62

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

CAMPUS IZTACALA

"FARMACOCINETICA Y FARMACODINAMIA DE UN ANTICONCEPTIVO INYECTABLE MENSUAL CON FORMULACION DE PROGESTERONA Y ESTRADIOL NATURAL"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :

MONICA LETICIA MORALES PONCE

IZTACALA

Los Reyes Iztacala Edo. De Mex. 2000

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

Le agradezco a mi madre el esfuerzo
que siempre realizó para brindarme
una educación y alentarme a continuar.

A Fernando, quien siempre me motivo
a terminar éste trabajo.

A Ricardo, quien a pesar de estar lejos
siempre ha sido un gran apoyo.

A Oscar, quien contribuyó a una
parte importante de éste trabajo.

"FARMACOCINETICA Y FARMACODINAMIA DE UN ANTICONCEPTIVO INYECTABLE MENSUAL CON FORMULACION DE PROGESTERONA Y ESTRADIOL NATURAL"

RESUMEN

Entre los anticonceptivos de acción prolongada, los inyectables mensuales tienen una amplia aceptación en algunos países, entre ellos México, ya que producen períodos de sangrado endometrial regulares. Una preparación inyectable de progesterona y estradiol naturales, administrada de forma mensual, representa una buena opción en la regulación de la fertilidad.

Un factor determinante en la absorción de los anticonceptivos lo constituye el tamaño de las partículas. El objetivo de éste estudio fue determinar y comparar los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos después de la administración intramuscular de 250 mg de progesterona y 5 mg de 17-beta-estradiol en microesferas monolíticas de 55 a 74 y 75 a 105 micrómetros en dos grupos de mujeres voluntarias. Las muestras sanguíneas para la determinación de la progesterona y el estradiol séricos fueron tomadas dentro de un intervalo menor ó igual a sesenta días después de la aplicación del inyectable.

Los parámetros farmacocinéticos tuvieron amplias variaciones interindividuales en los dos grupos.

La concentración sérica máxima de ambas hormonas y el tiempo para alcanzarla se incrementaron y el tiempo de vida media de absorción disminuyó con el mayor tamaño de microesferas. El tiempo de vida media de eliminación no

mostró diferencias significativas en ambos esteroides para los dos diferentes tamaños de microesferas.

La detección de la ovulación se retraso con el incremento del tamaño de las microesferas. La maduración folicular no mostró diferencias significativas en los dos tamaños de microesferas.

Se concluye que la administración de la progesterona y el estradiol en forma de microesferas monolíticas logra inhibir la ovulación por un período igual ó superior a los treinta días en la mayoría de las voluntarias.

INTRODUCCION

En la década de los sesenta se inicia el desarrollo de los sistemas anticonceptivos de acción prolongada a base de hormonas sintéticas, como una nueva opción en la regulación de la fertilidad. La aceptabilidad de esta nueva forma de anticoncepción desencadena el desarrollo de diversos tipos de formulaciones y aplicaciones (Garza-Flores, 1991).

Las ventajas obtenidas en el uso de los anticonceptivos de acción prolongada, son requerir solo de un contacto mensual, trimestral ó semestral a la unidad médica, tener independencia al coito y permitir el retorno a la fertilidad al suspender su uso (Garza-Flores, 1987 O.M.S., 1982).

Estos anticonceptivos permiten una liberación sostenida del esteroide durante un largo período de tiempo y agrupan a los implantes subdérmicos, los dispositivos intrauterinos y los inyectables (Dizsfaluzy, 1986; Galbenick, 1987; Garza-Flores, 1990; Jackanicz, 1973).

Los inyectables utilizados comúnmente consisten en las formulaciones a base exclusiva de progestinas: el acetato de medroxiprogesterona (DMPA), de aplicación trimestral, y el enantato de noretisterona (NET-EN), de aplicación bimestral. Una combinación de progestinas y estrógenos forman parte de las formulaciones mensuales.

Los beneficios de los inyectables, adicionales a la anticoncepción, han sido considerados como similares a los producidos por los anticonceptivos orales, estos son: tener

efectos protectores contra el cáncer de mama, los quistes ováricos, la artritis reumatoide, el cáncer endometrial y ovárico (Diczfalusy, 1987; Garza-Flores, 1992).

El DMPA puede tener diversos efectos adversos en sus usuarias. Puede producir alteraciones sobre el metabolismo de lípidos y lipoproteínas, enfermedades cardiovasculares, incidencia de enfermedad coronaria, hipertensión y dolor de cabeza; y en estudios basados exclusivamente en animales puede ser la carcinogénico (Diczfalusy, 1987; Garza-Flores, 1992; W.H.O., 1978). Sin embargo la principal causa del abandono del uso de los inyectables trimestrales y bimestrales es la irregularidad provocada en los sangrados menstruales, ya que produce largos períodos con ausencia del sangrado endometrial ó amenorrea (Diczfalusy, 1986; Mishell, 1968).

Esto ha provocado que en algunos países del sur de Asia y Latinoamérica, incluyendo México, sean de gran aceptación los inyectables mensuales que producen períodos más regulares en el sangrado endometrial (Cravioto, 1991).

Se encuentran en estudio diversas preparaciones de inyectables con objeto de reducir las cantidades y/o modificar la composición de las formulaciones con el propósito de producir mayor aceptabilidad en las usuarias y reducir el riesgo de efectos secundarios, entre estos inyectables los preparados a base de esteroides microencapsulados, en microcristales y en microesferas (que incluye a las microesferas monolíticas) son una alternativa en la regulación de la fertilidad.

Algunos esteroides sintéticos son microencapsulados en polímeros biodegradables suspendidos en un vehículo acuoso, y

se han empleado para inhibir la ovulación por períodos de dos (Anderson, 1976) y seis meses (Beck, 1976). El mecanismo de liberación del fármaco es una combinación entre la difusión de la droga y la biodegradación del polímero, dependiente del tamaño, cristalinidad, peso molecular y composición de la microcápsula y del contenido de fármaco. (Lewis, 1984).

Se han desarrollado formulaciones con bajas concentraciones de microcristales y macrocristales de progestinas y estrógenos sintéticos en suspensión acuosa que han permitido inhibir la ovulación con un adecuado control del ciclo menstrual (Aedo, 1985; Díaz, 1987; Garza-Flores, 1984; Garza, 1987).

Otra formulación en étapa temprana de investigación consiste en una combinación de progesterona y estradiol naturales en forma de microesferas monolíticas, los que por tratarse de hormonas naturales podrían disminuir los efectos secundarios sin comprometer su eficacia anticonceptiva (Garza-Flores, 1994).

Progesterona y estradiol.

La progesterona y el estradiol juegan un papel importante en los procesos reproductivos de la mujer.

La formación de progesterona ocurre en el ovario (principalmente en el cuerpo lúteo), los testículos, la corteza adrenal y la placenta. Su producción durante la fase folicular es de 2.3 a 5.4 mg/dia y durante la fase lútea de 22 a 43 mg/dia.

La progesterona es sintetizada a partir del colesterol, y el acetato (Figura 1). El colesterol es transformado a pregnenolona por medio del complejo enzimático del citocromo P450, la pregnenolona es convertida a progesterona por la acción de las enzimas 3ß-01 deshidrogenasa y ^{4,5}-isomerasa.

La progesterona es principalmente metabolizada por el hígado a pregnadiol. Este y otros metabolitos son conjugados con ácido glucurónico en el hígado y excretado en el riñón, una segunda vía de excreción es a través de la bilis y las heces (Aufrere, 1976; Murad, 1981).

La progesterona es responsable del crecimiento de las glándulas uterinas, reduce la cantidad de contracciones en el miometrio, mantiene el embarazo, incrementa la consistencia del moco cervical, inhibe la capacitación del esperma y la secreción de gonadotropinas, aumenta la temperatura corporal y en la mama estimula el desarrollo de los lóbulos y de los alveólos (Newman, 1978).

La formación de estrógenos ocurre en las gónadas, la placenta y la corteza adrenal, y en cantidades muy pequeñas en tejidos periféricos como el músculo esquelético, el hígado, el tejido adiposo y los folículos pilosos.

De igual forma que la progesterona, los estrógenos son formados a partir del colesterol (figura 1), su síntesis tiene como intermediarios a la androstendiona y la testosterona.

El estrógeno más potente y más secretado por el ovario es el 17-beta-estradiol, que puede ser oxidado a estrona, menos activo que el anterior y/o hidroxilado a estriol, un estrógeno menos potente que los dos anteriores (Murad, 1991).

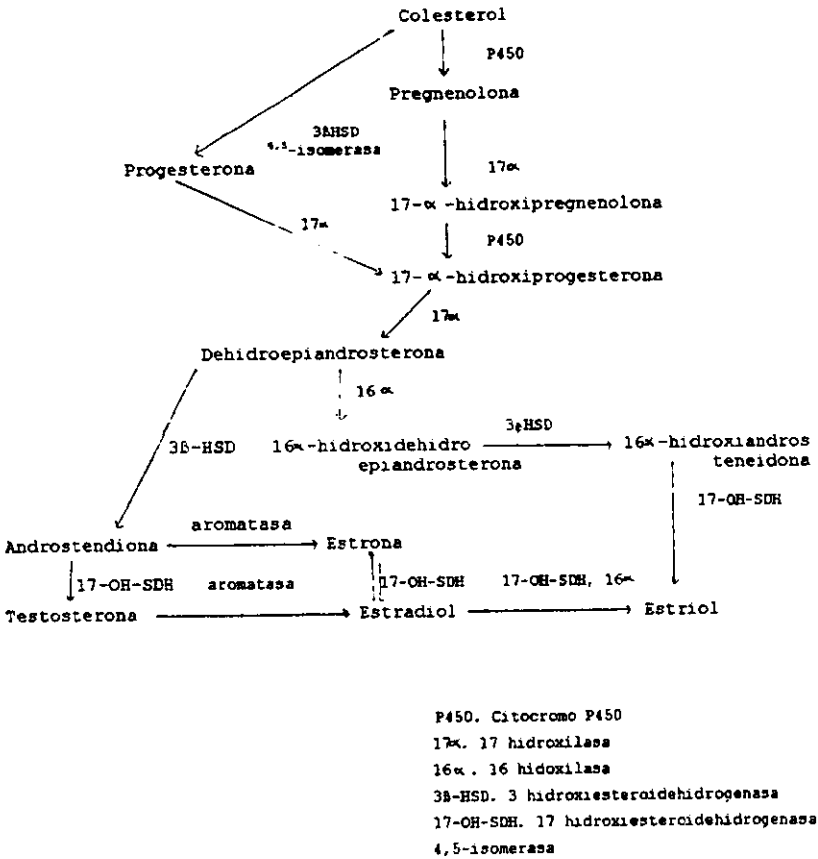


Figura 1. Biosintesis de progesterona y estradiol.

Los estrógenos son responsables de la aparición de los caracteres sexuales secundarios de las mujeres. Causan el crecimiento y desarrollo de la vagina, el útero y las trompas de falopio, el aumento de grasa, el crecimiento de las mamas, contribuyen un poco al moldeado del contorno del cuerpo y producen el crecimiento del pelo axilar y púbico (Murad, 1991).

Los sucesos ocurridos durante el ciclo menstrual dependen de la interacción de los estrógenos, la progesterona, las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH).

El ciclo menstrual se inicia con el desarrollo de los folículos ováricos y la secreción de la FSH por la hipófisis, ésta hormona se encarga de regular la producción de estrógenos. El primero de los folículos en alcanzar la maduración, inhibe la secreción de la FSH por retroalimentación negativa, mediada por los estrógenos y por la hormona inhibina, secretada por el ovario, privando a los folículos restantes del estímulo gonadotrópico para su desarrollo (Filicori, 1986).

Las células de la granulosa del folículo maduro aumentan su producción de estradiol. Después de niveles séricos elevados de estradiol por varios días, éstos actúan por retroalimentación sobre el eje hipotálamo-pituitaria en el control de la secreción de gonadotropina, aumentando la liberación de la LH (Hillier, 1980). Es entonces cuando la ovulación es inducida por la elevación brusca y acentuada de LH que tiene lugar a la mitad del ciclo, durante el día 14 (Descomps,1980). En los humanos, la secreción de progesterona comienza poco antes de la ovulación. Luego de la ovulación,

el folículo se transforma en el cuerpo lúteo. La producción gradual de estrógenos y progesterona por el cuerpo lúteo (día 14-20) provoca una disminución en los niveles séricos de gonadotropinas por retroalimentación negativa (Aufrere, 1976; Ayala, 1989; Filicori, 1984; McLachln, 1989; Solues, 1984).

La progesterona exógena es capaz de actuar en el hipotálamo y la pituitaria provocando la inhibición en la liberación de las hormonas gonadotrópicas necesarias en el mantenimiento de la función ovárica normal (Stevens, 1970).

La progesterona fue aislada por Budentant en 1934 (Budentant, 1974) y ese mismo año su estructura fue descrita figura 2).

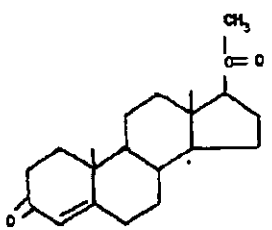


Fig. 2. Fórmula química de la progesterona (4-pregnene-3,20-diona).

La progesterona natural ha sido objeto de estudio como alternativa en el tratamiento de la hipertensión en mujeres postmenopaúsicas (Rylance, 1985), el mantenimiento del embarazo (Erny, 1986; Ferre, 1984), la reducción en los

efectos del síndrome premenstrual (Dennerstein, 1985) y la inhibición de la ovulación (Pincus, 1950).

La progesterona combinada con el estradiol es una alternativa en la reducción de la hiperplasia endometrial favorecida por estos en mujeres postmenopaúsicas (Lane, 1983).

Por su baja biodisponibilidad y rápido metabolismo hépatico su uso fue sustituído por los progestágenos sintéticos. Sin embargo estos no son capaces de producir los mismos efectos que las hormonas nativas (Ottoson, 1985; Siturk, 1987).

Preparaciones de progesterona micronizada administrada por vía oral han logrado un alto porcentaje de absorción (Whithead, 1980), con lo que se alcanzan concentraciones en el suero similares a las de la fase mesolútea después de su administración, con el retorno a los niveles iniciales en 24 (Hargrove, 1989; Maxon, 1985) ó hasta 48 horas después (Nillius, 1971).

Con fines anticonceptivos, un inyectable de progesterona microencapsulada en un polímero biodegradable ha sido capaz de inhibir la ovulación en ratas y primates no humanos por un período de 30 días (Beck, 1979). Una formulación de progesterona y estradiol representa otra alternativa en la regulación de la fertilidad. Cien mg de progesterona con 5 mg de estradiol en suspensión macrocristalina, administrada intramuscularmente produce niveles plasmáticos similares a los observados en la fase lútea media del ciclo menstrual(Garza-Flores, 1991), que al igual que una formulación de 250 mg de progesterona en suspensión macrocristalina administrada en mujeres después

del parto, producen una liberación sostenida de los esteroides, produciendo inhibición en la ovulación (Garza-Flores, 1988).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En estudios realizados por Garza-Flores (1991), la formulación de 100 mg de progesterona con 5 mg de estradiol logró inhibir la ovulación por períodos menores a 30 días, por lo que se pretende que aumentando la dosis de la progesterona a 250 mg manteniendo constante la concentración de estradiol, exista el retorno a la ovulación después de 30 días lo que sería conveniente para su posible uso como anticonceptivo mensual.

El tamaño de las microesferas podría influir en el tiempo de liberación del esteroide. Se considera que el tamaño de 75 a 105 micrómetros de diámetro proporciona un tiempo más prolongado de liberación que el tamaño de 55 a 74 micrómetros.

Hipótesis

El tamaño de microesferas monolíticas de 75 - 105 micrómetros proporciona una liberación más prolongada que el tamaño de 55 - 74 micrómetros; por lo tanto, se producen diferencias en los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos producidos por cada rango de tamaño de microesferas monolíticas.

OBJETIVO

Objetivo general

Calcular y comparar la farmacocinética y farmacodinamia de una formulación de 250 mg de progesterona y 5 mg de 17-beta-estradiol preparada en microesferas monolíticas de dos tamaños diferentes.

Objetivos particulares

1. Obtención de los parámetros farmacocinéticos para éstas dos hormonas: concentración sérica máxima, tiempo para alcanzarla, tiempos de vida media de absorción y de eliminación y área bajo la curva del esteroide para los dos diferentes tamaños de microesferas después de ser administrado por una sola ocasión el inyectable.

2. Obtención de los parámetros farmacodinámicos: detección del retorno a la ovulación y maduración folicular para los dos diferentes tamaños de microesferas después de ser administrado el inyectable.

3. Comparación de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos cuando se administraron los dos tamaños de microesferas monolíticas.

MATERIAL Y METODOS

Preparación del inyectable.

La progesterona (4-pregnene-3,20-diona) y el 17-beta-estradiol (1,3,5 (10)-estatriene-3,17-diol) fueron obtenidos de los laboratorios Syntex, México.

