adiposo tanto de animales como de humanos permaneciendo por periodos prolongados. Su excreción es lenta sin embargo, se favorece durante la lactancia encontrándose en la leche materna, lo que constituye un motivo de gran preocupación ya que diversos estudios muestran que estas sustancias pueden interferir en los procesos de reproducción de roedores, aves, peces, monos y el humano (18).

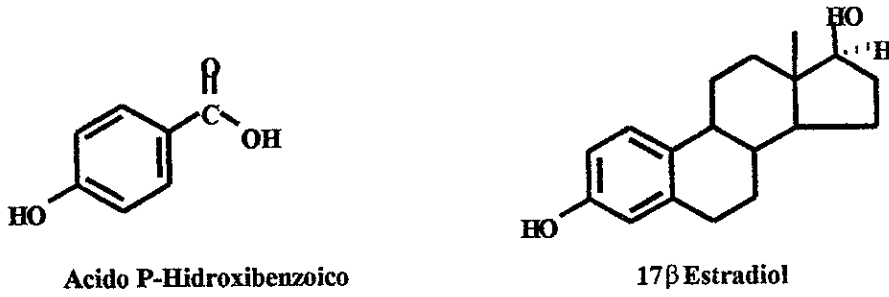
En estudios recientes, se encontró que la administración de ácido benzoico (AB) produjo efectos estrogénicos débiles en roedores. Este fármaco se utiliza de manera muy frecuente como conservador, principalmente en alimentos, debido a sus propiedades antibacterianas y antifúngicas (11).

Por otra parte aunque se conoce desde los años 30 que compuestos fenólicos son capaces de producir efectos estrogénicos en roedores, en los últimos años se han incrementado los estudios de relación estructura-actividad estrogénica basados en datos de cristalografía de rayos X y modelos moleculares en los que se señala la importancia del anillo aromático fenólico del estradiol como un requisito inicial para su unión al receptor y producción de los cambios conformacionales de eventos que desencadenen la respuesta estrogénica (12-13).

El ácido p-hidroxibenzoico (APHB) contiene en su estructura química un hidroxilo en posición para, que guarda una relación estructural con el E<sub>2</sub> (figura 7) lo que condujo a pensar que el APHB puede tener actividad estrogénica. Este fármaco es producto de biotransformación de un grupo de sustancias que se emplean ampliamente como conservadores de cosméticos, productos



farmacéuticos y de alimentos, conocidos como parabenos (Pbens) por lo que su evaluación estrogénica es de gran importancia (25-27).



**Figura 7. Estructuras de ácido p-hidroxibenzoico y estradiol**

## BIOMECANICA

Para poder entender las implicaciones de una disrupción pélvica es importante conocer la función biomecánica de esta para de esta manera entender el tratamiento que se establece, dado que la pelvis es en donde se transmiten las cargas de la columna vertebral hacia el fémur, es necesario que esta se encuentre estable entendiéndose a esto a la pelvis que es capaz de soportar las cargas fisiológicas sin deformidades anormales, para lo anterior se requiere de una estructura ósea especial de esta forma el sacro se encuentra formando la llave de un arco para transmitir las fuerzas, y si a esto agregamos los elementos de tejidos blandos encontrados en la pelvis veremos que estos actual como un puente colgante en donde el sacro es el puente y los pilares formados por los iliacos, para ser soportado las fuerza requiere de una banda de tensión por arriba de estos y esta formada por los ligamentos sacroiliacos posteriores, además de estos elementos también contribuyen a su estabilidad los elementos anteriores aunque de menor importancia

#### **IV. OBJETIVOS**

Evaluar el efecto estrogénico del ácido p-hidroxibenzoico (APHB) en experimentos in vivo utilizando ratones hembra CD1 adultas Ovx e inmaduras.

Evaluar los efectos producidos por la administración de diferentes dosis de APHB en ratón hembra inmadura sobre cornificación vaginal y peso uterino.

Evaluar los efectos producidos por la administración de diferentes dosis de APHB en ratón hembra adulta Ovx sobre cornificación vaginal y peso uterino.

Calcular la potencia estrogénica del APHB relativa al estradiol.

distribución en estas fuerzas, lo que puede observarse en la tabla 9.

Un parámetro más proporcionado por la plantografía pedobarográfica es la zona de máxima presión durante la fase postural del ciclo de marcha.

Los resultados del examen realizado a los sujetos de estudio demuestran en la mayoría de los casos deficiencia de apoyo del calcaneo, lo cual indica una persistencia del equino durante el inicio de la fase de apoyo. Así mismo, puede observarse deficiencia de la distribución de fuerzas de acuerdo a la teoría de trípode ya mencionada (tabla 10. Fig. 5).

En el grupo control los resultados se reportaron con características normales. Tomando esto en consideración, se realizó análisis cinético de marcha y plantografía pedobarográfica, observando en todos los casos superficie de apoyo del 100% para la edad, con distribución de presión máxima normal en la gran mayoría de los casos (dos casos mostraron presión máxima sobre los metatarsianos primero y segundo). El análisis cinético de la marcha mostró fases completas, sin deficiencias o anomalías de alineación. Finalmente, se realizó el análisis estadístico de este estudio por medio de la prueba de *t* de Student, con un nivel de *p* de 0.00001870 y 0.00002007 para pies derechos e izquierdos, respectivamente.

## V. MATERIAL Y MÉTODOS

**Fármacos y Disolventes.** Las sustancias utilizadas en los experimentos, fueron: estradiol (3-hidroxi-estra-1,3,5(10)trien-3,17 $\beta$ -diol, E<sub>2</sub>) obtenido de Syntex, S.A. México D.F. y ácido p-hidroxibenzoico (APHB). Este último fue preparado mediante hidrólisis básica del éster metílico del ácido p-hidroxibenzoico las constantes físicas y espectroscópicas del producto obtenido fueron comparadas con las descritas en la literatura y también con una muestra auténtica proveniente de Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA. Todos los compuestos fueron solubilizados en aceite de maíz Mazola que fue utilizado como vehículo (V).

**Animales.** Los experimentos se llevaron a cabo en ratones hembra inmaduras de 20 días de nacidas, con peso de 9-12g y ratones hembra adulta de 25-30g de la cepa CD1 procedentes del bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Los ratones hembra adultas fueron ovariectomizadas (OVx) tres semanas antes de iniciar el estudio. A los animales Ovx se les tomaron muestras de exudados vaginales para certificar la intervención quirúrgica antes de iniciar el tratamiento. Los animales fueron mantenidos a temperatura constante de 20-22° en periodos de luz-oscuridad de 12h-12h y se alimentaron con nutricubos de la marca Purina y agua *ad libitum*. Los animales fueron marcados de manera individual para su identificación, mediante pequeñas muescas hechas en el borde de las orejas siguiendo la clave empleada en el laboratorio.