La preparación de las microesferas se realizó al someter la progesterona a temperaturas entre 160° y 190° C con un rápido enfriamiento a temperaturas entre -15° y -50° C, cristalizándose y colectándose por filtración las esferas del esteroide, en dos rangos de diferentes tamaños (Garza-Flores,1994; Garza-Flores, 1996).

Las microesferas de estradiol fueron formadas de la misma manera que en la preparación de las de progesterona.

El inyectable fue elaborado por los laboratorios de Aplicaciones Farmaceúticas. La suspensión provino de un lote piloto de microesferas monolíticas de 250 mg de progesterona y 5 mg de 17-beta-estradiol en un vehículo (2 ml) con la siguiente composición:

carboximetilcelulosa	0.5 % p/v
polietilenglicol	2.0 % p/v
tween 80	0.2% p/v
solución saturada isotónica	(2 ml)

Método

Estudios clínicos

Treinta mujeres voluntarias en edad reproductiva participaron en el estudio; asignadas al azar, quince sujetos (primer grupo) recibieron una aplicación por vía intramuscular en la región glútea de 250 mg de progesterona y 5 mg de estradiol en una preparación de microesferas monolíticas de 55-74 micrómetros de diámetro. Un segundo grupo de quince mujeres recibió exáctamente la misma formulación pero con un tamaño de microesferas mayor, entre 75-105 micrómetros.

Las mujeres participantes firmaron una carta de consentimiento informado antes de ser incluidas como voluntarias en el estudio, con posibilidad de abandonarlo si lo deseaban (apéndice A). Asimismo fue obtenida la aprobación del Comité de Etica del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán para la realización del proyecto (apéndice B).

Las mujeres incluidas en éste estudio no presentaron embarazo, lactancia, sangrado transvaginal anormal, enfermedad benigna o maligna de la mama, citología cervicovaginal anormal, hipertensión anormal (mayor de 140 la tensión sistólica y mayor de 90 la tensión diastólica), diabetes mellitus, enfermedad renal, padecimientos endocrinos, patología hemática ó alteración en el metabolismo de los lipidos. Las características físicas de las mujeres participantes se muestra en la tabla I y II.

Tabla I. Características físicas generales del primer grupo de las voluntarias. A todas ellas se les administró intramuscularmente 250 mg de progesterona (P4) y 5 mg de estradiol (E2) con tamaño de microesferas de 55-74 µ.

Sujeto	Edad (años)	Peso (Kg)	Estatura (m)
01	27	51	1.49
02	23	56	1.58
03	26	62	1.51
04	27	80	1.56
05	20	70	1.47
06	24	73	1.55
07	31	68	1.55
08	26	68	1.51
09	35	68	1.51
10	32	51	1.49
11	25	61	1.51
12	28	51	1.51
13	27	58	1.59
14	28	60	1.57
15	23	74	1.67
$\bar{x}$	26.8	63.3	1.53
d.e.	3.8	9.06	0.05

$\bar{x}$ = Media

d.e. = Desviación éstandar

Tabla II. Características físicas generales del segundo grupo de voluntarias. A todas ellas se les administró intramuscularmente 250 mg de progesterona y 5 mg de estradiol con tamaño de microesferas de 75 - 105 µ.

Sujeto	Edad (años)	Peso (Kg)	Estatura (m)
16	25	51	1.55
17	30	58	1.59
18	25	69	1.65
19	35	54	1.53
20	29	65	1.59
21	35	49	1.51
22	35	56	1.52
23	31	79	1.55
24	29	48	1.54
25	29	88	1.50
26	22	52	1.55
27	28	52	1.52
28	24	63	1.57
29	25	64	1.69
30	29	56	1.63
x	28.7	56.8	1.56
d.e.	4.1	18.2	0.05

Cada participante sirvió como control, al ser evaluada en el día 21 y 25 del ciclo previo al tratamiento para constatar la ovulación con la determinación de la progesterona.

Se aplicó una inyección única por vía intramuscular de 250 mg de progesterona con 5 mg de 17-beta-estradiol, en la preparación de microesferas monolíticas entre el primer y quinto día del ciclo menstrual. Para asegurar inyectar la cantidad requerida se administró un 10% adicional de las cantidades establecidas de cada esteroide. Los residuos de las jeringas utilizadas fueron cuantificados por el Centro de Aplicaciones Farmaceúticas y Estudios Tecnológicos. La dosis exacta de los esteroides administrados se muestran en las tablas III y IV.

Tabla III. Dosis de progesterona y estradiol administrada en el inyectable en el primer grupo de mujeres con tamaño de microesferas de 55-74 µ.

Sujeto	Progesterona (mg)	Progesterona (%)	Estradiol (mg)	Estradiol (%)
01	258.4	103.4	5.14	103.8
02	260.4	104.1	5.21	104.2
03	259.6	103.8	5.23	104.6
04	263.1	106.9	5.30	106.6
05	260.0	104.0	5.21	104.2
06	266.0	106.4	5.30	106.4
07	266.9	106.7	5.38	106.6
09	268.9	107.6	5.39	107.8
10	264.4	105.7	5.26	105.2
11	253.8	101.5	5.07	101.4
12	260.8	104.1	5.18	103.6
13	256.3	102.5	5.12	102.4
14	274.1	109.6	5.48	104.6
15	254.8	101.9	5.05	101.0
x	261.9	104.9	5.44	104.7
d.e.	5.7	2.1	0.81	2.3

Tabla IV. Dosis de progesterona y estradiol administrada en el inyectable al segundo grupo de mujeres con tamaño de microesferas de 75 - 105 µ.

Sujeto	Progesterona (mg)	Progesterona (%)	Estradiol (mg)	Estradiol (%)
16	271.3	108.6	5.39	107.8
17	269.0	107.6	5.30	106.0
18	261.8	104.7	5.10	102.0
19	268.6	107.4	5.40	108.1
20	265.9	106.3	5.38	107.6
21	261.9	104.7	5.29	105.8
22	259.9	103.9	5.28	105.6
23	263.0	105.2	5.35	107.1
24	264.2	105.6	5.36	107.2
25	263.9	105.5	5.33	106.7
26	266.3	106.5	5.36	107.3
27	262.7	105.1	5.32	106.4
28	263.0	105.2	5.32	106.5
29	263.8	105.5	5.31	106.3
30	261.3	104.8	5.29	105.8
x	264.8	105.7	5.31	106.4
d.e.	3.1	1.2	0.07	1.4

Una vez administrado el fármaco se tomaron muestras sanguíneas diariamente durante los primeros catorce días del tratamiento y posteriormente dos veces por semana, a partir del día 15 hasta completar 2 meses, en la mayoría de las voluntarias.

De las muestras sanguíneas se obtuvo el suero por centrifugación durante 10 minutos a 4° C a 2200 rpm en una centrifuga marca Beckman modelo J-68.

El suero fue mantenido en congelación a -20° C hasta la determinación de progesterona y estradiol, conservándose bajo estas condiciones hasta su determinación, en promedio dos meses.

Cuantificación hormonal y validación del método empleado.

El método empleado para la determinación hormonal fue el radioinmunoanálisis, usando estuches comerciales obtenidos de Diagnostic Products Corporation.

El radioinmunoanálisis es una técnica empleada para detectar una hormona específica. Se basa en la competencia entre la hormona marcada y la hormona no marcada (la del suero) por los sitios de unión del anticuerpo. En el radioinmunoanálisis en fase sólida el anticuerpo se halla unido a las paredes del tubo de polipropileno, la decantación del tubo permite la separación de la hormona no unida al anticuerpo. Se determina la cantidad de radioactividad contenida en el tubo en un contador gamma y a través de la curva de calibración ó estándar se conoce la concentración de la hormona de cada muestra.

Cada ensayo estuvo constituido por duplicados de cuentas totales (CT), unión no específica (UNE), muestras estándares ó de calibración, muestras de control de calidad y las muestras de las participantes.

Las CT indican la cantidad de radioactividad emitida de la hormona marcada con ^{125}Iodo. El estuche para un ensayo de 100 tubos está provisto de la hormona marcada con actividad de 5 µCi.

La UNE consiste en la cantidad de trazador marcado clasificado como la fracción unida en ausencia de un ligando específico.

Las muestras estándares consisten de 7 muestras con concentraciones conocidas de la hormona que conforman la curva de calibración ó curva estándar, necesaria en la interpolación de los valores obtenidos en el porcentaje de unión con el rastreador para la determinación de concentraciones de la hormona en las muestras de las participantes.

Las muestras de control de calidad se conforman por sueros con rangos conocidos de concentraciones bajas, medias y altas de la hormona, obtenidos de Diagnostical Medical Corporation.

El procedimiento empleado en cada ensayo se indica en la tabla V.

Tabla V. Procedimiento del radioinmunoanálisis para la cuantificación de las hormonas progesterona y estradiol.

	Muestra	Hormona marcada
CT		1 ml
UNE		1 ml
Estándar	100 µl	1 ml
Control	100 µl	1 ml
Muestra problema	100 µl	1 ml
Mezclar en el vortex		
Incubar a temperatura ambiente durante 3 horas		
Decantar sobre papel absorbente, excepto las CT.		
Secar las paredes del tubo.		
Contar por 1 minuto en el contador gamma.		

En cada ensayo se determinaron entre 30 y 50 muestras problema.

El contador utilizado es de la marca Packard modelo Crystal II, con eficiencia del 65%.

La precisión y reproducibiliad de los ensayos realizados se obtuvo calculando la variación intra e inter-análisis y graficando los resultados en las cartas de control de calidad de los duplicados de tres rangos de concentraciones conocidas (control bajo, medio y alto) de las dos diferentes hormonas durante cada ensayo (variación intra-ánalisis) y de la comparación de los resultados de las determinaciones entre los diferentes ensayos (variación inter-análisis) (Apéndice C).

Obtención de las concentraciones de progesterona y estradiol

La determinación de las concentraciones de la progesterona y el estradiol se realizaron a través del programa de cómputo de Edwards (1988), el cual se basa en la interpolación de los valores obtenidos a partir de una curva estándar que posee valores conocidos de la hormona a determinar.

Farmacodinamia

Los valores de la farmacodinamia obtenidos después de la aplicación del inyectable consistió en la maduración folicular, considerando una concentración sérica del estradiol superior a 150 pg/ml (Thorneycroft, 1974) y la detección del retorno a la ovulación con niveles de progesterona superior a 5 ng/ml (Descomps, 1980).

Validación de método.

El control de calidad para las determinaciones de las hormonas progesterona y estradiol expresados como coeficientes de variación (CV) intra e interanálisis de las muestras de control de calidad baja, media y alta se presentan en las tablas VI y VII, respectivamente.

Las cartas de control de calidad que también permiten validar los resultados se ilustran en el apéndice D.

Tabla VI. Coeficiente de variación intra-análisis de los radioinmunoanálisis empleados en la detección de las hormonas progesterona y estradiol. Se realizaron veintiuno y veinte ensayos, respectivamente.

	Coeficiente de variación intra-análisis (%)		
Hormona	Control bajo	Control medio	Control alto
Progesterona	6.99	10.95	11.41
Estradiol	14.26	17.13	8.01

Tabla VII. Coeficiente de variación inter-análisis de los radioinmunoanálisis empleados en la detección de las hormonas progesterona y estradiol. Se realizaron veintiuno y veinte ensayos, respectivamente.

	Coeficiente de variación inter-análisis (%)		
Hormona	Control bajo	Control medio	Control alto
Progesterona	7.60	8.03	9.71
Estradiol	16.51	14.58	9.15

Concentraciones séricas de progesterona y estradiol.

La detección de la ovulación en el ciclo menstrual pretratamiento de las voluntarias fue de 12 voluntarias en el primer grupo y de 13 voluntarias en el segundo grupo.

Los valores individuales de las concentraciones séricas de la progesterona y el estradiol a diferentes tiempos, después de la inyección intramuscular se representan en las figuras 3 a 32 (Apéndice E).

Los valores promedio (media geométrica) de las concentraciones séricas de la progesterona y el estradiol del primer y segundo grupo de voluntarias después de recibir el inyectable, se representan en las tablas VIII y IX y las figuras 33 a 36, respectivamente. La obtención de la media geométrica y sus límites de confianza fue de acuerdo al apéndice F.

Figura 3. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 1 después de la administración del inyectable.

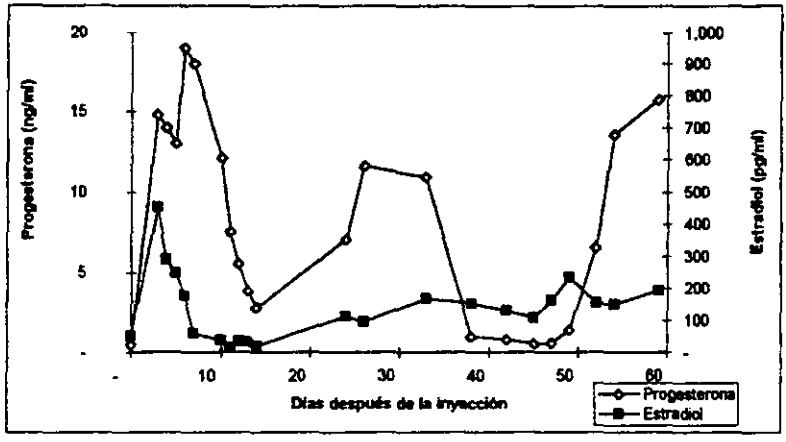


Figura 4. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 2 después de la administración del inyectable.

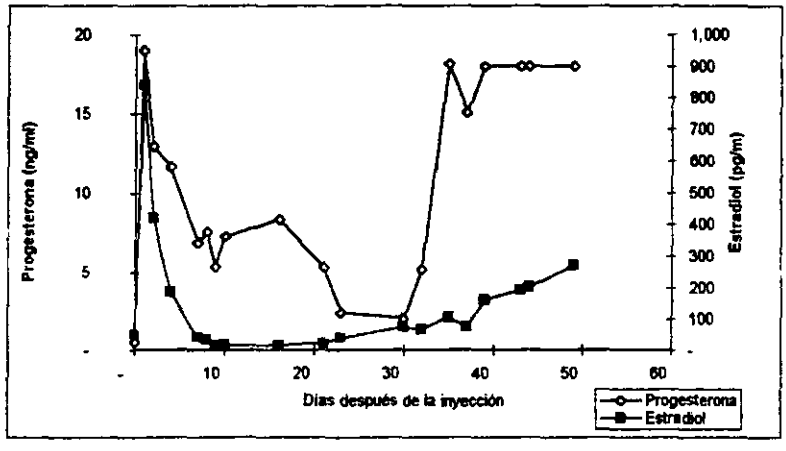


Figura 5. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 3 después de la administración del inyectable.

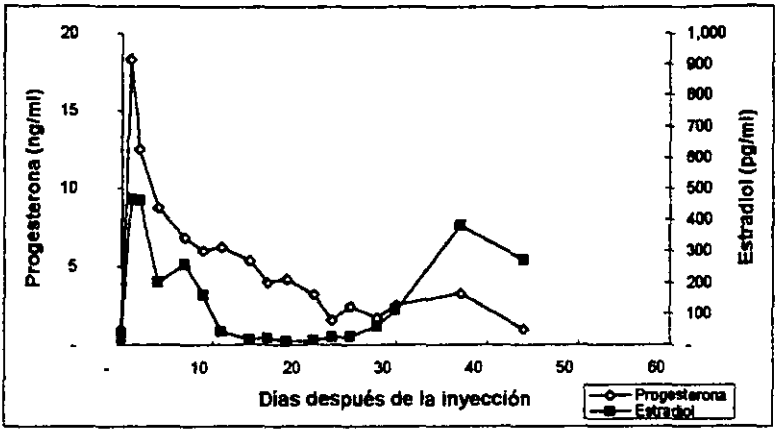


Figura 6.Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 4 después de la administración del inyectable

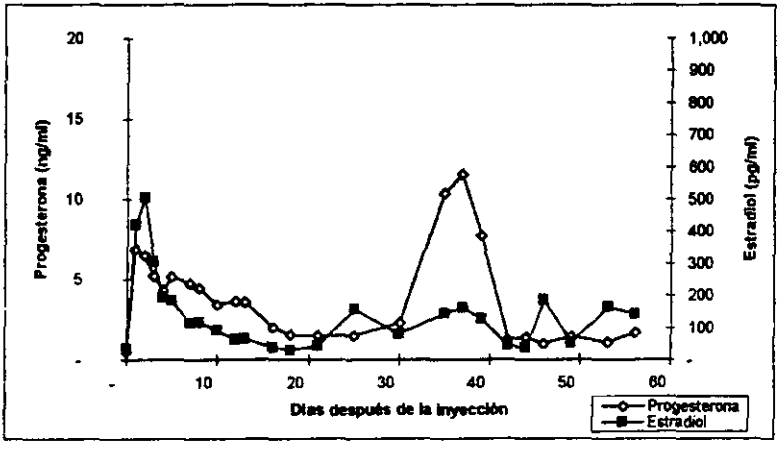


Figura 7.Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 5 después de la administración del inyectable.

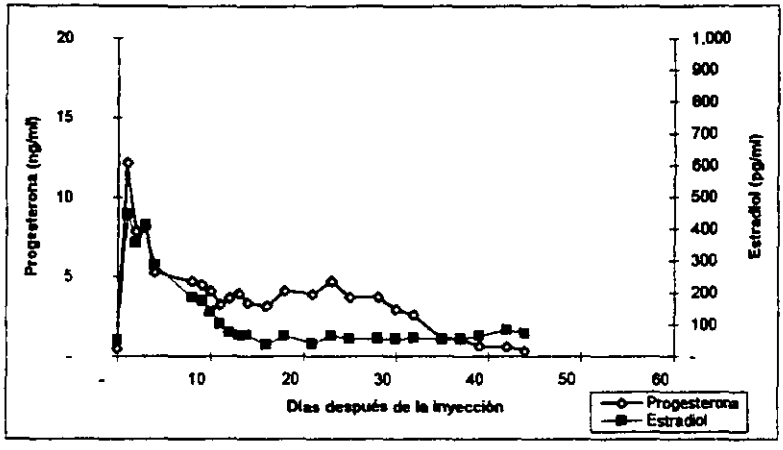


Figura 8. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 6 después de la administración del inyectable.

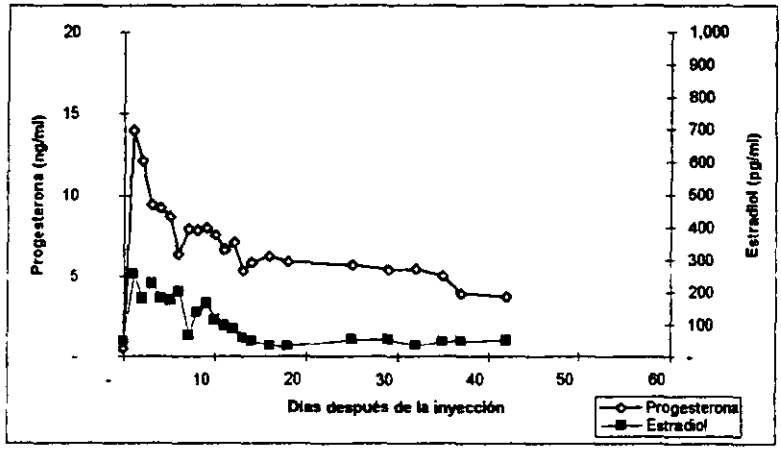


Figura 9.Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 7 después de la administración del inyectable.

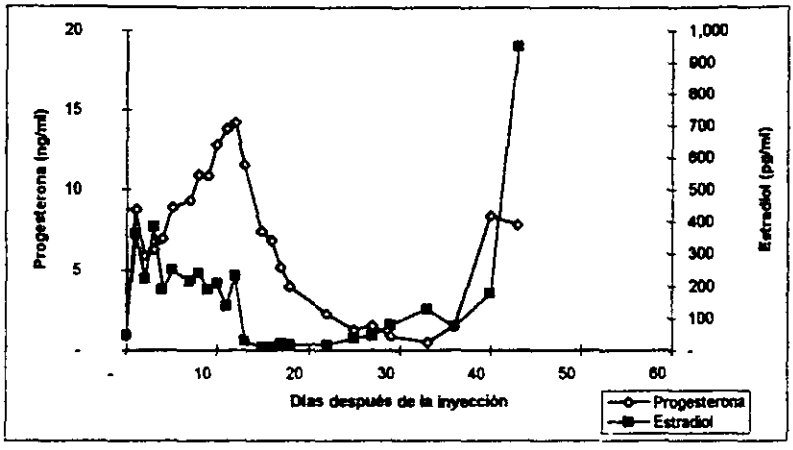


Figura 10.Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 8 después de la administración del inyectable.

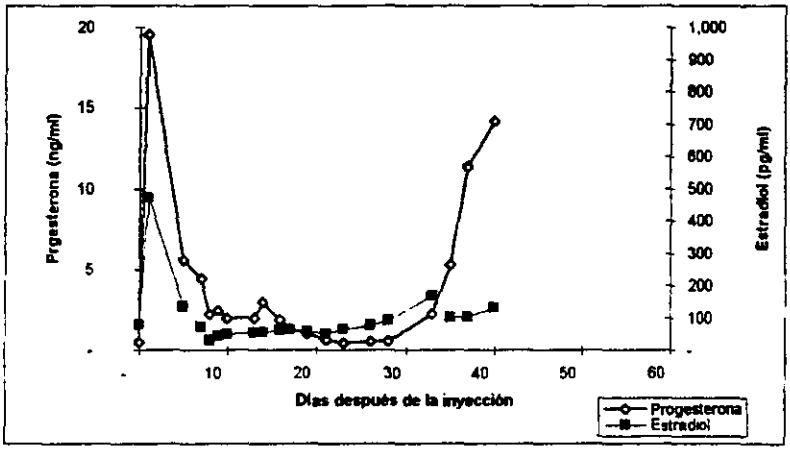


Figura 11.Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 9 después de la administración del inyectable.

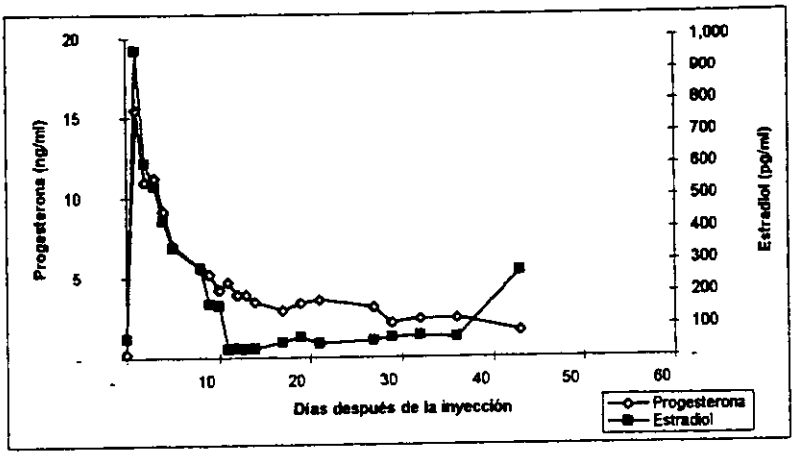


Figura 12.Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 10 después de la administración del inyectable.

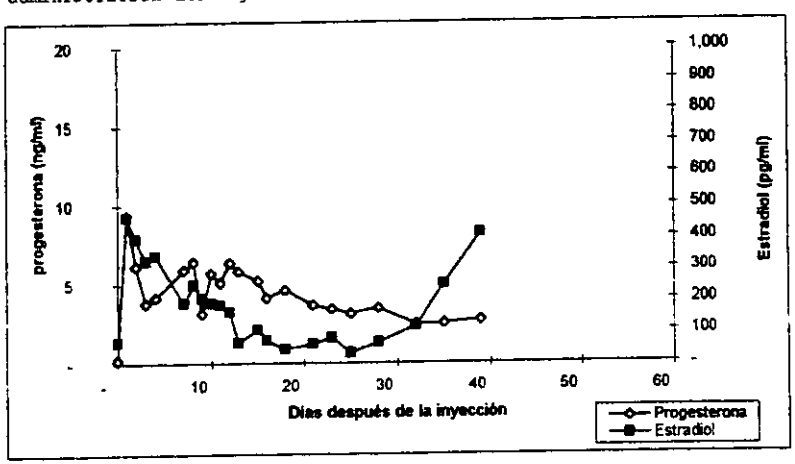


Figura 13. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 11 después de la administración del inyectable.

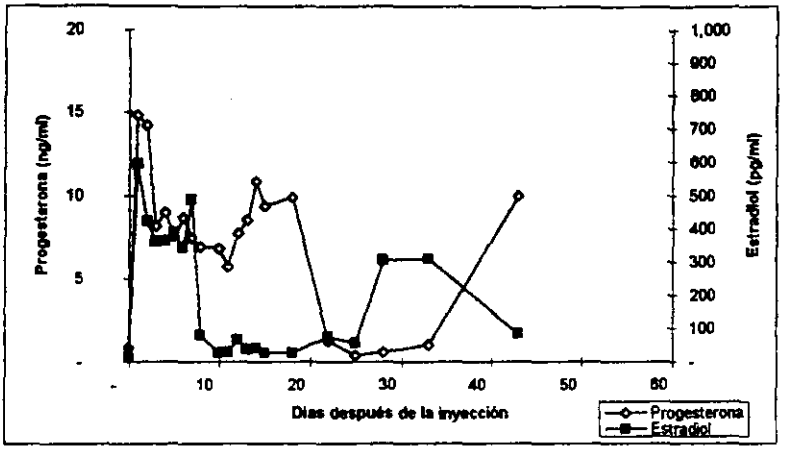


Figura 14. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 12 después de la administración del inyectable.

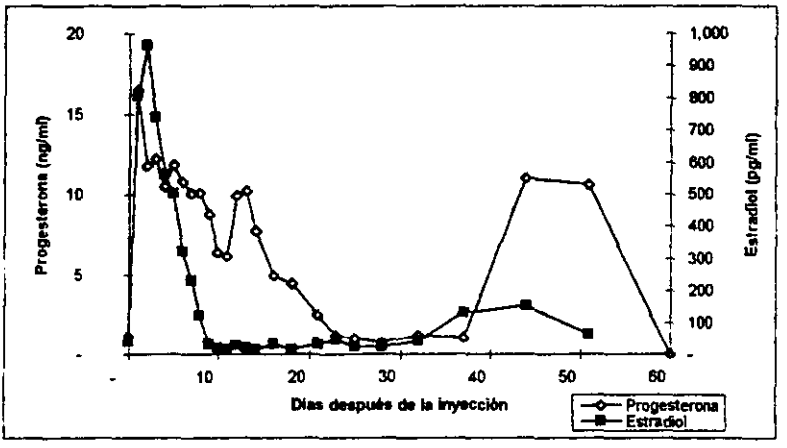


Figura 15.Concentración sérica de P4 y E2 vs.tiempo del sujeto 13 después de la aplicación del inyectable.

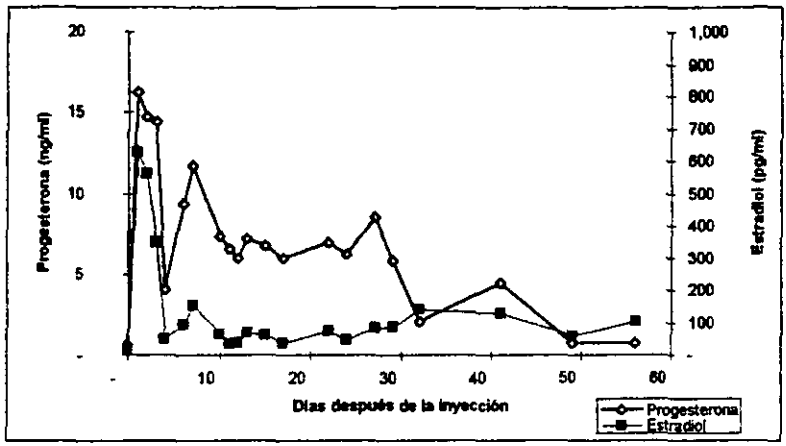


Figura 16.Concentración sérica de P4 y E2 vs.tiempo del sujeto 14 después de la administración del inyectable.

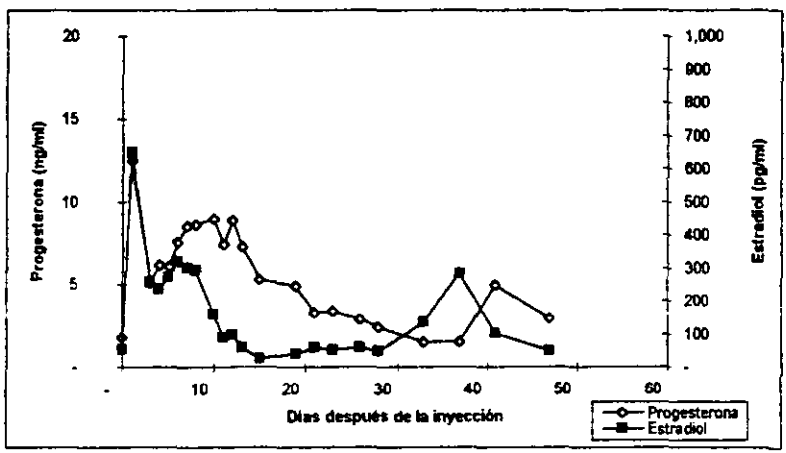


Figura 17.Concentración sérica de P4 y E2 vs tiempo del sujeto 15 después de la administración del inyectable.

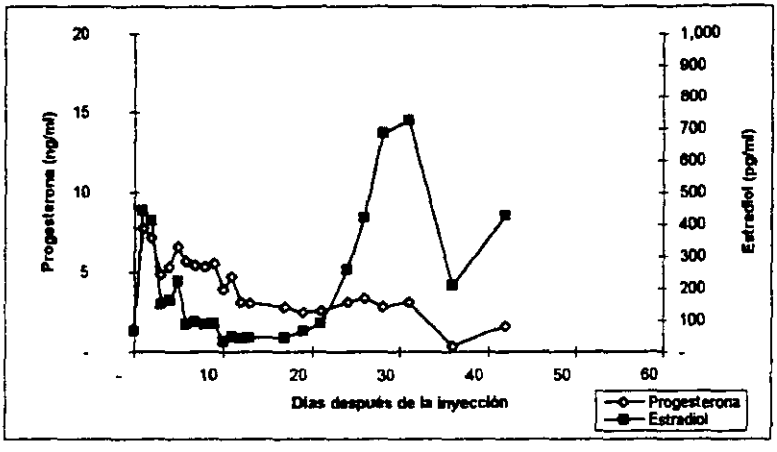


Figura 18.Concentración sérica de P4 y E2 vs tiempo del sujeto 16 después de la administración del inyectable.

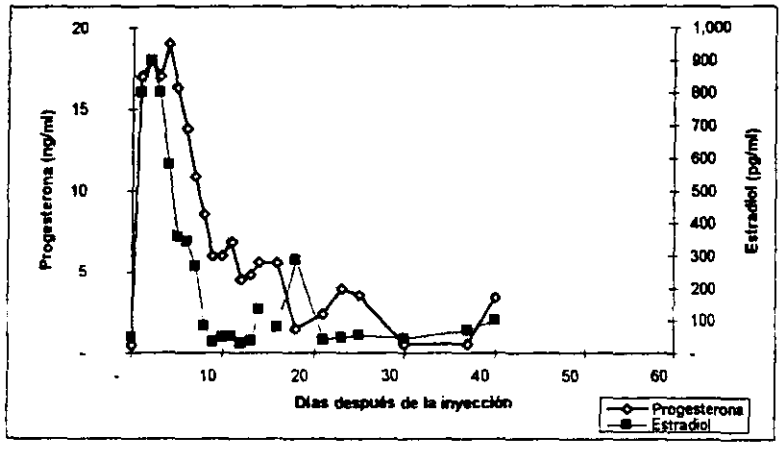


Figura 19.Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 17 después de la administración del inyectable.

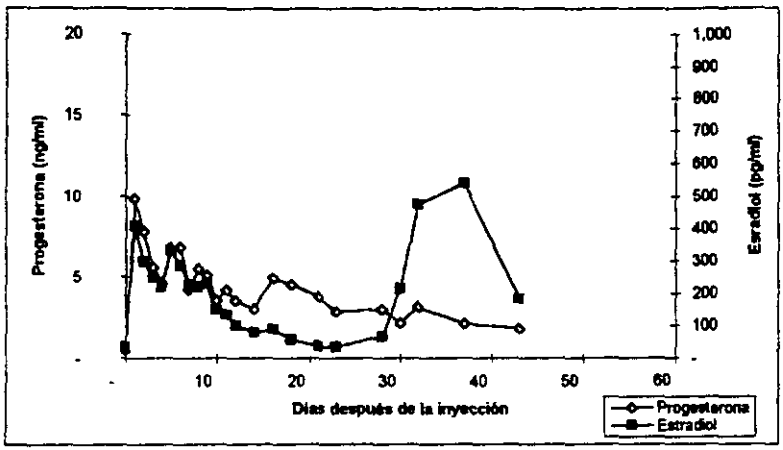


Figura 20.Concentración sérica de P4 y E2 vs tiempo del sujeto 18 después de la administración del inyectable.