**Diseño Experimental.** La actividad estrogénica del APHB fue evaluada por los métodos de cornificación vaginal de Allen-Doisy (23) y peso uterino de Evans, Varney y Koch (24). En cada bioensayo, cinco grupos de animales con un mínimo de 6 animales por lote se distribuyeron en base a un arreglo de cuadrados latinos, en estratos basados en el peso corporal y se asignaron a los diferentes tratamientos al azar.

En experimentos preliminares, cinco grupos de ratonas Ovx fueron inyectados por vía subcutánea diariamente por tres días, con: el vehículo (aceite de maíz, V, 10 ml/Kg), E<sub>2</sub> (10 $\mu$ g/Kg) y APHB en diferentes dosis (5, 50, 500  $\mu$ g/Kg). Los exudados vaginales fueron obtenidos en los días 0 (antes del tratamiento) y los días 1, 2, 3 y 4 después del tratamiento.

En experimentos posteriores, a los diferentes grupos se les administraron por vía subcutánea, durante tres días consecutivos: APHB en dosis de 50, 500 y 5000  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de peso corporal/día, el control positivo estradiol  $\text{E}_2$ , 10  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de peso corporal/día y el vehículo aceite de maíz (V), 10 ml/Kg de peso corporal/día. Al cuarto día se tomaron muestras de exudado vaginal, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, removiendo los úteros, eliminando el líquido intraluminal y pesándolos. Los exudados vaginales fueron teñidos y fijados con solución de Harris y las preparaciones observadas al microscopio. La abundancia de células redondas anucleadas, poligonales, cornificadas, y leuco citos en los frotis se evaluó en escala de +1,+2,+3,+4; posteriormente, estos resultados se expresaron en porcentaje. Los resultados del peso uterino fueron calculados por 100g de peso corporal.

**Análisis Estadístico.** Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y pruebas de comparaciones múltiples utilizando los métodos de Student-Newman-Keuls o Dunnet. Se consideraron diferencias significativas entre los grupos cuando los valores de P fueron menores de 0.05 (29)

### **Técnicas Utilizadas en los Experimentos.**

**Ovariectomía.** Esta intervención quirúrgica se llevó a cabo en ratonas hembra adultas en las que se indujo la anestesia con hidrato de cloral (7mg/Kg; solución al 4%). Posteriormente se rasuró y desinfectó el campo quirúrgico del dorso del animal. Se hizo una incisión transversal de aproximadamente 1 cm y una segunda incisión bilateral longitudinal en el músculo, a una distancia aproximada de 0.5 cm de los músculos espinales dentro de la cavidad peritoneal. Se localizaron los ovarios en el tejido graso, procediendo a su disección. Se suturó en los diferentes planos. Los animales se dejaron recuperar por tres semanas, después de las cuales se tomaron frotis vaginales para certificar la intervención quirúrgica. Solo fueron incluidos en los experimentos animales que presentaban abundancia de leucocitos y escasas de células cornificadas (figura 5).

**Frotis Vaginal.** El frotis vaginal se tomó en las ratonas Ovx antes de iniciar el experimento, en experimentos iniciales durante el tratamiento y en todos los casos al término de éste. En las ratonas infantiles solo se tomó al finalizar el tratamiento.

Para la obtención del exudado vaginal o frotis vaginal, se sujetó al ratón y se introdujo en el orificio vaginal una asa estéril impregnada de solución salina, posteriormente la muestra impregnada del exudado vaginal se depositó sobre un portaobjetos, y dejó secar para proceder a la tinción de la muestra empleando el procedimiento de Harris (10). Los frotis se observaron en el microscopio, realizando un barrido del portaobjetos en forma "s" para evaluar la abundancia relativa de células cornificadas, poligonales, redondas y leucocitos presentes en la muestra empleando una escala de +1 a +4.

**Técnica de Tinción de Harris.** La muestra de exudado vaginal obtenida anteriormente se procesó de la manera siguiente:

1) Sumergió en alcohol de 96° durante 10 minutos; 2) lavó con agua destilada; 3) sumergió en solución de hematoxilina durante 8 min; 4) lavó con agua destilada; 5) pasó rápidamente por alcohol ácido; 6) lavó con agua destilada; 7) sumergió en agua amoniacal hasta que la preparación viró a un color azul; 8) sumergió en eosina alcohólica de 30 a 60 segundos; 9) sumergió en alcohol de 96° durante 10 segundos; 10) sumergió en alcohol absoluto aproximadamente durante 10 segundos; 11) dejó secar al aire; 12) observó en el microscopio a 40X y evaluó.

**Extracción de Útero.** Se sacrificó a los ratones por dislocación cervical, y se llevó a cabo una incisión longitudinal en el abdomen para la disección de los cuernos uterinos del ratón. El útero se colocó en una caja de Petri con solución salina donde se limpió el tejido eliminando la grasa. Posteriormente el órgano se secó sobre un papel filtro eliminando el líquido intraluminal con la ayuda de una espátula. Se colocó en una caja previamente pesada para obtener el peso uterino.

Bensahel y colaboradores<sup>6</sup> describen un método fisioterapéutico a base de manipulaciones, dividiendo la técnica en fases. Ellos reportan un 85% de buenos resultados en una serie presentada de 338 pacientes, desde el nacimiento hasta los 14 años de edad. Las desventajas del método utilizado por estos autores radican en la necesidad de realizar manipulaciones por un solo terapeuta, durante un periodo de tiempo considerablemente largo. Otra falla en su reporte de resultados es la falta de un método de evaluación adecuadamente descrito.

Bensahel, Catteral y Dimeglio<sup>4</sup>, en su reporte de estudio multicéntrico de la Sociedad Europea de Ortopedia Pediátrica, hacen un resumen de las aplicaciones prácticas en el tratamiento del PEVA. A pesar de la claridad de sus declaraciones en dicho documento, éste carece de las consideraciones necesarias en cuanto a evaluación del tratamiento. Ellos concluyen, a partir de cuestionarios enviados a los miembros de dicha sociedad, que las siguientes variables son constantes en dicho análisis: 1) El análisis clínico metódico antes de los 6 meses de edad; el uso de exámenes radiográficos solo durante el crecimiento; diferenciación entre pies fibrosos-rígidos, fibrosos-flexibles, contracturados-rígidos y contracturados-flexibles; 2) La cirugía antes de los 12 meses, sin subestimar la importancia de un tratamiento conservador bien aplicado y por tanto efectivo; 3) Un abordaje quirúrgico metódico, racional y meticuloso para los tejidos fibrosos, evitando la cirugía demasiado extensa o agresiva; 4) Seguimiento largo. Se concluyó que un seguimiento mínimo de 5 años es necesario para un reporte preliminar; un mínimo de 10 años es necesario para juzgar resultados. Nuevamente,



los comentarios con respecto de la evaluación de resultados son vagos y no concluyentes.