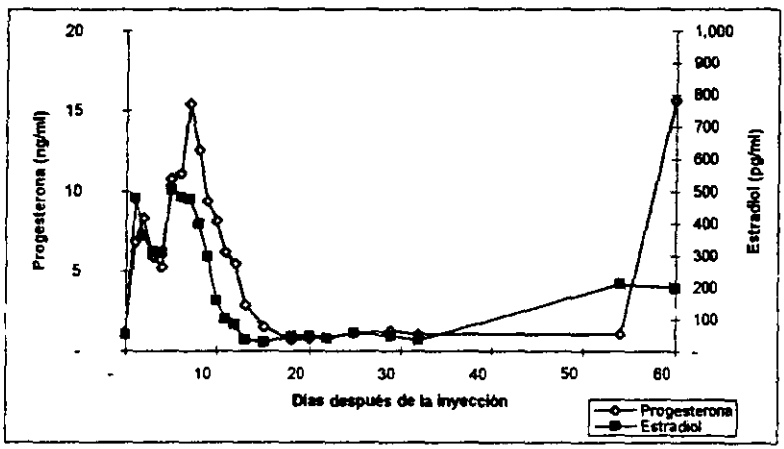


Figura 21.Concentración sérica de P4 y E2 vs tiempo del sujeto 19 después de la administración del inyectable.

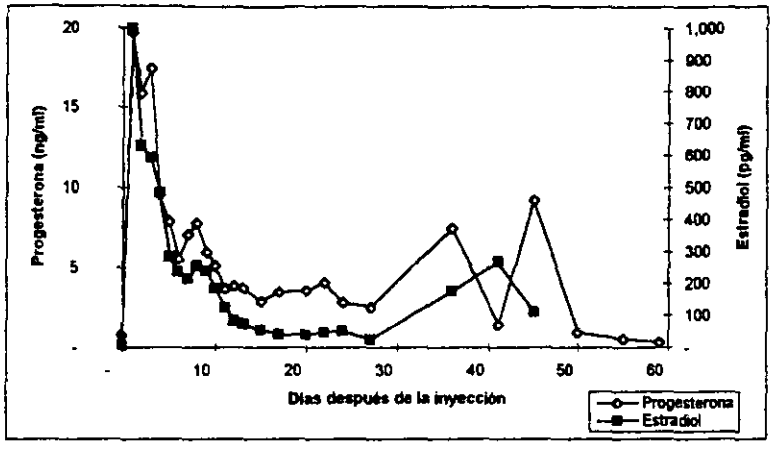


Figura 22. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 20 después de la administración del inyectable.

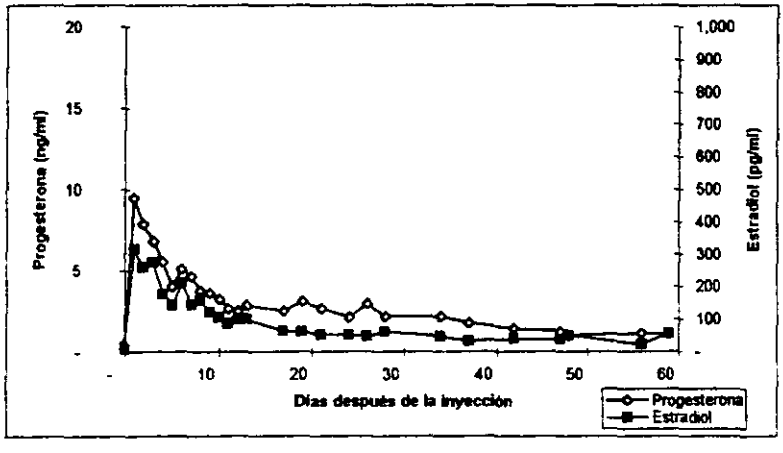


Figura 23.Concentración sérica de P4 y E2 vs tiempo del sujeto 21 después de la administración del inyectable.

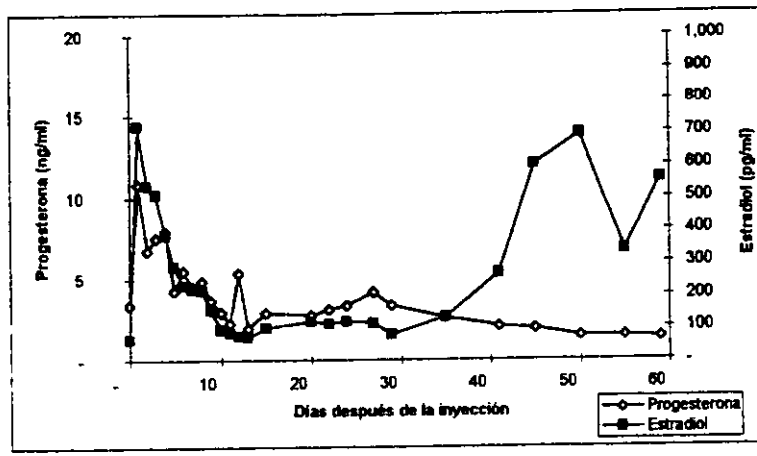


Figura 24. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 22 después de la administración del inyectable.

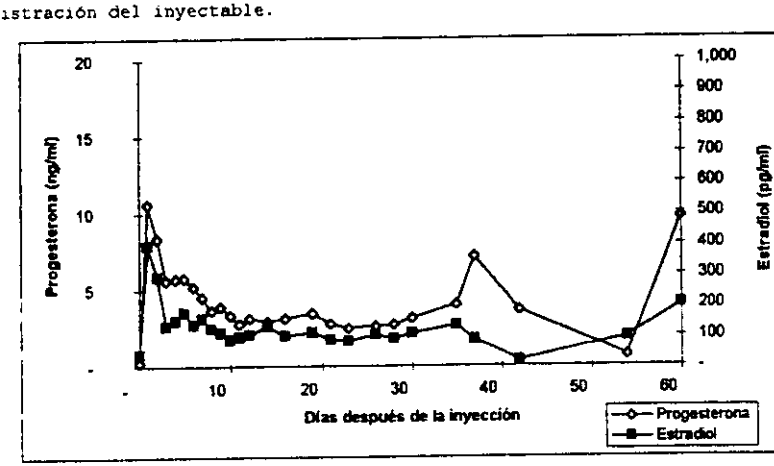


Figura 25. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 23 después de la administración del inyectable.

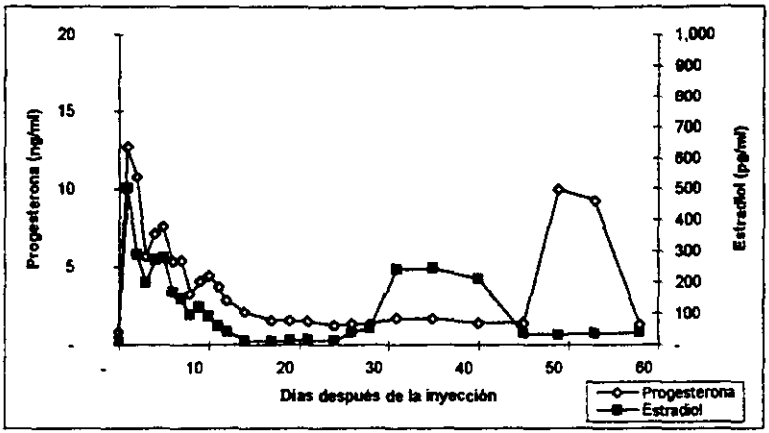


Figura 26. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 24 después de la administración del inyectable.

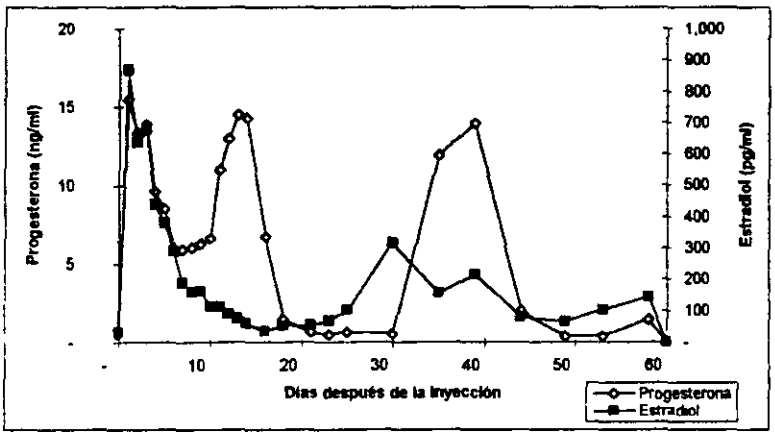


Figura 27. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 25 después de la administración del inyectable.

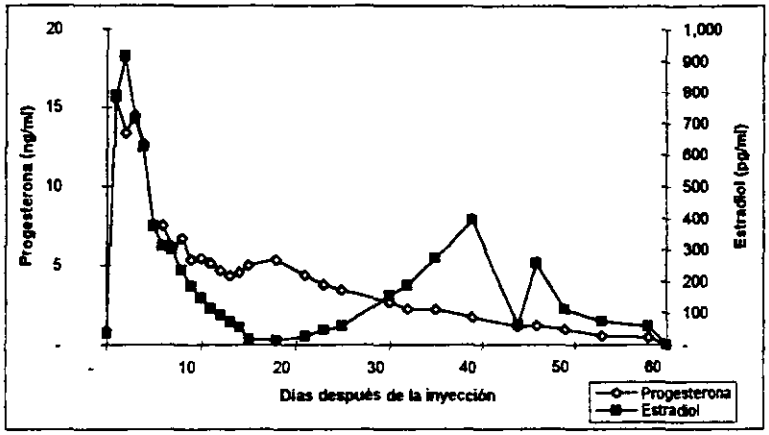


Figura 28. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 26 después de la administración del inyectable.

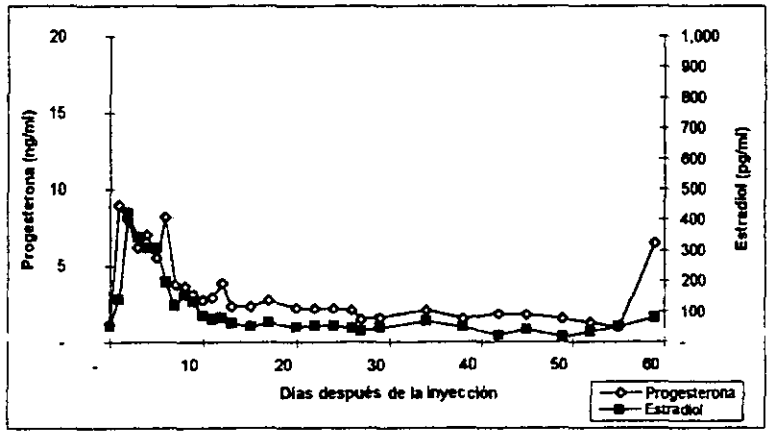


Figura 29. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 27 después de la administración del inyectable.

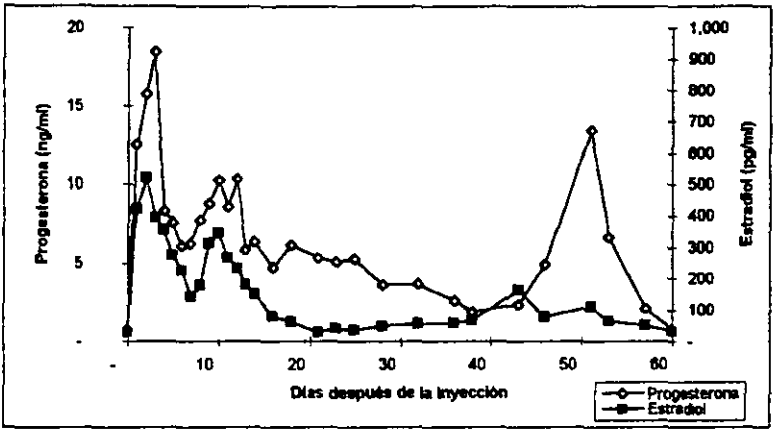


Figura 30. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 28 después de la administración del inyectable.

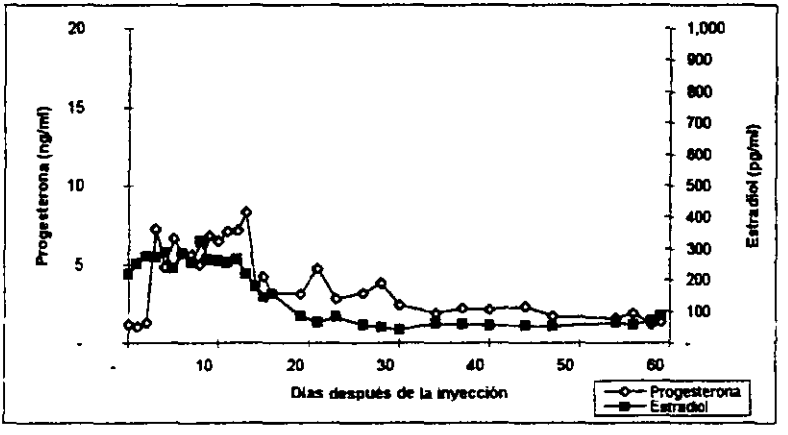


Figura 31. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 29 después de la administración del inyectable.

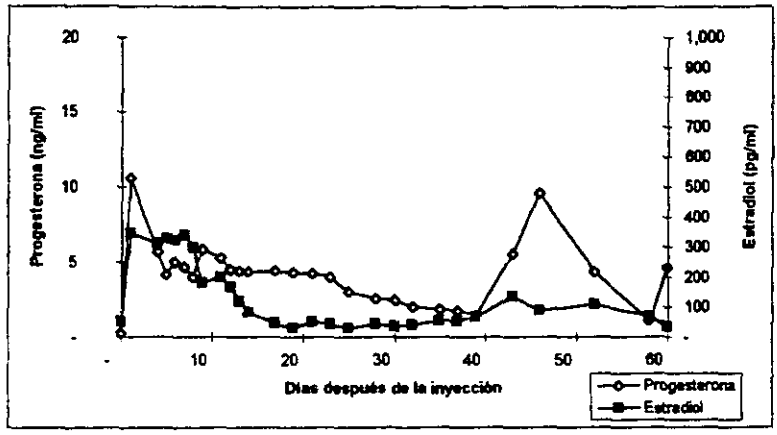


Figura 32. Concentración sérica de P4 y E2 vs. tiempo del sujeto 30 después de la administración del inyectable.

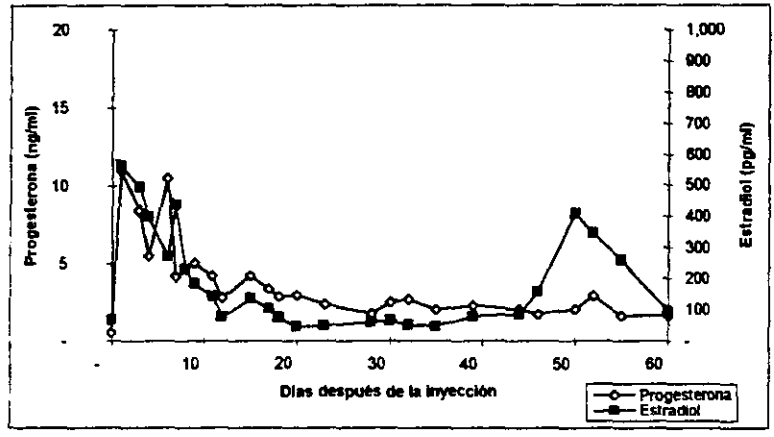


Tabla XVIII. Media geométrica y límite superior e inferior de la progesterona y el estradiol (95 por ciento de confianza) del primer grupo de quince voluntarias obtenidos después de aplicar el inyectable de 250 mg de progesterona y 5 mg de estradiol, con tamaño de microesferas de 55-75 micrómetros.

Día	N	P4 (ng/ml)	L.S.	L.I.	E2 (pg/ml)	L.S.	L.I.
0	15	0.64	2.16	0.19	41.82	115.40	15.15
1	14	1306	25.92	6.58	525.29	1059.34	260.47
2	12	9.72	19.16	4.93	413.55	965.50	177.13
3	12	7.87	19.29	3.21	347.08	779.33	104.49
4	14	7.19	15.90	3.25	229.27	702.81	74.79
5	10	7.69	14.06	4.20	253.59	548.26	117.29
6	7	9.27	23.90	3.59	194.11	605.06	62.27
7	13	7.80	18.01	3.38	167.41	50.60	49.81
8	12	6.23	14.57	2.66	128.72	562.84	29.84
9	11	4.41	22.68	0.85	98.26	586.17	16.47
10	14	5.92	15.95	2.19	64.40	330.82	12.53
11	12	6.11	12.05	3.09	41.72	267.76	9.23
12	12	6.11	15.92	2.34	62.73	238.31	16.48
13	13	5.17	28.06	1.87	45.44	100.61	20.52
14	8	4.74	12.40	1.81	31.56	100.38	9.92
15	5	6.65	10.76	4.11	44.79	173.03	11.59
16	9	3.79	14.38	0.26	29.11	97.81	8.66
17	5	3.21	10.34	0.99	39.47	95.80	16.26
18	8	4.33	11.94	1.57	25.78	81.34	8.17
19	4	2.54	9.53	0.67	55.44	87.66	35.06
21	10	5.64	8.76	0.80	40.65	113.58	14.55
22	3	2.73	14.80	0.50	45.52	242.01	8.55
23	7	1.94	9.55	0.39	48.93	110.22	21.72
24	3	5.14	12.08	2.19	110.36	585.88	20.78
25	8	1.82	9.55	0.34	44.88	150.26	13.40
26	4	2.81	32.92	0.24	116.53	651.88	20.83
27	3	3.44	18.84	0.62	58.25	109.60	30.96
28	8	1.55	7.58	0.32	89.76	768.72	10.48
29	4	2.79	15.53	0.50	69.42	107.15	44.98
30	4	2.42	3.29	1.78	76.49	135.42	43.77
32	7	2.71	7.46	0.98	66.94	179.81	24.92
33	5	1.81	16.43	0.19	171.31	341.12	86.03

Dia	N	P4 (ng/ml)	L.S.	L.I.	E2 (pg/ml)	L.S.	L.I.
35	6	4.88	34.59	0.68	99.93	334.86	29.82
36	3	1.13	6.84	0.18	98.94	358.41	27.31
37	8	3.872	32.63	0.45	121.00	520.31	28.14
39	4	4.08	72.99	0.22	153.33	676.52	34.75
42	5	1.30	5.22	0.32	101.03	601.38	16.97
43	4	7.88	83.95	0.74	257.60	1993.21	33.29
44	5	6.81	9.61	4.00	116.24	579.19	23.32
47	8	1.67	22.98	0.12	115.12	450.39	29.42
52	5	8.06	98.94	0.65	160.80	492.80	52.46
57	3	2.61	60.44	0.12	141.49	259.14	79.25

N = Número de sujetos promediados

P4 = Progesterona

L.S. = Límite superior

L.I. = Límite inferior

E2 = Estradiol

Figura 33. Media geométrica y límites superior e inferior del progesterona sérica en el primer grupo de voluntarias después de la aplicación del inyectable de 55 - 74 µ.

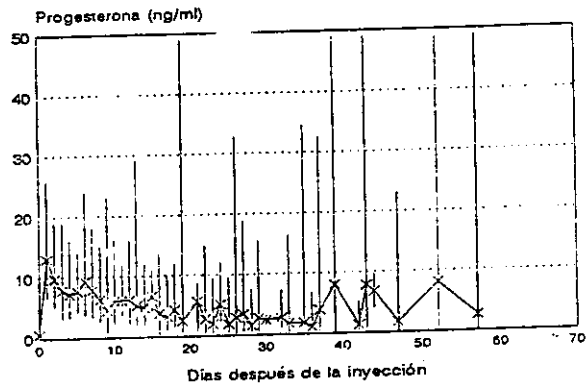


Figura 34. Media geométrica y límites superior e inferior estradiol sérico del primer grupo de voluntarias después de la aplicación del inyectable de 55 - 74 µ.

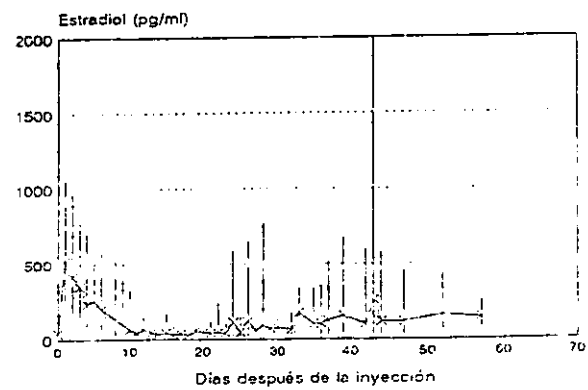


Tabla IX. Media geométrica y límite superior e inferior de la progesterona y el estradiol (95 por ciento de confianza) obtenidos después de aplicar el inyectable de 250 mg de progesterona y 5 mg de estradiol, con tamaño de microesferas de 75 - 105 micrómetros al segundo grupo de 15 voluntarias.

Día	N	P4 (ng/ml)	L.S.	L.I.	E2 (pg/ml)	L.S.	L.I.
0	15	0.59	1.46	0.24	30.5	154.33	5.95
1	15	10.19	40.98	2.53	492.94	1441.40	153.58
2	13	9.72	47.20	2.00	483.3	1825.71	131.39
3	14	9.87	34.92	2.79	392.32	1294.98	118.85
4	15	7.27	15.75	3.35	229.02	1385.07	135.38
5	14	6.87	14.51	3.25	291.83	557.76	153.23
6	15	6.79	12.42	3.62	249.06	457.74	135.51
7	15	5.73	12.07	2.72	222.71	513.40	96.61
8	15	5.43	11.51	2.56	190.50	457.22	80.32
9	15	5.27	9.88	2.81	163.67	466.20	57.46
10	15	4.60	9.58	2.21	116.56	260.88	50.53
11	15	4.54	11.06	1.86	112.33	293.60	42.98
12	15	4.59	11.64	1.81	92.40	284.70	29.99
13	12	4.34	15.12	1.25	86.37	178.67	26.76
14	9	4.55	15.34	1.33	79.04	379.60	16.45
15	7	3.08	6.95	1.36	57.17	303.90	10.78
16	6	4.51	8.28	2.45	81.52	217.88	30.50
17	6	2.85	5.80	1.40	48.93	231.45	10.34
18	7	2.48	12.47	0.49	58.38	353.91	9.63
19	5	2.93	6.28	1.37	42.27	246.63	7.74
20	5	2.17	7.14	0.65	53.78	129.78	22.28
21	10	2.78	10.11	0.76	40.82	113.44	14.68
22	4	2.16	8.80	0.53	56.15	139.32	22.63
23	9	2.64	10.80	0.64	51.63	96.31	27.68
24	5	2.21	4.63	1.06	45.93	226.31	9.32
25	6	2.26	11.24	0.45	50.29	121.51	20.80
26	5	2.32	4.56	1.18	53.34	115.38	24.66
27	3	2.49	6.90	0.90	44.59	232.94	8.53
28	8	2.46	5.10	0.19	57.18	91.36	35.79
29	3	1.82	4.70	0.70	53.18	103.95	27.21
30	8	1.71	7.11	0.41	90.42	473.70	17.26
32	6	2.29	5.49	0.95	82.35	681.58	9.95

Dia	N	P4 (ng/ml)	L.S.	L.I.	E2 (pg/ml)	L.S.	L.I.
34	3	2.20	2.30	1.74	58.37	85.67	39.77
35	7	2.93	10.94	0.78	128.27	570.09	28.86
37	5	2.52	8.03	0.38	143.22	789.67	25.97
39	4	2.99	23.03	0.38	143.22	789.67	25.97
42	3	2.09	5.5	0.79	24.18	53.7	11.46
43	3	2.86	8.89	0.92	158.97	213.07	118.6
44	5	2.04	13.85	0.47	74.54	122.95	45.19
45	4	2.56	19.37	0.51	113.47	1680.72	7.66
46	4	3.14	19.96	0.18	128.16	3912.26	41.87
49	4	1.53	22.67	0.10	43.72	228.02	8.38
50	3	1.39	2.99	0.64	209.94	5136.07	8.58
52	3	2.49	8.73	0.71	104.48	1149.48	9.49
53	4	1.90	48.30	0.07	63.00	150.42	26.38
54	3	1.02	2.32	0.45	107.85	362.18	32.05
55	4	1.02	2.94	0.35	115.59	981.76	13.60
58	5	1.01	2.65	0.40	68.6	178.37	26.42
59	4	1.35	14.97	0.11	128.18	971.89	16.90
60	7	3.40	70.61	0.16	94.23	460.51	19.28

Figura 33. Media geométrica y límites superior e inferior del progesterona sérica en el segundo grupo de voluntarias después de la aplicación del inyectable de 75 - 105 µ.

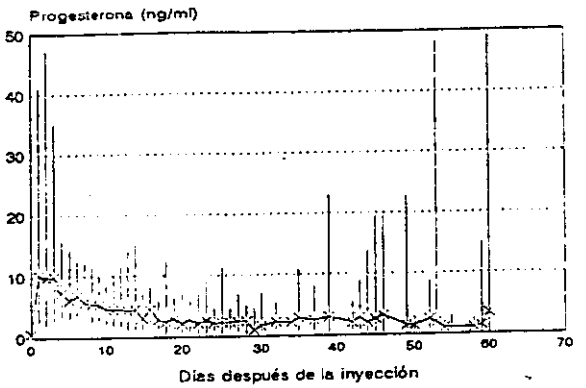
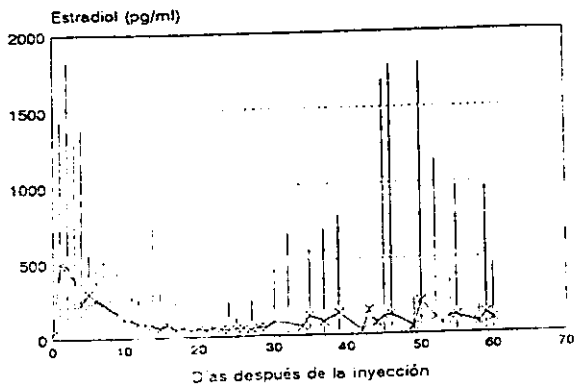


Figura 34. Media geométrica y límites superior e inferior estradiol sérico del segundo grupo de voluntarias después de la aplicación del inyectable de 75 - 105 µ.



Parámetros farmacocinéticos

Con los valores obtenidos de progesterona y estradiol se calcularon individualmente los parámetros farmacocinéticos con el ajuste no lineal de los datos utilizando el paquete computacional PCNONLIN (Metzler, 1993) siguiendo un modelo abierto de uno ó dos compartimientos, eligiendo el modelo de acuerdo con el mejor ajuste a los datos experimentales tomando como base el criterio de Akaike. La concentración máxima y el tiempo para alcanzarla se obtuvo por la observación directa de los datos; el área bajo la curva de la concentración plasmática contra el tiempo se obtuvo de acuerdo al método del trapecio; la constante de velocidad de absorción y de eliminación por el método de regresión lineal de mínimos cuadrados (Apéndice G).

Las tablas X, XI, XII y XIII muestran los parámetros farmacocinéticos para la progesterona y el estradiol, obtenidos después de la aplicación del inyectable.

Tabla X. Parámetros farmacocinéticos de la progesterona después de ser aplicado el inyectable con tamaño de microesferas de 55-74 µ.

		Progesterona							
Sujeto	Modelo	Cmax (ng/ml	Tmax (d)	r	Ka (d^{-1})	T1/2ab (dias)	Ke (d^{-1})	T1/2el (dias)	ABC(ng/ml /dia)
01	MAUC	24.58	6	0.84	0.23	2.93	0.23	2.90	169.64
02	MADC	20.92	1	0.96	2.97	0.23	0.05	12.78	203.97
03	MADC	18.30	1	0.99	2.34	0.01	0.05	11.62	145.46
04	MAUC	6.92	1	0.96	8.83	0.70	0.06	10.24	70.56
05	MADC	12.11	1	0.95	3.99	0.17	0.01	41.10	146.36
06	MAUC	13.96	1	0.77	7.97	0.08	0.09	7.29	200.04
07	MAUC	16.46	12	0.80	0.19	3.58	0.11	5.99	185.96
08	MADC	19.36	1	0.99	1.23	0.55	0.08	8.46	96.54
09	MADC	15.43	1	0.99	9.15	0.07	0.02	32.76	174.12
10	MAUC	9.39	1	0.75	2.06	0.33	0.27	25.61	158.12
11	MAUC	14.73	1	0.73	2.96	0.23	0.06	11.10	181.97
12	MAUC	16.49	1	0.92	2.96	0.23	0.07	9.70	180.22
13	MADC	12.48	1	0.86	1.14	0.60	0.01	38.68	240.89
14	MAUC	7.78	1	0.63	0.19	3.57	0.08	7.79	174.47
15	MAUC	14.24	1	0.89	1.54	0.44	0.17	3.89	254.82
x		15.01	2.06	0.86	3.18	0.91	0.09	15.32	172.22
d.e.		4.83	3.03	0.11	3.05	1.28	0.07	12.68	47.30

MAUC = Modelo abierto de un compartimiento
MADC = Modelo abierto de dos compartimientos
r = Coeficiente de correlación del ajuste de los datos experimentales a los datos ajustados al método de regresión lineal
Cmax = Concentración máxima
Tmáx = Tiempo para alcanzar la concentración máxima
Ka = Constante de absorción
T1/2ab = Tiempo de vida media de absorción
Ke = Constante de eliminación
T1/2el = Tiempo de vida media de eliminación
ABC = Area bajo la curva de la concentración plasmática contra tiempo

Tabla XI. Parámetros farmacocinéticos de estradiol después de ser aplicado el inyectable con tamaño de microesferas de 55 - 74 µ.

				Estradiol					
Sujeto	Modelo	Cmax (pg/ml	Tmax (d)	r	Ka (d^{-1})	T1/2ab (dias)	Ke (d^{-1})	T1/2el (dias)	ABC(pg/ml /dia)
01	MAUC	450.87	3	0.98	0.89	0.77	0.43	1.58	1892.00
02	MAUC	841.91	1	0.99	4.13	0.16	0.58	1.18	2068.86
03	MAUC	464.10	1	0.95	2.00	0.34	0.20	3.32	2740.61
04	MAUC	420.18	1	0.98	2.84	0.24	0.20	3.33	2423.56
05	MAUC	444.88	1	0.97	3.45	0.20	0.13	5.11	2874.00
06	MAUC	268.61	7	0.84	2.19	0.31	0.92	7.46	2298.59
07	MAUC	360.34	1	0.77	3.49	0.19	0.07	8.84	3021.19
08	MAUC	471.56	1	0.98	1.53	0.45	0.40	1.70	1746.37
09	MAUC	959.34	1	0.97	9.81	0.07	0.24	2.88	4041.07
10	MAUC	463.38	1	0.96	15.10	0.04	0.04	14.43	4058.40
11	MAUC	593.43	1	0.88	0.66	1.04	0.39	1.74	2809.96
12	MAUC	964.94	2	0.99	0.72	0.96	0.43	1.59	4294.61
13	MADC	627.02	1	0.96	1.82	0.37	0.07	9.54	2207.15
14	MAUC	648.36	1	0.88	9.34	0.07	0.16	4.12	3491.28
15	MAUC	442.05	1	0.92	2.53	0.27	0.16	4.20	1794.63
x		561.39	1.38	0.93	4.03	0.36	0.29	4.73	2784.15
d.e.		211.46	1.83	0.06	4.13	0.31	0.23	3.78	849.97

Tabla XII. Parámetros farmacocinéticos de la progesterona después de ser aplicado el inyectable con tamaño de miroesferas de 75 - 105 µ.

		Progesterona							
Sujeto	Modelo	Cmax (ng/ml	Tmax (d)	r	Ka (d^{-1})	T1/2ab (dias)	Ke (d^{-1})	T1/2el (dias)	ABC(ng/ml /dia)
16	MAUC	49.66	2	0.90	1.54	0.44	0.17	3.89	254.32
17	MADC	9.83	1	0.90	2.26	0.30	0.02	23.84	158.80
18	MADC	15.46	7	0.77	0.23	2.99	0.17	3.90	115.23
19	MADC	19.71	1	0.97	1.78	0.38	0.02	28.57	157.27
20	MADC	9.52	1	0.98	4.43	0.15	0.01	51.34	118.95
21	MADC	10.80	1	0.89	5.27	0.13	0.09	7.44	84.89
22	MADC	10.59	1	0.97	7.64	0.09	0.01	35.66	94.98
23	MADC	12.71	1	0.96	1.75	0.39	0.09	7.06	82.20
24	MADC	21.08	13	0.90	2.16	0.31	0.08	8.25	197.58
25	MADC	15.48	1	0.97	1.14	0.60	0.03	22.15	204.33
26	MADC	8.97	1	0.92	2.92	0.23	0.01	59.45	97.88
27	MAUC	32.98	3	0.83	0.99	0.69	0.14	4.62	249.31
28	MADC	8.31	13	0.88	0.52	1.32	0.04	14.73	138.65
29	MADC	10.61	1	0.95	4.11	0.16	0.02	23.38	154.64
30	MADC	10.97	1	0.89	1.20	0.53	0.04	14.16	122.61
x		16.07	2.4	0.91	2.52	0.58	0.06	20.56	148.77
d.e.		11.16	3.3	0.05	2.02	0.73	0.05	17.24	55.88

Tabla XIII. Valores farmacocinéticos de estradiol después de ser aplicado el inyectable con tamaño de microesferas de 75 - 105 µ.