Yngve y colaboradores<sup>33</sup>, en su publicación de la liberación del PEVA sin liberación subastragalina mencionan la dificultad para comparar los resultados en estudios diversos debido a la inexistencia de métodos estandarizados para evaluar dichos resultados.

Bensahel, Dimeglio y Souchet<sup>5</sup> han desarrollado un sistema de evaluación para los resultados del tratamiento del PEVA. Este se basa en una escala de 28 puntos, la cual considera la movilidad pasiva, la función muscular y el análisis de marcha, junto con el aspecto radiográfico y la apreciación subjetiva del paciente. Las fallas de su sistema de evaluación, no obstante, radican en que su escala es usada pre y posquirúrgicamente sin dar una división que considere la calidad de los resultados.

Haasbeck y Wright<sup>14</sup> comparan los resultados a largo plazo de la liberación posterior y posteromedial completa, en una serie de 59 pacientes, cuyos resultados fueron valorados usando la escala de 100 puntos de Laaveg y Ponsetti. Ellos llegan a la conclusión de que los resultados radiográficos no se correlacionan con el nivel del dolor o función al llegar a la madurez esquelética.

Rumyantsen y Ezrohi<sup>27</sup> discuten la liberación subastragalina en el tratamiento del PEVA. Ellos hacen mención en su discusión de la falta de criterios uniformes, ya que muchos autores utilizan criterios diferentes para evaluar los resultados.

## Análisis de marcha y plantografía y sus implicaciones

Asperheim y colaboradores<sup>3</sup> reportan la evaluación de las deformidades residuales en pacientes tratados por PEVA por medio del análisis sistematizado de marcha, demostrando como éste puede dar información valiosa en la evaluación de pacientes con deformidades residuales después del tratamiento quirúrgico. Por medio del análisis cinético de la marcha, se demuestra que esta herramienta puede dar asistencia al cirujano para tomar decisiones quirúrgicas respecto de las deformidades residuales del PEVA, concluyendo que el análisis de marcha debe llevarse a cabo periódicamente durante el seguimiento de estos pacientes, midiendo así los resultados del tratamiento de forma objetiva.

Es menos lo que se menciona acerca del uso de la plantografía para la evaluación de los resultados terapéuticos en estos pacientes. Brand y colaboradores<sup>7</sup> reportan la evaluación de los resultados del tratamiento de PEVA por medio de la medición del centro de presión del pie. Su método consiste en el uso de la impresión plantar en una placa entintada de Harris. Ellos concluyen que la impresión plantar no es lo suficientemente sensible como para ser un auxiliar diagnóstico y que su utilidad tiene aplicación limitada.

Yngve<sup>32</sup> por su parte, usa la medición goniométrica del ángulo de progresión del pie, concluyendo que ésta es útil en la detección de la causa de las deformidades residuales. No obstante, este método es técnicamente difícil de llevar a cabo, además de que el estudio posee la inconveniencia de la variabilidad entre observadores.

En el presente estudio, los pacientes problema, y en comparación con los controles sanos, tanto el análisis de marcha como la plantografía dieron resultados positivos. Pudo observarse la existencia de anomalías en el patrón de marcha debido a deficiencias de alineación, observándose con más frecuencia en el análisis de marcha la persistencia de aducto de antepié (intoeing).

En cuanto al análisis pedobarográfico, pudo demostrarse la existencia de deformidades residuales. En primer lugar, y como parámetro más obvio, la disminución del área total de apoyo en comparación con los controles puede considerarse como primer indicador de la persistencia de dichas deformidades. El analizador pedobarográfico utiliza como parámetro estándar la teoría del trípode de la distribución de fuerzas durante la fase de apoyo de la marcha. Tomando esto en consideración, la plantografía pudo demostrar la deficiencia en la distribución de fuerzas en los pacientes del grupo sujeto a estudio. Pudo observarse también una enorme variabilidad en la distribución de las áreas de presión, notándose además el área de presión máxima en lugares distintos al calcaneo. La mayoría de los resultados indican el área de presión máxima a nivel de las cabezas de los metatarsianos cuarto y quinto. Esto puede interpretarse como persistencia del equino y el apoyo sobre la barra externa, que en estos pacientes parece ser dinámico, lo que comunmente escapa al ojo del observador clínico al hacer análisis simple de marcha en el consultorio. Otro aspecto que vale la pena puntualizar es el hecho de que tanto el análisis de marcha como la plantografía pedobarográfica dieran los resultados positivos más notorios en los pacientes que iniciaron el tratamiento más tardíamente o que fueron

sometidos a más de un procedimiento quirúrgico. Un ejemplo es el caso número 19, que se trata de un paciente de sexo femenino cuyo tratamiento fue iniciado en una institución distinta a donde se llevó a cabo el presente estudio. Se pudo saber al interrogar a la madre que la paciente fue sometida a tratamiento con yesos correctores y posteriormente a un procedimiento quirúrgico, el cual fue llevado a cabo en nuestra institución. La paciente fue sometida a varios procedimientos quirúrgicos subsecuentes, logrando un resultado bueno según la escala funcional de Laaveg y Ponsetti. En esta paciente en análisis de marcha demostró deficiencias de alineación al observarse varo residual de antepié y presiones máximas en esa zona en la plantografía pedobarográfica.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Curso temporal de la producción de cornificación vaginal en animales Ovx por la administración de E<sub>2</sub> y APHB.

En la grafica 1, se ilustra la evolución de la producción de cornificación vaginal por la administración diaria de diferentes dosis de APHB comparada con los efectos producidos por E<sub>2</sub> y el vehículo (aceite de maíz, V) en el ratón hembra Ovx. Cuando se administran dosis de 5 y 50µg/Kg/día aumenta la producción de células cornificadas en el epitelio vaginal de la ratona castrada sin embargo, la administración de 500µg/Kg/día de APHB produce diferencias mayores que son estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Las respuestas de cornificación vaginal producidas por el APHB son dependientes de la dosis administrada como se observa en la grafica 1 y la tabla 1.