				Estradiol					
Sujeto	Modelo	Cmax (pg/ml	Tmax (d)	r	Ka (d^{-1})	T1/2ab (dias)	Ke (d^{-1})	T1/2el (dias)	ABC(pg/ml /dia)
16	MAUC	2859.1	2	0.91	0.68	1.01	0.69	1.00	7619.70
17	MAUC	406.76	1	0.88	9.27	0.07	0.06	9.92	2549.77
18	MADC	504.76	5	0.78	0.57	1.20	0.17	3.85	4039.96
19	MADC	1007.3	1	0.98	3.71	0.18	0.16	4.19	4577.97
20	MADC	315.35	1	0.96	2.77	0.24	0.08	8.01	2472.70
21	MAUC	717.57	2	0.98	2.26	0.30	0.21	3.15	3570.05
22	MAUC	394.88	1	0.89	9.73	0.07	0.17	3.95	1727.12
23	MAUC	501.55	1	0.93	4.93	0.14	0.20	3.41	2289.81
24	MAUC	868.17	1	0.98	0.96	0.72	0.26	2.62	4038.24
25	MAUC	913.23	2	0.99	1.26	0.54	0.25	2.72	4943.33
26	MAUC	422.25	2	0.92	0.50	1.37	0.26	2.60	2530.53
27	MAUC	520.47	2	0.87	2.37	0.29	0.10	6.73	4443.62
28	MAUC	321.20	8	0.88	0.42	1.64	0.09	7.48	4383.46
29	MAUC	345.68	1	0.91	1.39	0.49	0.09	7.01	3441.33
30	MAUC	595.93	1	0.94	2.29	0.30	0.13	5.18	4607.13
x		712.93	2.06	0.92	2.87	0.57	0.19	4.78	3815.64
d.e.		633.67	1.94	0.05	2.97	0.50	0.15	2.49	1456.87

En las tablas XIV y XV se observan los valores de farmacodinamia obtenidos para los dos diferentes rangos de tamaño de microesferas.

Tabla XIV. Maduración folicular y detección de la ovulación en el primer grupo de voluntarias días después de ser aplicado el inyectable de 250 mg de progesterona y 5 mg de estradiol en forma de microesferas monolíticas con tamaño de 55 - 74 µ.

Sujeto	Maduración folicular (Estradiol mayor a 150 pg/ml)	Detección de la ovulación (progesterona mayor a 5 ng/ml)
	Días	Días
1	33	24
2	39	32
3	37	mayor a 44*
4	25	35
5	mayor a 44*	mayor a 44*
6	mayor a 42*	mayor a 42*
7	33	40
8	33	35
9	mayor a 43*	mayor a 43*
10	35	mayor a 39*
11	28	43
12	37	44
13	mayor a 56*	mayor a 56*
14	37	mayor a 47*
15	24	mayor a 42*
X	36.4	40.6
d.e.	8.0	7.2

* Valores no considerados en el promedio, por no tener el registo del valor superior al requerido para ser considerada la maduración folicular y/o la ovulación.

Tabla XV. Maduración folicular y detección de la ovulación en el segundo grupo de voluntarias después de ser aplicado el inyectable de progesterona y 17-beta estradiol en forma de microesferas monolíticas de tamaño de 75 - 105 µ.

Sujeto	Maduración folicular (Estradiol mayor a 150 pg/ml) Días	Detección de la ovulación (Progesterona mayor a 5 ng/ml) Días
16	18	mayor a 44*
17	30	mayor a 43*
18	49	60
19	36	45
20	mayor a 59*	mayor a 59*
21	41	mayor a 59*
22	35	37
23	31	49
24	30	35
25	30	mayor a 60*
26	mayor a 59*	mayor a 59*
27	43	51
28	mayor a 58*	mayor a 58*
29	42	46
30	46	60
X	40	51
d.e.	12.1	8.9

* Valores no considerados en el promedio, por no tener el valor superior al requerido para ser considerada la maduración folicular y/o la ovulación.

ANALISIS DE RESULTADOS

Validación del radioinmunoanálisis.

Los coeficientes de variación intra e interanálisis resultaron estar dentro del intervalo aceptado para este tipo de análisis (menor al 15 ó 20%) (Garza, 1996).

Las cartas de control de calidad (Apéndice D) permiten también validar los resultados obtenidos, al observar que las muestras de control de calidad se ubican dentro del rango del límite superior e inferior (tres desviaciones estándar) alrededor de la media (González, 1991).

Farmacocinética y farmacodinamia del inyectable.

La progesterona y el estradiol administrado intramuscularmente fueron rápidamente absorbidos, con excepción en la absorción de la progesterona en las voluntarias 1, 7 y 18 (figuras 3, 9 y 20). En promedio los tiempos de vida media de absorción tuvieron valores de 0.36 a 0.91 días (tablas X a XIII).

Ambos esteroides presentaron una cinética de liberación de primer orden. Sin embargo, en algunos sujetos (figuras 13, 17 y 30), el comportamiento de alguno de los esteroides fue similar a la cinética de liberación de orden cero, por la

entrada discontinua del esteroide a la circulación sanguínea con niveles de absorción y eliminación semejantes. Esta característica, junto con un tiempo prolongado para alcanzar la concentración máxima, produjo que algunos sujetos tuvieran un bajo coeficiente de correlación de los valores experimentales a los valores ajustados.

Las concentraciones séricas de progesterona declinaron mono y biexponencialmente, ajustándose los valores experimentales de 9 sujetos del primer grupo (tabla X) y 2 sujetos del segundo grupo de voluntarias (tabla XII) al modelo abierto de un compartimiento. Los sujetos restantes se ajustaron al modelo abierto de dos compartimientos.

Para el estradiol se eligió el modelo abierto de un compartimiento, excepto para los sujetos 13 (tabla XI), 18, 19 y 20 (tabla XIII) que se ajustaron al modelo abierto de dos compartimientos.

En cuanto a los esteroides sintéticos se comportan de forma similar en su ajuste a modelos abiertos de uno y dos compartimiento (Back, 1979; Fotherby, 1981; Goldzieher, 1980).

La presencia de dobles picos, referida a la concentración máxima seguida de un incremento secundario de menor intensidad, indica una aparente recirculación enterohepática de la progesterona en varias de las voluntarias que se les administró el inyectable, ilustrado en los sujetos 12, 13, 14, 15, 17, 19 20, 23, 24 y 27 (figuras 14, 15, 16, 17, 19, 21, 22, 25, 26 y 29 respectivamente). El etinilestradiol, un anticonceptivo sintético, ha mostrado también presentar recirculación enterohepática (Back, 1979) y el único reporte que lo evidencia en la progesterona es un

estudio realizado en cerdos en su aplicación de forma intravenosa (Symonds, 1994). De acuerdo con estudios de simulación realizados por Colburn y colaboradores (1982), la recirculación enterohepática prolonga la vida media de eliminación alterando a su vez la forma de la curva.

En términos generales, las concentraciones de la progesterona y el estradiol séricas en cada grupo de individuos que recibió el inyectable con diferentes tamaños de microesferas (figura 33-36) muestran una gran variabilidad, como es indicado por los amplios límites de confianza (tablas VIII y IX), integrada por las variaciones en la entrada de la progesterona y el estradiol a la circulación sanguínea a partir del lugar del depósito y por su metabolismo.

En las tablas X a XIII se presentan los parámetros farmacocinéticos de la progesterona y el estradiol de las mujeres participantes en la administración del inyectable con los dos tamaños de microesferas, en las cuales se puede notar la gran variabilidad interindividual en los parámetros determinados. Por ejemplo, la constante de absorción del estradiol tiene amplitud de 0.66 a 15.10 días^{-1} y de 0.57 a 9.73 días^{-1} para el primer y segundo grupo, respectivamente. Un factor que indica la variabilidad en el procentaje de metabolismo es el tiempo de vida media de eliminación, la progesterona varía de 2.90 a 38.68 días en el primer grupo y de 3.89 a 51.34 días en el segundo grupo de voluntarias. Las amplias variaciones interindividuales en los parámetros farmacocinéticos indican variaciones de la actividad biológica de los esteroides (Fotherby, 1983). Se ha encontrado en diversas formulaciones de anticonceptivos

esteroides, variabilidad en varios parámetros farmacocinéticos que pueden ser afectados por las características biológicas (el peso, la edad y la estatura), los factores fisiológicos y géneticos de los sujetos, la dieta, las interacciones con los antibióticos y por las diferencias poblacionales (Fotherby, 1994; Garza, 1994; Guo-wei, 1994).

Los dos grupos de voluntarias se conformaron por sujetos con características biológicas estadísticamente similares al nivel de confianza del 5%. Esto se confirmó al aplicar la prueba estadística t de student (apéndice F) de acuerdo con la tabla XVI.

Tabla XVI. Prueba t de student de la comparación de las variables biológicas de los dos grupos de voluntarias.

Parámetro biológico	Muestra a comparar	t_{calc}	$t_{0.95}$	Diferencia
Edad	I - II	1.26	2.04	N.S.
Peso	I - II	1.26	2.04	N.S.
Estatura	I - II	1.64	2.04	N.S.

N.S. = No significativa

En general, al comparar los datos de concentración máxima, tiempo para alcanzarla y tiempo de vida media de absorción para ambos esteroides, al igual que el área bajo la curva del estradiol, se encontraron diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% al aplicar la prueba estadística no paramétrica *U* de Mann-Whitney, elegida por las amplias diferencias y amplitudes en las varianzas de los parámetros farmacocinéticos. La comparación se presenta en las tablas XVII y XVIII. Los valores de los parámetros de tiempo de vida media de eliminación de la progresterona y el estradiol y el área bajo la curva de la primera no muestran diferencias estadísticas.

El procedimiento empleado para aplicar la prueba *U* de Mann-Whitney se encuentra en el apéndice F.

Tabla XVII. Prueba *U* de Mann-Whitney para contrastar diferencias de los parámetros farmacocinéticos de progesterona entre los dos diferentes tamaños de microesferas del inyectable.

	Cmax	Tmax	T1/2ab	T1/2el	ABC
U_{obs}	2.5	2	11.5	97.5	78
$U_{critica}$	64	64	64	64	64
P	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Decision	S.	S.	S.	N.S.	N.S.

N.S. = No significativa

S. = Significativa

Tabla XVIII. Prueba *U* de Mann-Whitney para contrastar diferencias de los parámetros farmacocinéticos de estradiol entre los dos diferentes tamaños de microesferas del inyectable.

	Cmax	Tmax	T1/2ab	T1/2elim	ABC
U_{obs}	10	14.5	11.5	100	38
$U_{critico}$	64	64	64	64	64
P	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Decisión	S.	S.	S.	N.S.	S.

El tamaño de partícula juega un papel importante en la absorción de los fármacos (Welling, 1986). En los anticonceptivos orales, la reducción de la partícula ha sido usada para incrementar el procentaje de absorción, con menor tamaño se incrementa la concentración máxima y el área bajo la curva, disminuyendo el tiempo para alcanzar la concentración máxima (Saperstein, 1989).

De acuerdo con los resultados y los análisis estadísticos obtenidos, el tamaño de las microesferas de 75 - 105 micrómetros de la progesterona y el estradiol administradas intramuscularmente, producen una mayor concentración máxima y tiempo para alcanzarla, muy probablemente a que el mayor tamaño de microesferas tardan más en degradarse y poder ser absorbidas que el menor tamaño de microesferas. El tiempo de vida media de absorción disminuye con el mayor tamaño de microesferas. El área bajo la curva del estradiol presenta diferencias significativas entre los dos grupos, incrementándose con el mayor tamaño de

microesferas, la progesterona no mostró diferencias significativas en éste parámetro. El único párametro no afectado por el tamaño de las microesferas de progesterona y estradiol es el tiempo de vida media de eliminación.

En cuanto a la farmacodinamia, la detección de la ovulación en el ciclo pretratamiento fue de 80 y 86.6 % en el primer y segundo grupo, respectivamente; considerando el resto como ciclos anovulatorios comunes dentro de los ciclos menstruales de las mujeres.

Los parámetros farmacodinámicos tuvieron gran variación interindividual, con valores promedio en la maduración folicular de 36.4 y 40 días, en el primer y segundo grupo, respectivamente. La detección de la ovulación tuvo promedio de 40.6 días en el primer grupo y de 51.0 días en el segundo grupo de voluntarias (tablas XIV y XV). Estos promedios no consideraron a todos los sujetos debido a la falta del registro de los valores requeridos para poder ser promediados, aunque la tendencia de los gráficos muestra que se supera los treinta días para considerar que hubo la maduración folicular y el retorno a la ovulación.

Los niveles superiores a 5 ng de progesterona son indicativos de la ovulación ocurrida durante el quinto día anterior a su detección (Descomps, 1980).

En el primer grupo de voluntarias, el sujeto 1 presentó niveles de progesterona similares a la fase lútea media en el día 24. En los sujetos 2, 4, 8 y 24, los niveles de 5 ng/ml ocurrieron en el día 32 y 35, presentándose la ovulación muy cercanamente al día 30. Las voluntarias restantes tuvieron periodos más prolongados en la detección de la ovulación y en varias no fue detectada por falta de muestras.

Los parámetros farmacodinámicos fueron comparados através de la prueba *U* de Mann-Whitney y presentados en la tabla XIX.

Tabla XIX. Prueba *U* de Mann-Whitney para contrastar diferencias de los parámetros farmacodinámicos entre los dos grupos de voluntarias.

	Maduración folicular	**Detección de la ovulación.**
Uobs	51.5	0.047
Ucritica	33.0	0.05
P	0.05	0.05
Decisión	N.S.	S.

De acuerdo con la prueba empleada, no hubo diferencias significativas en los períodos en que se presenta la maduración folicular después de aplicar el inyectable con los dos diferentes tamaños de microesferas. Sin embargo, la detección de la ovulación presenta diferencias significativas entre los dos grupos de voluntarias. La detección de la ovulación se registra, en promedio, en el día 40.6 cuando fue aplicado el inyectable de tamaño de microesferas de 55 - 74 micrómetros (tabla XIV) y en el día 51 con el inyectable de tamaño de microesferas de 75 - 105 micrómetros (tabla XV). Esta diferencia pudo deberse como una respuesta a una mayor lentitud en la degradación de las microesferas de mayor tamaño, antes de ser absorbidas, y presentar una mayor concentración máxima.

CONCLUSIONES

1. Los valores hormonales después de la aplicación del inyectable anticonceptivo, se ajustaron para la progesterona 60 y 13.33% al modelo abierto de un compartimiento y 40 y 86.66% al modelo abierto de dos compartimientos, en el primer y segundo grupo de voluntarias, respectivamente. El estradiol se ajusto 93.33 y 80% al modelo abierto de un compartimiento 6.66 y 20% al modelo abierto de dos compartimientos, en el primer y segundo grupo de voluntarias, respectivamente.

2. Los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos presentan gran variabilidad interindividual.

3. El tamaño de las microesferas del inyectable representan un factor determinante en varios de los parámetros determinados. Diferencias estadísticas se presentaron en la comparación de los parámetros farmacocinéticos entre los dos grupos de voluntarias a las que se les aplicó el inyectable con diferentes tamaños de microesferas.

4. El mayor tamaño de las microesferas, tanto de progesterona como de estradiol, de 75 a 105 micrómetros, incrementó la concentración máxima, el tiempo para alcanzarla y disminuyó el tiempo de vida media de absorción. Asimismo, aumento la biodisponibilidad del estradiol con el mayor tamaño de microesferas al presentar una mayor área bajo la curva que el obtenido con el menor tamaño de microesferas (55 - 74 micrómetros). Los valores correspondientes al tiempo de

vida media de eliminación en ambos esteroides no fue afectado por el tamaño de las microesferas.

5. La detección a la ovulación se presentó en un tiempo superior a los treinta días, excepto en un sujeto del primer grupo de voluntarias.

6. La detección de la ovulación se registra a un tiempo más prolongado con el mayor tamaño de microesferas que con el menor tamaño de microesferas.

7. La maduración folicular no presenta diferencias estadísticamente significativas en respuesta al tamaño de las microesferas.

8. Se propone el análisis de dosis múltiples del anticonceptivo inyectable mensual como continuidad en su evaluación y alguna modificación en su preparación que hiciera posible el incremento en los períodos del retorno a la ovulación

Apéndice A

Carta de consentimiento de las voluntarias participantes durante el estudio.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN LA INVESTIGACION

PROGESTERONA Y 17 BETA ESTRADIOL COMO ANTICONCEPTIVO INYECTABLE MENSUAL UNA NUEVA ALTERNATIVA EN LA REGULACION DE LA FERTILIDAD A BASE DE HORMONAS NATURALES

México, D.F. Fecha:_____

A quien corresponda:

Yo, la abajo suscrita_____ de _____ años de edad, en forma libre y voluntaria acepto participar en el estudio **"Progesterona y 17 beta estradiol como anticonceptivo inyectable mensual: Una nueva alternativa en la regulación de la fertilidad base de hormonas naturales"** que se llevará a cabo en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán y cuyos objetivos consisten en evaluar una nueva preparación inyectable observando su concentración en la sangre, el patrón de sangrado menstrual así como las posibles reacciones adversas locales y sistémicas después de la inyección.

Se me ha informado de los motivos, duración y forma en que se llevará a cabo el estudio, así como los efectos secundarios que puedan surgir, dándome la oportunidad para hacer preguntas sobre el mismo y estando satisfecha de la información y respuestas recibidas.

Estoy enterada de que puedo retirarme del estudio en el momento en que yo lo decida, sin que esto repercuta en mi atención subsecuente como paciente de este Instituto arriba mencionado.

Firma de la paciente _____

Firma del testigo _____

Firma del investigador_____

INNSZ

Apéndice B

Carta de aprobación del estudio por el Comité de Etica del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán.

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION • SALVADOR ZUBIRAN

7 de Marzo de 1994.

Dr. Josué Garza
Investigador Titular
Departamento de Biología de la Reproducción.

Estimado Dr. Garza:

En relación a la solicitud de extensión del proyecto "Progesterona 17-B estradiol como un anticonceptivo inyectable mensual: una nueva alternativa en la regulación de la fertilidad a base de hormonas naturales", no existe inconveniente para autorizar dicha extensión siempre y cuando se respeten los lineamientos bajo los cuales se aprobó en enero de 1993.

Le agradeceré que al final de la investigación nos envie un informe.

Atentamente:

Dr. Mario H. Cardiel Ríos
Coordinador del Comité de Investigación en Humanos.

cpp. Dr. Rubén Lisker. Subdirector General de Investigación.
cpp. Martha Arredondo. Unidad CADI.

Vasco de Quiroga 15,
Delegación Tlalpan
C.P. 14000 México D.F.
Tel. 573 12-00

Apéndice C

Explicación del método empleado en la obtencion de la variación intra e inter-análisis, de acuerdo a Bedolla (1984):

La variación intra-análisis requiere del cálculo de la media, desviación estándar y varianza. La media es elevada al cuadrado y se aplica la siguiente fórmula:

$$\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{r}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum X^2}{r - 1}}$$

$$S_{GENERAL} = \frac{(\sum x2)\,total}{M\ (r - 1)}$$

$$X_{general} = \frac{(\sum \bar{X})\,total}{m\ .\ r}$$

$$CV_{general} = \frac{S_{general}}{CV_{general}}$$

m = número de análisis

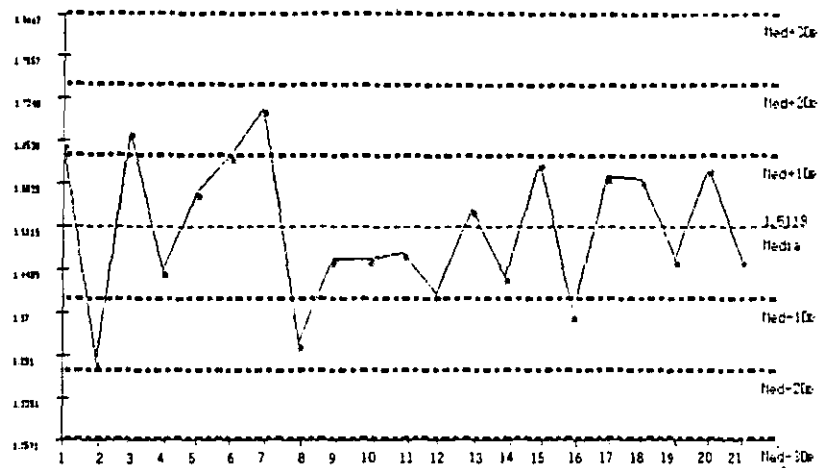
r = número de réplicas

En la variación interanálisis se utiliza la varianza promedio, que indica el error promedio acumulado a través de varios análisis . Se utiliza el cuadrado de la media actual, igual a la diferencia de las dos últimas sumas acumuladas de cuadrados. A través de éste cálculo se obtiene el valor de F, el cual es comparado con su valor tabulado al 95% de confianza de 1 y n-1. El valor calculado de F deberá ser menor al tabulado para aceptar el ensayo realizado.

Apéndice D

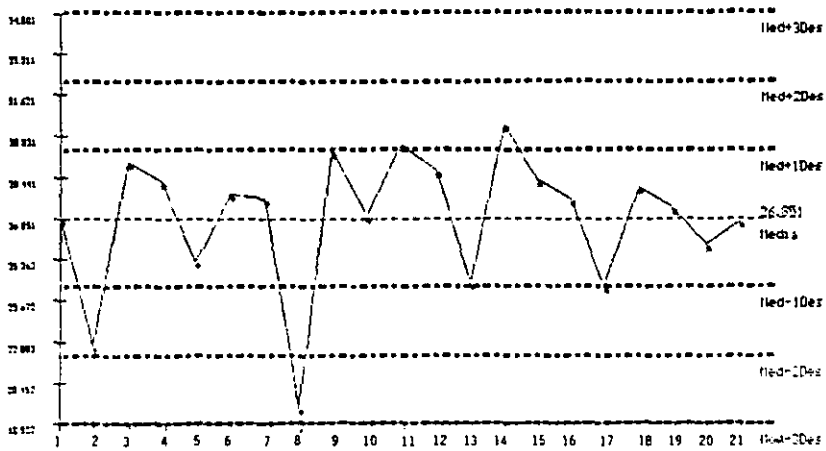
Cartas de control de calidad durante los ensayos de radioinmunoanálisis de la progesterona y el estradiol.

Progesterona Control de Calidad Bajo

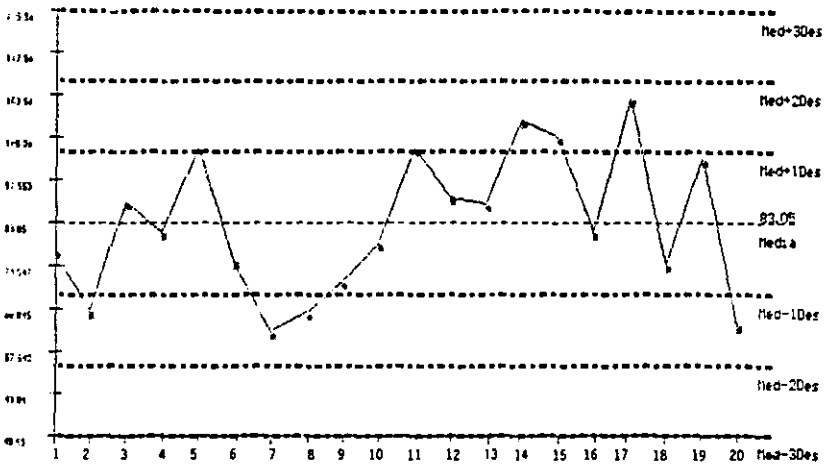


Progesterona Control de Calidad Medio

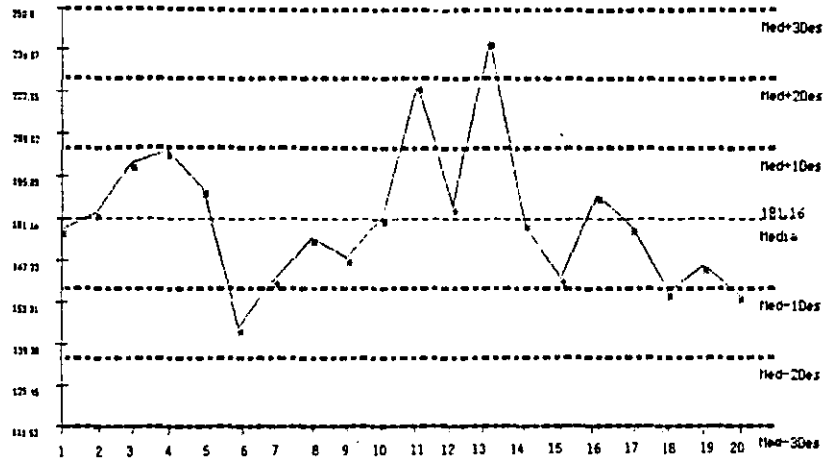
Progesterona Control de Calidad Alto



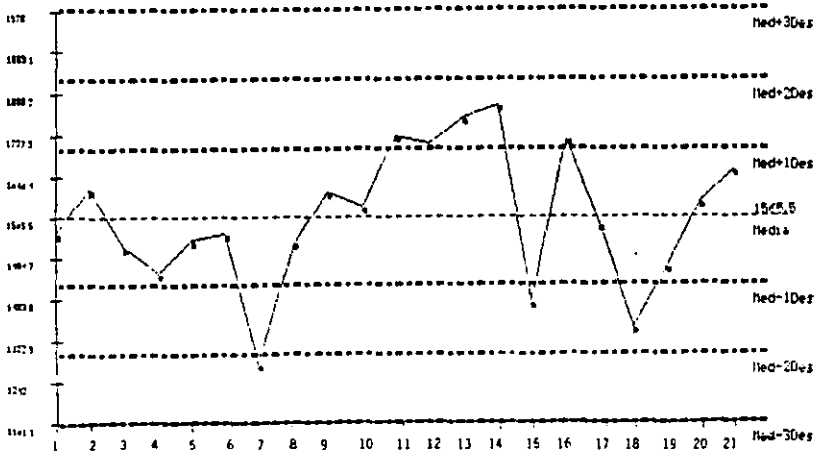
Estradiol Control de Calidad Bajo



Estradiol Control de Calidad Medio



Estradiol Control de Calidad Alto



Apéndice E

Tablas de concentraciones séricas de P4 y E2 después de ser administrado el inyectable en todos los sujetos que fueron integrados al estudio.

Tabla XX. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 1 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.50	50.00
3	14.80	450.87
4	14.00	290.42
5	13.00	247.84
6	24.58	176.39
7	22.49	58.92
10	12.10	37.72
11	7.53	14.65
12	5.52	35.05
13	3.84	44.48
14	2.80	18.99
24	7.01	112.20
26	11.60	96.31
33	10.97	106.06
38	1.00	151.29
42	0.80	129.57
45	0.54	107.59
47	0.60	162.39
49	1.40	234.78
52	6.52	253.52
54	13.60	150.40
59	15.76	192.07

Tabla XXI. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 2 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrometros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.50	50.00
1	20.92	841.91
2	12.94	421.29
4	11.66	186.00
7	6.85	45.41
8	7.55	35.68
9	5.35	12.89
10	7.23	18.09
16	8.29	14.60
21	5.31	23.85
23	2.44	40.36
30	2.05	74.90
32	5.16	69.21
35	18.14	106.70
37	15.05	72.76
39	20.41	162.38
43	30.51	191.57
44	29.51	200.64
49	34.65	270.00
53	34.06	268.32

Tabla XXII. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 3 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.99	19.76
1	18.30	464.10
2	12.52	458.12
4	8.72	199.82
7	6.83	254.67
9	5.99	158.53
11	6.24	41.31
14	5.36	15.26
16	4.00	19.69
18	4.18	10.22
21	3.20	13.87
23	1.53	22.08
25	2.44	24.31
28	1.70	59.72
30	2.50	110.17
37	3.26	380.80
44	0.98	269.67

Tabla XXIII. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 4 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.50	33.57
1	6.90	420.18
2	6.50	405.99
3	5.18	305.40
4	4.33	193.94
5	5.15	181.91
7	4.77	114.71
8	4.46	117.00
10	3.43	92.23
12	3.60	61.76
13	3.54	64.73
16	1.96	35.67
18	1.53	30.02
21	1.50	43.42
25	1.49	156.26
30	2.27	78.18
35	10.33	143.62
37	11.55	162.36
39	7.71	136.67
42	1.25	44.56
44	1.40	36.07
46	1.08	184.92
49	1.46	50.98
53	1.07	162.69
56	1.70	142.37

Tabla XXIV. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 5 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.50	50.00
1	12.11	444.88
2	7.89	356.72
3	8.16	411.29
4	5.25	286.10
8	4.70	186.00
9	4.49	175.49
10	4.12	140.38
11	3.25	102.00
12	3.66	75.91
13	3.95	66.00
14	3.38	67.75
16	3.16	37.09
18	4.10	64.82
21	3.92	41.18
23	4.71	64.37
25	3.72	54.50
28	3.73	56.38
30	2.96	57.48
32	2.62	57.74
35	1.10	53.50
37	1.12	54.00
39	0.66	65.70
42	0.58	83.14
44	0.33	71.45

Tabla XXV. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 6 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.50	50.00
1	13.96	256.60
2	12.10	482.00
3	9.39	227.00
4	9.14	187.45
5	8.66	179.40
6	6.35	203.40
7	7.92	68.60
8	7.86	140.33
9	8.00	167.87
10	7.53	115.88
11	6.63	98.59
12	7.06	86.46
13	5.33	59.65
14	5.85	50.20
16	6.24	34.85
18	5.87	31.47
25	5.68	53.00
29	5.39	53.67
32	5.42	33.31
35	5.00	47.66
37	3.90	48.00
42	3.74	51.27

Tabla XXVI Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 7 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 7 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.90	48.00
1	8.74	360.34
2	5.87	220.96
3	6.25	383.35
4	6.94	186.78
5	8.84	248.83
7	9.30	213.30
8	10.89	293.06
9	10.85	186.75
10	12.77	206.17
11	13.77	137.64
12	16.46	231.77
13	11.52	29.91
15	7.42	52.28
16	6.84	10.86
17	5.15	18.67
18	4.00	18.544
22	2.31	17.00
25	1.31	38.09
27	1.52	45.85
29	0.91	80.53
33	0.52	127.41
36	1.49	73.57
40	8.37	176.39
43	7.80	1026.30

Tabla XXVII. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 8 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.50	79.66
1	19.36	471.50
5	5.56	135.00
7	4.46	71.81
8	2.20	29.84
9	2.45	43.86
10	2.00	50.23
13	1.98	53.14
14	2.97	55.41
16	1.88	61.18
17	1.32	62.14
19	1.01	58.00
21	0.62	51.28
23	0.44	63.66
26	0.55	77.00
28	0.56	91.00
33	2.22	168.89
35	5.29	102.69
37	11.36	103.55
40	14.15	129.81

Tabla XXVIII Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 9 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 7 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.24	60.50
1	15.43	959.34
2	10.97	605.65
3	11.24	534.02
4	9.15	427.22
5	7.04	343.34
8	5.54	278.83
9	5.21	165.85
10	4.21	62.49
11	4.71	25.81
12	3.92	26.91
13	3.92	24.02
14	3.46	28.38
17	2.95	47.56
19	3.37	63.26
21	3.59	40.92
27	3.14	51.30
29	2.15	62.31
32	2.37	65.87
36	2.41	62.69
43	1.63	268.25

Tabla XXIX. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 10 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.21	65.96
1	9.39	463.38
2	6.18	392.98
3	3.81	323.98
4	4.14	341.09
7	5.89	190.23
8	6.39	248.24
9	3.11	205.63
10	5.71	189.03
11	5.12	185.39
12	6.35	160.55
13	5.82	61.95
15	5.19	102.39
18	4.08	70.59
16	4.59	42.50
21	3.66	58.97
23	3.39	77.53
25	3.10	31.21
28	3.41	61.95
32	2.40	113.63
35	2.45	248.24
39	2.68	409.04

Tabla XXX Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 11 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.86	14.23
1	14.73	593.45
2	14.20	422.00
3	8.14	362.70
4	8.98	361.11
5	7.54	387.47
6	8.68	343.00
7	7.44	485.69
8	6.92	80.00
10	6.82	27.00
11	5.72	29.00
12	7.74	64.30
13	8.56	36.00
14	10.84	40.00
15	9.37	26.40
18	9.88	26.00
22	1.27	74.00
25	0.40	55.43
28	0.58	303.80
33	1.03	308.17
43	9.96	83.50

Tabla XXXI. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 12 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	1.44	40.43
1	16.49	806.70
2	11.80	964.94
3	12.25	741.36
4	10.51	561.83
5	11.84	503.53
6	10.78	322.34
7	10.06	233.56
8	10.12	123.50
9	8.75	33.27
10	6.40	18.83
11	6.15	13.76
12	9.92	26.84
13	10.18	20.46
14	7.70	15.91
16	4.95	33.37
18	4.47	15.23
21	2.46	32.51
23	1.19	46.70
25	0.98	22.79
28	0.72	23.40
32	1.25	43.23
37	1.07	131.76
44	10.98	152.61
51	10.57	64.59

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla XXXII Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 13 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.62	16.79
1	16.27	627.02
2	14.77	561.40
3	14.44	346.56
4	4.07	50.08
6	9.36	92.51
7	11.71	153.87
10	7.34	62.57
11	6.57	34.02
12	6.02	36.71
13	7.22	69.41
15	6.79	60.98
17	5.99	38.66
22	6.95	74.83
24	6.22	46.71
27	8.55	84.06
29	5.81	86.26
32	2.08	139.89
41	4.42	127.97
49	0.73	59.97
56	0.73	103.59