Por otra parte, la administración de 10µg/Kg/día de E<sub>2</sub> produce un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de células cornificadas desde el segundo día de administración. El APHB produce estos efectos en la cornificación vaginal después de tres días de la administración de 500µg/Kg/día. En las gráficas de la figura 1 puede apreciarse claramente que el patrón de respuesta observado con el APHB es semejante al del E<sub>2</sub>.

Es interesante ver la relación que existe entre los leucocitos y las células cornificadas en los animales administrados con APHB y E<sub>2</sub> ya que a medida que se aumentan los días de administración tanto en los frotis de los animales tratados con E<sub>2</sub> como en los que recibieron APHB se produce una disminución de leucocitos y un aumento de células cornificadas, que está en función de la dosis administrada (5, 50 y 500µg/Kg/día). La respuesta producida por la dosis de 500µg/Kg/día de APHB y la de E<sub>2</sub>, tienen un comportamiento semejante. En el tercer día, muestran una caída considerable de la cantidad de leucocitos presentes y un gran aumento en la cantidad de células cornificadas. Este fenómeno representa un estadio de estro en los animales tratados, que se caracteriza por abundancia de células cornificadas, y que solo ocurre cuando hay estrógenos presentes.

Los efectos mencionados anteriormente contrastan con los producidos por la administración del vehículo en los animales Ovx, ya que durante todo el seguimiento de este experimento no se presentó un aumento significativo de células cornificadas.

### **Curvas Dosis-Efecto de APHB en Animales Inmaduros (I) y Ovariectomizados Ovx.**

En la gráfica 2 se muestran la comparación de los resultados obtenidos de diferentes experimentos en los que fueron administradas diferentes dosis de APHB y una sola dosis de E<sub>2</sub> en animales inmaduros y Ovx. La administración de 5000 µg/Kg de APHB, produjo cornificación vaginal en el 85% de los animales inmaduros y 60% de los animales Ovx. Estos resultados son muy cercanos a los obtenidos con E<sub>2</sub> el cual produjo cornificación vaginal en un 89% de los animales OVx y 72% en inmaduros. En todos los casos estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.01$ ). Los datos señalados se muestran en las tablas 2 y 3.

### **Evaluación del efecto de la administración de APHB comparado con el efecto producido por E<sub>2</sub> en el peso uterino de animales inmaduros y animales Ovx.**

La evaluación del peso uterino se llevó a cabo al final de todos los experimentos. En la gráfica 3, se muestran las curvas dosis-efecto, en las que se presentan los resultados de la administración de APHB a diferentes dosis, E<sub>2</sub> y el grupo control. Estos resultados se muestran en las tablas 4 y 5.

De manera semejante al efecto de cornificación vaginal producido por APHB y E<sub>2</sub> se observaron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) en el peso uterino cuando se administró la dosis más alta de APHB (5000µg/Kg/día). Estas diferencias fueron establecidas comparando el promedio del peso uterino del vehículo administrado con los promedios de los animales bajo tratamiento. En los animales Ovx tratados con APHB el peso uterino se incremento en un 83% y en los animales inmaduros el incremento fue de 107%. El E<sub>2</sub> dio una respuesta de 134% en animales Ovx y 110% en animales inmaduros.

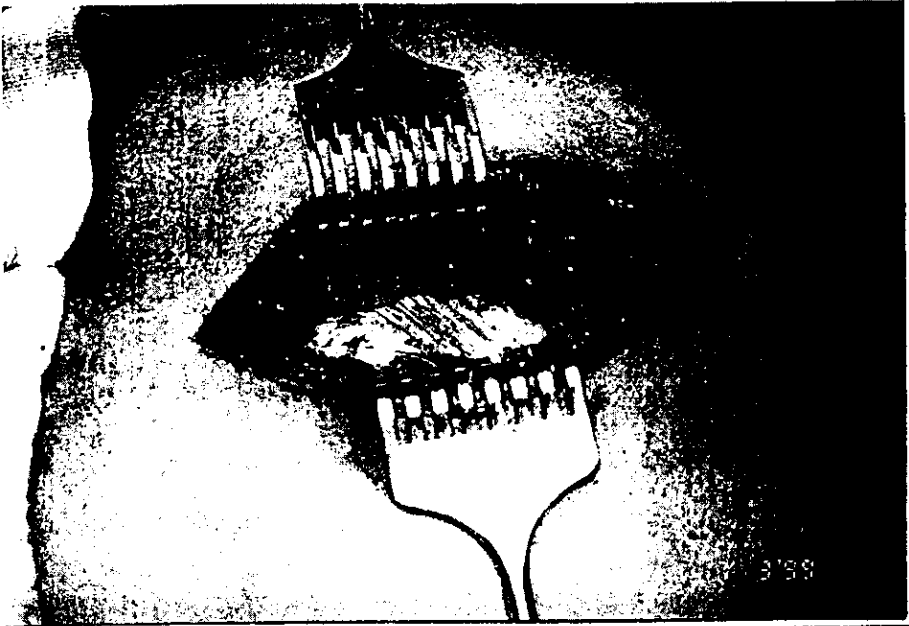
El aumento en el peso uterino, fue dosis dependiente y como se ve en la gráfica 3, la respuesta de la dosis más alta en animal inmaduro es prácticamente igual a la del E<sub>2</sub>. En estos experimentos se observaron incrementos en el peso uterino por la administración de las dosis de 50 y 500 µg/Kg/día tanto en animales inmaduros como en Ovx, sin embargo, el análisis de estos datos señala que estas diferencias no fueron significativas.

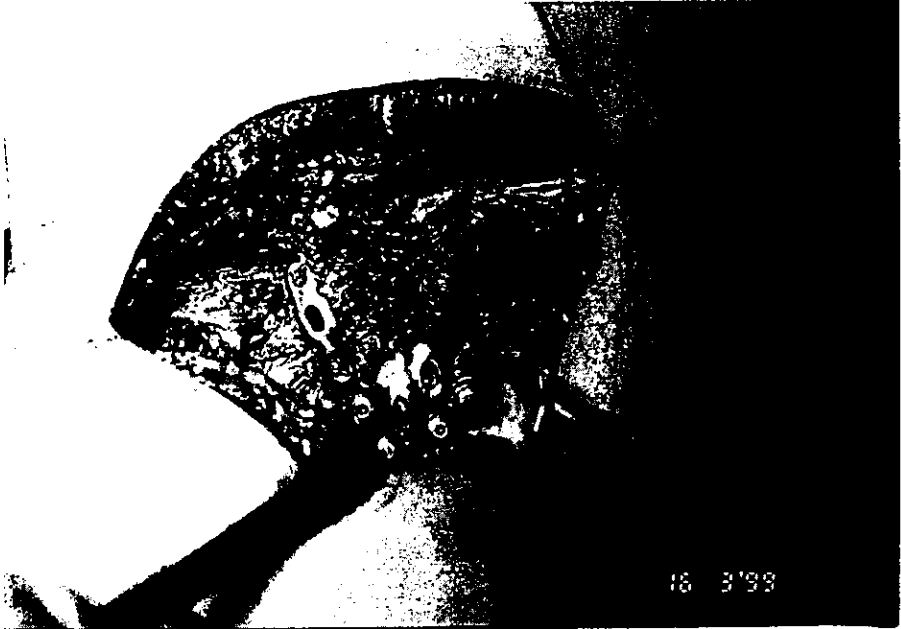
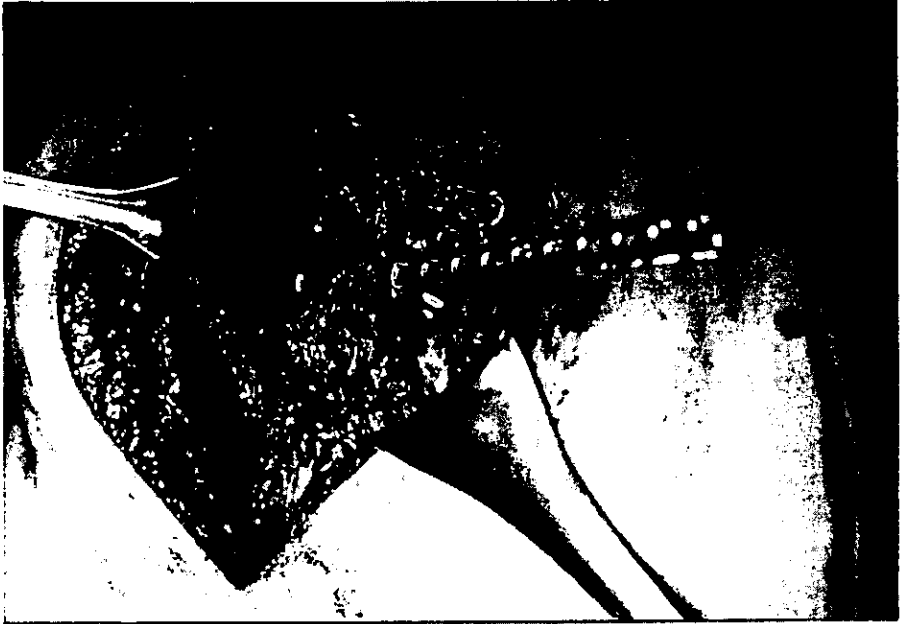
Los efectos observados por la administración de APHB muestran que este fármaco es capaz de producir respuestas semejantes a las producidas por E<sub>2</sub>. Esto probablemente sea debido a que este compuesto se una al receptor de E<sub>2</sub> y produzca los cambios alostéricos necesarios para su activación desencadenando los eventos que conduzcan a la proliferación del endometrio. Estos resultados están de acuerdo a los recientemente obtenidos por otros grupos de investigación (5, 12-13) que señalan que compuestos que contengan grupos fenólicos como substituyentes en posición para, pueden tener la capacidad de generar respuestas semejantes al E<sub>2</sub>.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**









## VIII. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en este trabajo podemos concluir que el APHB produce efectos estrogénicos en ratones hembra adulta e inmadura CD1. Estos efectos son dependientes de la dosis administrada.

La respuesta estrogénica de: cornificación vaginal y aumento de peso uterino que se producen por la administración de dosis altas de APHB en animales inmaduros es semejante y muy cercana a la que produce el E<sub>2</sub>. De forma similar la administración de APHB en ratonas adultas Ovx produce los mismos efectos estrogénicos.

La potencia estrogénica relativa del APHB con respecto al E<sub>2</sub> es de 100 a 0.1 esto significa una potencia de estrogenicidad mil veces menor que la de E<sub>2</sub>. Sin embargo, aunque su efecto estrogénico es menor, es un metabolito de sustancias que se usan en concentraciones hasta del 0.1 %.

El significado que estos resultados tengan en ejercer sus efectos en animales y humanos dependerá de la exposición que se tenga a este grupo de fármacos. Es necesario conocer el efecto que estas sustancias pueden producir por otras vías de administración, así como conocer su farmacocinética para poder estimar el riesgo que implica estar constantemente expuestos a ellos.



## IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. 1996. 9a. edición. Goodman Gilman A., (eds) en: Estrogens and progestins pp 1411-1440. McGraw-Hill, new York.
2. Bitman, J. and Cecil, H.C.: Estrogenic activity of DDT analogs and polychlorinated biphenyls. *J. Agr. Food Chem.* 18:1108-1112, 1970.
3. Nelson, J.A., Struck R.F. and James, R.: Estrogenic activities of chlorinated hydrocarbons. *J. Toxicol. Environ. Health* 4:325-339, 1978.
4. Hertz, R.: The estrogen problem-retrospect and prospect. In: Estrogens in the Environment II (McLachlan J.A. ed) New York, Elsevier, 1-11, 1985.
5. White, R., Jobling, S., Hoare, S.A., Sumpter, J.P., and Parker, M.G.: Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology*, 135:175-182, 1994.
6. Sharpe, R.M. and Skakkeback, N.E.: Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet*, 1:1392-1395, 1993.
7. Henderson, B.E. Ross, R.K. and Pike, M.C.: Towards the primary prevention of cancer. *Science* 254:1131-1138, 1991.
8. Hileman, B. and Washington E.N.: Environmental estrogens linked to reproductive abnormalities, cancer. *Chem Eng. News*, Enero, 19-23, 1994.
9. Heuze, Y., Lemini, C. and Perusquia, M.: Stimulation of female sex behavior in rats with benzoic acid. *Abst. International Conference on Hormones*, 1994.
10. Lemini, C., Silva, G., Rubio-Póo, C. and Perusquia, M.: Uterotrophic activity of benzoic acid as compared with estradiol and estradiol benzoate in CD1 mice. *Med. Sci. Res.* 23:257-258, 1995.
11. Martindale. The Extra Pharmacopoeia. 1989. 29a. edition. In: Reynolds, E.P., Prfitt, K., K. Parsons, A.V. and Sweedman, S.C. (eds). Preservatives pp 1355-1358. The Pharmaceutical Press, London.
12. Jordan, VC., Mittall, S., Gosden, R.K. and Liberman, M.E.: Structure-activity relationships of estrogens. *Environ. Health Perspect.* 61:97-110, 1985.
13. Duax, W.L., Griffin, J.F., Weeks, C.M. and Korach, K.S.: Molecular conformation, receptor binding, and hormone action of natural and synthetic estrogens and antiestrogens. *Environ. Health Perspect.* 61:111-121, 1985.

14. Allen, E., and Doisy, E.A.: An ovarian hormone. *J. Am. Med. Assoc.* 81:819-821, 1923.
15. Evans, J.S., Varney, R.F., and Koch, F.C.: The mouse uterine weight method for assay of estrogens. *Endocrinology* 28: 747-752, 1941.
16. Zarrow, M.X., Yochim, J. M., McCarthy, J.L. and Sanborn, R.C., en: *Experimental Endocrinology a sourcebook of basic techniques*. En: *The estrogens* p 28-30 Academic Press New York and London 1964.
17. Bowman, W.C. y Rand, M.J. 1984. en: *Farmacología. bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas*. Bowman, W.C., y Rand, M.J. (eds). en: *sistema reproductor y drogas que lo afectan*. pp 20.1-20.52. Editorial Interamericana, Barcelona, España.
18. Colborn, T. and Clement, C. (ed) In: *Chemically-induced alterations in sexual and funcional development. the wildlife/human connection*. Princeton Scientific, Princeton, pp 1-403, 1992.
19. Mueller, G. and Kim, U.H.: Displacement of estradiol from estrogens receptors by simple alkylphenols. *Endocrinology* 102:1429-1435, 1978.
20. Soto, A.M., Sonnenschein, C., Chung, K.L., Fernández, M.F., Olea, N. and Olea Serrano F.: The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ. Health Perspect.* 103:113-122 1995.
21. Soto, A.M., Justicia, H., Wray, J.W., Sonnenschein C.:p-Nonylphenol: an estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene. *Environ.Health Perspect* 92:167-173, 1991.
22. Krishnan, A.V., Stathis, P., Permuth, S.F., Tokes, L. and Feldman, D.: Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology* 132:2279-2286, 1993.
23. Bicknell, R.J., Herbison A.E. and Sumpter J.P.: Oestrogenic activity of an environmentally persistent alkylphenol in the reproductive tract but not the brain of rodents. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 54:7-9, 1995.
24. Soto, A.M., Lin, T.M., Justicia, H. and Silvia, R.M., Sonnenschein C.: An "'in culture" bioassay to asses the estrogenicity of xenobiotics (E-SCREEN). In Colborn, T., Clement, C.: *In Advances in modern enviromental toxicology, chemically-induced alterations in sexual and funcional development: The wildlife/human connection*. Princeton Scientific, Princeton vol 21:295-309, 1992.
25. Rastogi, S.C., Schouten, A., De Krudf N. and Wedland J.W.: Contents of methyl-, ethyl-, propyl-, and benzylparaben in cosmetic products. *Contact Dermatitis* 32:28-30 1995.

26. Bao-Liang, S., Hai-Ying, L., Dun-Ren, P.: *In vitro* spermicidal activity of parabens against human spermatozoa. *Contraception* 39:331-335 1989.
27. Matthews, C., Davidson J., Bauer, E., Morrison, J.L. and Richardson, A.P.: p-hydroxybenzoic acid esters as preservatives II. Acute and chronic toxicity in dogs rats and mice. *J. Am. Pharm.* 45:260-267, 1956.
28. Maddedu, L., Legros, N., Devleeschouwer, N., Bosman, C., Piccart, M. and Leclercq, G.: Estrogen receptor status and estradiol sensitivity of MCF-7 cells in exponential growth phase. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 24:385-390, 1988.
29. Snedecor, G.W., and Cochran, W.G.: *Statisticals Methods*, 8a. ed., Iowa State University Press, Ames, 96-98, 1989

**Tabla 4. Resultados del examen manual muscular en la primera visita después del último procedimiento quirúrgico.**

GRUPO MUSCULAR	PROMEDIO
peroneos	3.72/3.67
tibial anterior	3.90/3.75
tríceps sural	3.92/4
flexores	3.97/3.95

**Tabla 5. Movilidad articular pasiva del tobillo. Promedio en grados**

	der / izq	rango
flexión plantar 70°/60-70°	66.7° 69.5°	40-
flexión dorsal 45°/25-45°	38.0° 37.7°	20-
inversión 30°/10-30°	28.7° 29.5°	15-
eversión 20°/10-30°	13.6° 14.0°	10-

**Tabla 6. Resultados de mediciones radiográficas**

	der	izq	rango
ang TA	107.3°	107.5°	95-115/82-122°
ang AC (lat)	27.6°	27.5°	15-40/10-45°
ang AC (dp)	28.8°	30.1°	22-40/18-40°

*ang TA*: ángulo tibioastragalino; *ang AC lat*: ángulo astrágaloalcalcano en proyección lateral; *ang C dp*: ángulo astrágaloalcalcano en proyección dorsoplantar.



**Tabla 7. Resultados del análisis cinético de marcha.**

	NO	SI
FASES COMPLETAS	43.3%	56.7%
CONTACTO INICIAL	33.3%	66.7%
POSTURAL	TODOS	
IMPULSO	16.6%	83.4%
BALANCEO	TODOS	
ADUCTO DE ANTEPIE (intoeing)	46.6%	

Se indican en porcentaje los pacientes que realizan o no el criterio señalado.

**Tabla 8. Resultados de superficie de apoyo plantar (porcentaje) en los pacientes del grupo de estudio.**

	pie der	pie izq
APOYO TOTAL	20/30	24/30
SUPERFICIE DE APOYO	89.8%	89.3%
rango	64-100%	65-103%

**Tabla 9. Deficiencias de apoyo demostradas por el análisis plantográfico.**

	der	izq
1er dedo	1	0
calcaneo	3	2
5to dedo	1	0
4-5 dedos	2	1
cavo	1	1
plano	0	1

Se interpreta como las zonas del pie que no realizan apoyo durante la fase postural del ciclo de marcha.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla 10. Deficiencias de apoyo.

PIE DERECHO	#casos	PIE IZQUIERDO	# casos
calcaneo	8	calcaneo	13
mtt	2	mtt	1
1er	8	1er	7
1er/5to mtt	1	5to mtt	1
1er/5to	2	2do mtt/3er mtt	2
1er mtt	1	1er/5to	1
2do mtt/3er mtt	3	1er mtt/5to mtt	1
1er mtt/5to mtt	1	5to	1
3er mtt	1	1er/1er mtt	1
1er/2do mtt	1	1er mtt/2do mtt	1
		3er mtt	1

*mtt*, metatarso; *1er*, primer dedo; *5to*, quinto dedo, *1er mtt*, primer metatarsiano; *2do mtt*, segundo metatarsiano; *3er mtt*, tercer metatarsiano; *5to mtt*, quinto metatarsiano.

**Tabla 11. ESCALA PARA VALORACIÓN DE RESULTADOS DE TRATAMIENTO DE PEVA**

<b>SATISFACCIÓN (20 puntos)</b>		
muy satisfecho		20 puntos
satisfecho		16 puntos
indiferente		12 puntos
- insatisfecho		8 puntos
- muy insatisfecho		4 puntos
<b>FUNCION (20 puntos)</b>		
Para las actividades de la vida diaria		
- no me limita		20 puntos
- ocasionalmente limita actividades vigorosas		16 puntos
- usualmente limita actividades vigorosas		12 puntos
- ocasionalmente limita actividades de la vida diaria		8 puntos
- limita la marcha		4 puntos
<b>DOLOR (30 puntos)</b>		
- nunca		30 puntos
- leve ocasional en actividades extenuantes		24 puntos
- usualmente doloroso despues de actividades extenuantes		18 puntos
- ocasionalmente doloroso en actividades rutinarias		12 puntos
- dolor al caminar		6 puntos
<b>POSICION DEL TALON EN BIPEDESTACION (10 puntos)</b>		
- talo varo, neutro, ligero valgo		10 puntos
- talo varo 1-5°		5 puntos
- talo varo 6-10°		3 puntos
- talo varo > 10°		0
<b>MOVILIDAD PASIVA (10 puntos)</b>		
- dorsiflexión		
- varo/valgo total del talón	1 pto/5° hasta	5 puntos
- inversión/eversión total	1 pto/10° hasta	3 puntos
<b>MARCHA (10 puntos)</b>	1 pto/25° hasta	2 puntos
- normal		6 puntos
- de puntas		2 puntos
- de talones		2 puntos
- cojera		- 2 puntos
- sin ataque de talón		- 2 puntos
- despegue anormal		- 2 puntos

RESULTADOS: excelente = 90-100 pts, bueno = 80-89 pts, regular = 70-79 pts, pobre = <70 pts. Según Laaveg y Ponsetti. JBJS; 62A(1), jan 1980.

## X. ANEXOS

**Tabla 1. Abundancia relativa de células presentes en los frotis vaginales de ratonas adultas Ovx tatadas con APHB y E<sub>2</sub>.**

**Tabla 1a. Tratamiento: aceite de maíz (10 ml/Kg/día).**

FROTIS EN EL DIA	LEUCOCITOS	CELULAS REDONDAS	CELULAS POLIGONALES	CELULAS CORNIFICADAS
0	65±3	14±3	33±2	11±2
1	70±9	15±6	30±9	20±5
2	65±10	25±8	30±9	20±5
3	65±6	5±5	5±5	15±6
4	55±5	20±9	20±9	20±5

**Tabla 1b. Tratamiento: E<sub>2</sub> (10µg/Kg/día)**

FROTIS EN EL DIA	LEUCOCITOS	CELULAS REDONDAS	CELULAS POLIGONALES	CELULAS CORNIFICADAS
0	63±3	14±3	33±2	10±2
1	33±5	0±0	29±4	25±0
2	25±0	4±4	29±10	46±0
3	4±4	58±12	0±0	58±5
4	0±0	0±0	4±4	69±4

**Tabla 1c. Tratamiento: APHB (5µg/Kg/día)**

FROTIS EN EL DIA	LEUCOCITOS	CELULAS REDONDAS	CELULAS POLIGONALES	CELULAS CORNIFICADAS
0	67±5	14±3	33±2	11±9
1	50±9	17±8	33±5	12±3
2	62±6	0±0	75±6	46±8
3	0±0	17±5	17±8	33±5
4	54±4	17±5	12±5	42±8

**Tabla 1. Abundancia relativa de células presentes en los frotis vaginales de ratonas adultas Ovx tatadas con APHB y E<sub>2</sub> (continuación).**

**Tabla 1d. Tratamiento: APHB (50µg/Kg/día)**

FROTIS EN EL DIA	LEUCOCITOS	CELULAS REDONDAS	CELULAS POLIGONALES	CELULAS CORNIFICADAS
0	67±5	14±3	33±2	12±3
1	50±6	21±8	33±5	35±6
2	50±9	8±8	25±6	46±12
3	58±5	17±8	17±8	40±6
4	54±8	8±5	17±5	42±5

**Tabla 1e. Tratamiento: APHB (500µg/Kg/día)**

FROTIS EN EL DIA	LEUCOCITOS	CELULAS REDONDAS	CELULAS POLIGONALES	CELULAS CORNIFICADAS
0	65±7	14±3	33±2	12±3
1	58±5	21±8	33±5	33±5
2	54±10	12±6	25±16	50±13
3	17±8	25±11	44	71±4
4	29±8	21±8	8±5	60±6

**Tabla 2. Comparación del porcentaje de células cornificadas presentes en los frotis vaginales de ratonas inmaduras CD1 por la administración de APHB y E<sub>2</sub>.**

TRATAMIENTO	DOSIS/RATON/DIA ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )	N	PESO DE RATON (g $\pm$ esm)	% DE CELULAS CORNIFICADAS	DIFERENCIA %
Vehículo	10 mL	10	9 $\pm$ 0.5	28 $\pm$ 7	-----
E <sub>2</sub>	10	10	9 $\pm$ 0.6	85 $\pm$ 5	203*
APHB	50	10	10 $\pm$ 0.6	44 $\pm$ 7	57
APHB	500	10	9 $\pm$ 0.5	53 $\pm$ 9	89
APHB	5000	10	9 $\pm$ 0.6	71 $\pm$ 9	153*

\* Comparado con el vehículo por el método de Dunn ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 3. Comparación del porcentaje de células cornificadas presentes en los frotis vaginales de ratonas adultas CD1 Ovx, por la administración de APHB y E<sub>2</sub>.**

TRATAMIENTO	DOSIS/RATON/DIA (µg/Kg)	N	PESO DE RATON (g ± esm)	% DE CELULAS CORNIFICADAS	DIFERENCIA %
Vehículo	10 mL	6	28±2	25±0	-----
E <sub>2</sub>	10	6	29±0	67±5	168*
APHB	50	6	28±3	33±5	32
APHB	500	6	28±4	42±5	68*
APHB	5000	6	30±0	54±8	116*

\* Comparado con el vehículo por el método de Dunn ( p<0.05).



**Tabla 4. Comparación del efecto de APHB y E<sub>2</sub> sobre el peso uterino de ratonas hembras inmaduras.**

TRATAMIENTO	DOSIS/RATON/DIA (µg/Kg)	N	PESO DE RATON (g± esm)	PESO UTERINO (mg/100g±esm)	DIFERENCIA %
Control	-----	12	11.5±0.5	274±18	-----
Vehículo	10 mL	12	11.9±0.4	315±18	-----
E <sub>2</sub>	10	12	11.7±0.7	544±25	73*
APHB	50	12	11.2±0.6	335±17	6
APHB	500	12	11.2±0.6	380±46	21*
APHB	5000	12	11.7±0.6	535±36	70*

\* Comparado con el vehículo por el método de Student-Newman-Keuls (p<0.05).

**Tabla 5. Comparación del efecto de APHB y E<sub>2</sub> sobre el peso uterino de ratonas hembras Ovx.**

TRATAMIENTO	DOSIS/RATON/DIA ( $\mu$ /Kg)	N	PESO DE RATON (g $\pm$ esm)	PESO UTERINO (mg/100g $\pm$ esm)	DIFERENCIA %
Control	-----	10	36.3 $\pm$ 1.5	180 $\pm$ 23	-----
Vehículo	10 mL	10	37.9 $\pm$ 1.0	203 $\pm$ 14	-----
E <sub>2</sub>	10	10	36.7 $\pm$ 1.4	407 $\pm$ 29	100*
APHB	5	10	39.0 $\pm$ 1.6	251 $\pm$ 18	24
APHB	50	10	36.3 $\pm$ 1.5	272 $\pm$ 25	34
APHB	500	10	36.3 $\pm$ 1.5	292 $\pm$ 30	44*
APHB	5000	10	36.8 $\pm$ 1.0	318 $\pm$ 49	57*

\* Comparado con el vehículo por el método de Student-Newman-Keuls (p<0.05).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Gansslen T Pholeman Epidemiology of pelvic ring injuries, Injury Vol 27 Suppl.1 13-20 1996
2. F. H. Dujardin, Long- Term functional prognosis of posterior injuries in High energy pelvic disruptions, Journal of Orthopedics Trauma Vol 12 No. 3 145-151 1998
3. Joel Matta, Internal Fixation of pelvic Ring Fractures, Clinical orthopaedics and related reserch, Num 242, 83-97 1989
4. Chip Routt, Iliosacral Screw Fixation: Early complications of the percutaneous Technique, Journal of Orthopedic Trauma, Vol 11 No. 8 584-589, 1997
5. Keating J, Blachut P, O'Brien P, Meek R, Broekhuysse H. Vertically unstable pelvic fractures –the outcomes of iliosacral screw fixation of the posterior lesion. Paper presented at the Annual Meeting of the Orthopaedic Trauma Association, 1994
6. Dunn, A. W., Morris, H.D., Fractures and dislocations of the pelvic. J. Bone Joint Surg. 50 A: 1639 – 1648, 1968.
7. Peter T Simonian ML Chip Routt, Biomechanics of pelvic fixation, Ortopedic clinics of North America Vol 28 Num 3 351-367 Jul 1997
8. Monahan, P.R., Taylor R.G., Dislocation and fracture dislocation of the pelvic. Injury 6 (4) 325 – 333, 1975.
9. Dickinson D., Lifeso R., McBroom R., Tile M., Disruptions of the pelvic ring. J. Bone Joint Surg. 64 B (5) : 635

- 10... Tile, M., Pelvic ring fractures. Should they be fixen? J. Bone Joint Surg 70 B: 1- 12. 1988.
- 11.Tile M.: Pelvic fractures: operative vs non- operative treatment. Orthop Clin North Am. 11: 423-464, 1980.
- 12.Colchero, R.F.; Olvera, B.J.: La consolidación de las fracturas. Su fisiología y otros datos de importancia. Re v. Med. IMSS (México), 1983; 21:374
- 13.Daniel's S.L. : Pruebas funcionales. Técnicas manuales de exploración. Edit. Interamericana, tercera edición, México, 1973Delal, S.,
- 14.Burgess, A., Young J., Pelvic fractures: Classification by force vector in relationship to associated injuries. Presented at the orthopaedic Trauma Association Meeting Dallas, october 27- 28 , 1988.
15. Huittinen, V.M., Slati, P., Fractures of the pelvic, trauma mechanism types of injury and principles of treatment. Acta Chir Scand 138: 563 – 569, 1972.
16. Pennal G.E., Tile M, Weddell J. P., Garside H., Pelvic disruptions; assessment and clasification. Clin Othop 151: 12-21, 1980.
17. Mark C Reilly, D Zinar, Neurologic Injuris in pelvic Ring Fractures, Clinical Orthopaedics and Related reserch Num 329 28-36 1996
18. Philp R Wolinsky Assessment and managment of pelvic Fracture in the hemodinamically unstable patient, Orthopedic clinics of north America Vol 28, Num 3 321-329 Jul 1997
- 19.F Denis, Sacral Fractures: An Important Problem, Clinical Orthopaedics and related reserch Num 227 67-81 Feb 1988
20. Chip Routt, Stabilization of Pelvic Ring Disruptions, Orthopedic clinics of North America Vol 28 Num 3 369387, Jul 1997

21. Dean Cole, Outcome After Fixation of Unstable Posterior Pelvic Ring Injuries, Clinical Orthopaedics and related reserch, Num 329 160-179 1996
22. Pennal, G.F., Sutherland, G.O. Fractures of the pelvic. Motion picture, American Academy of Orthopaedic Surgeons Film Library, 1961.
23. Peltier, L.F., Complications associated with fractures of the pelvic. J. Bone Joint Surg. 47 A: 1060 - 1069, 1965.
24. Paul Tornetta, Outcome of Operatively Treated Unstable Posterior pelvic Ring Disruptions, Clinical Orthopaedics and related reserch, Num 329, 186-193 1996
25. Holdsworth, F.W.: Dislocation and fracture dislocation of the pelvic. J Bone Joint Surg. 30 B : 461-466, 1948.
26. T A Schildhauer, Triangular Osteosynthesis of Vertically Unstable Sacrum Fractures: A new Concept Allowing Early Weight-Bearing, Journal of Orthopaedic Trauma, Vol 12 No 5 307-314 1998
27. Peter T simonian, Internal Fixation for the Transforaminal Sacral Fracture, Clinical Orthopaedics and related reserch, Num 323 202-209, 1996
28. David Templeman, Proximity of iliosacral Screws to Neurovascular Structures After Internal Fixation, Clinical Orthopaedics and related reserch, Num329, 194-198, 1996
29. E Frazier, Open Reduction and Internal Fixation of Vertical Shear pelvic Fractures, The Journal of Trauma, Vol 27 No. 3 291-295 1987