Tabla XXXIII. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 14 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	1.79	53.53
1	12.48	648.56
3	5.12	258.48
4	6.17	235.94
5	6.09	271.92
6	7.55	321.00
7	8.54	300.80
8	8.65	294.78
10	8.98	158.40
11	7.41	87.98
12	8.89	95.83
13	7.28	57.74
5	5.32	24.40
19	4.90	39.37
21	3.29	59.09
23	3.38	50.79
26	2.89	58.93
28	2.42	45.58
33	1.51	134.01
37	1.51	280.84
41	4.96	101.53
47	2.94	49.29

Tabla XXXIV Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 15 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 55-74 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	1.45	64.03
1	7.76	442.05
2	7.17	408.89
3	4.86	148.84
4	5.33	161.51
5	6.61	222.26
6	5.70	88.13
7	5.47	96.08
8	5.37	88.14
9	5.53	89.97
10	3.94	33.49
11	4.73	47.37
12	3.15	43.00
13	3.09	44.94
17	2.84	44.94
19	2.52	65.41
21	2.58	89.46
24	3.13	256.50
26	3.41	420.26
28	2.85	685.03
31	3.16	724.54
36	0.41	210.02
42	1.64	427.80

Tabla XXXV. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 16 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.50	50.00
1	22.74	1406.09
2	49.66	2859.13
3	34.46	1380.76
4	19.06	876.70
5	16.30	357.53
6	13.82	344.93
7	10.84	266.87
8	8.55	83.89
9	5.99	37.60
10	5.99	52.60
11	6.85	50.86
12	4.51	29.44
13	4.81	37.33
14	5.62	131.64
16	5.57	78.82
18	1.45	287.52
21	2.36	40.05
23	4.00	46.87
25	3.54	54.11
30	0.55	44.04
37	0.56	68.87
40	3.38	101.60

Tabla XXXVI Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 17 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.47	33.70
1	9.83	406.76
2	7.82	296.15
3	5.59	248.97
4	4.60	218.06
5	6.76	331.97
6	6.85	286.13
7	4.23	224.64
8	5.52	218.54
9	5.12	227.94
10	3.52	147.51
11	4.16	132.90
12	3.52	100.94
14	2.98	78.13
16	4.89	88.71
18	4.50	57.41
21	3.77	37.18
23	2.83	33.84
28	3.00	66.78
30	2.14	213.60
32	3.14	474.50
37	2.13	538.00
43	1.84	181.50

Tabla XXXVII. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 18 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	1.15	50.38
1	6.84	477.15
2	8.32	358.87
3	5.89	308.11
4	5.25	306.26
5	10.77	504.86
6	11.12	477.82
7	15.46	474.38
8	12.59	395.67
9	9.39	294.32
10	8.14	156.22
11	6.19	100.83
12	5.51	83.25
13	2.91	35.39
15	1.52	23.94
18	0.68	43.94
20	0.76	45.73
22	0.79	38.28
25	1.10	54.12
29	1.23	45.21
32	1.03	32.23
54	1.05	209.96
60	15.64	197.75

Tabla XXXVIII Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 19 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.74	4.73
1	19.71	1000.37
2	15.84	628.54
3	17.44	591.64
4	9.52	481.61
5	7.84	282.83
6	5.48	234.40
7	7.04	215.25
8	7.74	254.72
9	5.96	238.44
10	5.10	182.26
11	3.63	121.67
12	3.83	82.15
13	3.68	72.30
15	2.84	53.45
17	3.46	39.38
20	3.52	37.51
22	4.06	45.42
24	2.81	48.91
27	2.51	22.61
36	7.44	173.90
41	1.39	266.40
45	9.17	204.78
50	0.92	32.75
55	0.49	42.06
59	0.32	110.05

Tabla IXL. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 20 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.46	7.49
1	9.52	315.35
2	7.87	258.82
3	6.80	273.40
4	5.54	175.84
5	4.01	141.89
6	5.08	211.10
7	4.66	145.83
8	3.79	156.04
9	3.64	121.96
10	3.22	106.05
11	2.67	85.70
12	2.49	97.62
13	2.84	101.30
17	2.49	63.05
19	3.10	61.97
21	2.67	51.55
24	2.12	52.37
26	2.93	46.08
28	2.15	60.98
34	2.14	47.08
37	1.77	31.27
42	1.41	38.72
47	1.24	37.44
48	1.00	50.15
56	1.12	23.09

Tabla XL. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 21 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	3.38	64.82
1	10.80	717.57
2	6.73	536.56
3	7.51	509.18
4	7.92	3283.80
5	4.29	287.09
6	5.48	228.29
7	4.54	218.92
8	4.88	213.12
9	3.70	155.04
10	2.97	94.30
11	2.26	82.79
12	5.36	73.49
13	1.97	69.58
15	2.90	97.57
20	2.76	117.99
22	3.09	109.63
24	3.34	117.58
27	4.18	111.94
29	3.35	78.19
35	2.58	129.14
41	2.05	264.53
45	1.93	600.59
50	1.47	693.95
55	1.49	336.60
59	1.40	554.61

Tabla XLI. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 22 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.28	38.12
1	10.59	394.88
2	8.36	292.93
3	5.64	129.60
4	5.74	149.50
5	5.82	174.14
6	5.22	135.20
7	4.55	156.31
8	3.66	123.20
9	3.94	109.32
10	3.34	85.92
11	2.79	93.40
12	3.14	171.70
14	2.94	130.04
16	3.11	99.12
19	3.44	109.94
21	2.76	85.26
23	2.46	80.39
26	2.62	101.40
28	2.70	89.89
30	3.13	107.64
35	4.01	133.34
37	7.16	37.32
42	3.64	19.45
54	0.67	93.23

Tabla XLII Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 23 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.83	9.60
1	12.71	505.55
2	10.76	288.47
3	5.65	196.67
4	7.07	269.71
5	7.58	277.61
6	5.34	165.55
7	5.41	146.92
8	3.26	94.45
9	4.07	119.84
10	4.43	89.43
11	3.70	58.54
12	2.83	41.76
14	2.10	13.63
17	1.54	11.45
19	1.53	12.00
21	1.51	14.72
24	1.24	12.87
26	1.35	38.25
28	1.27	52.07
31	1.69	241.26
35	1.65	243.77
40	1.38	212.06
45	1.39	35.52
49	9.97	31.98
53	9.25	34.66
58	1.31	38.04

Tabla XLIII. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 24 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.47	29.56
1	15.54	868.17
2	13.34	635.82
3	13.91	706.28
4	9.63	437.92
5	8.52	378.22
6	6.00	286.46
7	5.89	188.32
8	6.00	156.67
9	6.24	160.76
10	6.64	111.67
11	11.00	111.97
12	13.00	86.41
13	14.50	73.89
14	14.30	57.74
16	6.73	34.29
18	1.43	51.75
21	0.61	54.16
23	0.44	67.45
25	0.63	97.89
30	0.52	315.22
39	11.92	153.95
44	13.93	213.29
49	1.99	77.83
53	0.38	62.74

Tabla XLIV Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 25 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.89	34.47
1	15.48	787.15
2	13.36	913.23
3	14.99	711.59
4	12.67	624.38
5	7.59	373.98
6	7.52	310.35
7	6.16	300.56
8	6.73	234.20
9	5.35	185.19
10	5.47	147.25
11	5.14	113.10
12	4.71	93.88
13	4.35	70.38
14	4.53	52.47
15	5.07	16.77
18	5.33	13.40
21	4.40	24.17
23	3.78	45.55
25	3.45	58.87
30	2.67	154.02
32	2.29	187.40
35	2.21	371.50
39	1.74	393.84
44	1.17	63.07
46	1.21	257.37
49	0.98	110.70
53	0.58	71.92
58	0.44	59.29

Tabla XLV. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 26 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	1.16	50.00
1	8.97	141.24
2	8.02	422.25
3	6.19	344.46
4	7.02	307.08
5	5.53	308.54
6	8.20	194.60
7	3.74	119.24
8	3.66	153.87
9	3.10	132.20
10	2.75	85.85
11	2.93	79.54
12	3.85	77.06
13	2.36	60.46
15	2.35	48.91
17	2.75	63.16
20	2.24	74.16
22	2.21	52.16
24	2.19	52.79
26	2.07	42.89
27	1.48	35.03
29	1.58	42.56
34	2.06	68.07
38	1.53	47.87
42	1.80	20.31
45	1.76	37.96
49	1.51	16.46
52	1.24	30.16
55	0.96	48.53
59	6.46	77.65

Tabla XLVI Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 27 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.78	28.60
1	12.54	420.69
2	15.74	520.47
3	32.98	393.38
4	8.32	336.15
5	7.58	274.22
6	6.09	727.08
7	6.25	142.93
8	7.70	177.99
9	8.80	311.18
10	10.24	345.85
11	8.60	265.85
12	10.37	234.45
13	5.83	179.65
14	6.34	149.49
16	4.70	79.84
18	6.15	60.98
21	5.33	28.91
23	5.06	38.85
25	5.30	34.52
28	3.61	47.10
32	3.65	55.15
36	2.59	57.41
38	1.90	65.89
43	2.32	162.95
46	4.92	76.71
51	13.47	108.18
53	6.65	62.97
57	2.10	49.61
60	0.78	29.42

Tabla XLVII. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 28 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	1.17	50.00
1	1.01	252.03
2	1.27	274.53
3	7.26	272.09
4	4.82	287.54
5	6.67	236.78
6	5.70	287.79
7	5.62	256.93
8	5.00	321.20
9	6.87	263.01
10	6.49	254.86
11	7.12	264.86
12	7.14	217.36
13	8.31	177.26
14	3.60	143.59
15	4.23	143.59
16	3.15	154.77
19	3.12	83.00
21	4.71	69.23
23	2.79	80.40
26	3.17	56.36
28	3.83	49.13
30	2.40	40.05
34	1.86	62.07
37	2.16	57.63
40	2.09	52.21
44	2.27	53.53
47	1.66	51.24
54	1.54	64.09
56	1.86	54.64
58	1.17	67.80
59	1.33	85.00

Tabla XLVIII Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 29 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Día	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.29	50.00
1	10.61	345.68
4	5.67	311.77
5	4.13	327.29
6	5.00	259.99
7	4.69	337.02
8	4.00	296.50
9	5.87	181.75
10	5.24	199.13
12	4.51	166.70
13	4.41	121.45
14	4.37	82.32
17	4.43	43.64
19	4.30	28.03
21	4.27	50.90
23	4.00	42.25
25	3.02	27.79
28	2.57	43.14
30	2.44	35.08
32	2.02	38.77
35	1.87	53.22
37	1.76	52.58
39	1.46	65.89
43	5.51	135.84
46	9.56	87.19
52	4.34	108.60
58	1.13	69.69
60	4.62	34.78

Tabla IL. Datos de concentración sérica de P4 y E2 del sujeto 30 después de la administración intramuscular de una dosis de 250 mg de P4 y 5 mg de E2 con tamaño de microesferas de 75-105 micrómetros

Dia	P4 (ng/ml)	E2 (pg/ml)
0	0.50	65.98
1	10.97	565.93
3	8.45	496.64
4	5.49	399.80
6	10.48	271.56
7	4.16	438.99
8	4.62	231.00
9	5.06	185.80
11	4.24	143.87
12	2.76	76.51
15	4.22	135.80
17	3.34	103.79
18	2.85	75.51
20	2.91	47.15
23	2.38	49.53
28	1.76	60.11
30	2.47	64.79
32	2.66	50.91
35	2.00	46.43
39	2.28	76.02
44	2.01	85.36
46	1.71	156.75
50	2.00	407.46
52	2.89	348.16
55	1.57	259.86
60	1.57	94.97

Apéndice F

Cálculos empleados en las pruebas estadísticas.

La media geométrica y límites de confianza (England, 1975) se calculan mediante las siguientes fórmulas:

$$X = \text{Antilog} \frac{\sum \log x}{n}$$

Desviación estándar:

$$\text{d.e. } (\log x) = \sqrt{\frac{\sum (\log X)^2 - (\sum \log X)^2}{n - 1}}$$

Límite superior e inferior con 95 % de confianza:

$$\text{Límite superior} = \text{antilog} \left[\bar{X} + (1.96 \times \text{d.e.}) \right]$$

$$\text{Límite inferior} = \text{antilog} \left[\bar{X} + (1.96 \times \text{d.e.}) \right]$$

La prueba t de student (Schfler, 1979) se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$t = \frac{X_1 - X_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

donde: X = Media muestral

S = Desviación estándar

n = Número de datos

$g.l. = n_1 + n_2 - 2$

g.l. = grados de libertad

La prueba no parámetrica *U* de Mann-Whitney se calcula mediante el siguiente procedimiento (Downie, 1986; Siegel, 1972):

1).Se determinan los valores de n_1 y n_2. n_1 es el número de casos en el grupo más pequeño.

2) Se ordenan juntos los puntajes de ambos grupos, asignando el rango de 1 al puntaje que sea algebraicamente más bajo. Los rangos van desde 1 hasta $N = n_1 + n_2$. Se asigna a las observacions ligadas el promedio de los rangos ligados.

3) Se determina el valor de *U* contando o por medio de las fórmulas a y b.

fórmula a:

$$U_1 = n_1 n_2 + \frac{n_1(n_1+1)}{2} - \sum Rx$$

fórmula b:

$$U_2 = n_1 n_2 + \frac{n_2(n_2+1)}{2} - \sum Ry$$

donde: n_1 = Número de valores del grupo más pequeño

n_2 = Número de valores del grupo más grande

$\sum Rx$ = Suma de los puntajes del grupo más pequeño

$\sum Ry$ = Suma de los puntajes del grupo más grande

APENDICE G

Fórmulas empleadas para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos.

La selección del modelo farmacocinético se llevó a cabo aplicando el criterio de Akaike (AIC) (Yamaoka, 1992), el cual utiliza las siguientes fórmulas:

$$AIC = N \ln Re - 2p$$

$$Re = (Cp\ obs - Cp\ calc)$$

Donde: Re = Residuales

Cp obs = Concentración sérica observada

Cp calc = Concentración sérica ajustada por regresión

N = Número de datos

p = Número de parámetros

El método del trapecio es empleado para la determinación del área bajo la curva (ABC) (Cid, 1982), por medio de la siguiente fórmula:

$$ABC = 1/2C_1C_2 + \frac{C_1+C_2}{2}(t_2-t_1) + \frac{C_2+C_3}{2}(t_3-t_2) \ldots n$$

donde C = Concentración

t = Tiempo

La constante de velocidad de absorción y de eliminación son obtenidos por el método de regresión lineal de mínimos cuadrados, multiplicando la pendiente 2.303.

Los tiempos de vida media (t1/2) se calculan dividiendo 0.693/K, donde k es la constante respectiva de velocidad de absorción ó de eliminación (Clark, 1989; Gibaldi, 1976).

REFERENCIAS

Aedo, A., B. Landgren, E. Johannisson y E. Diczfalusy. 1985. Pharmacokinetics and pharmacodynamic investigations with monthly injectable contraceptive preparations. **Contraception** 31 (5): 453-469.

Anderson, L. C., D. L. Wise y J. F. Hoves. 1976. An injectable sustained release fertility control system. **Contraception** 13 (3): 375-384.

Aufrere, M. y H. Benson. 1976. Progesterone: As overview and recent advances. **J. Pharm. Sci.** 65 (6): 783-800.

Ayala, R. A. 1989. Evaluación de la función ovárica. Temas selectos en reproducción humana. INPer. México. pp. 15-25.

Back, D. J., A. M. Breckenridge, F. E. Crawford, M. MacIver, M. L. Orme, P. H. Rowe y M. J. Watts. 1979 An investigation of the pharmacokinetics of ethynylestradiol in women using radioimmunoassay. **Contraception** 20 (3): 263-273.

Beck, L. , D. R. Cowsar, D. H. Lewis, J. W. Gibson y C. E. Flowers. 1979. New long-acting injectable microcapsule contraceptive systems. **Am. J. Obstet. Gynecol** 135 (3): 419-426.

Beck, L., D. R. Cowsar, D. H. Lewis, R. J. Cosgrove, C. T. Riddle, S. L. Lowry y T. Epperly. 1979. A new long-acting injectable microcapsule system for the administration of progesterone. **Fertil. Steril.** 31 (5): 545-551.

Bedolla, N., A. Ulloa-Aguirre, J. Landeros y G. Pérez Palacions. 1984. Análisis de datos y control de calidad en el radioinmunoanálisis I. Guía para la evaluación de resultados.. **Rev. Invest Clín.** 36: 179-192.

Butenandt, A. y U. Wesphal. 1974. Isolation of progesterone - forty years ago. **Am. J. Obstet. Gynecol.** 120: 138-140.

Cárcamo, C. 1982. Introducción a la farmacocinética. Ed. Eva. V. Chesneau. Washington. Pp. 114.

Clark, B. y D. A. Smith. 1989. Introducción a la farmacocinética. Ed. Aribia. España. Pp. 187.

Colburn, W. 1982. Pharmacokinetic and biopharmaceutic parameters during enterohepatic circulation of drugs. **J. Pharma. Sci.** 71: 131-133.

Cravioto, M. C., J. Garza-Flores y G. Pérez-Palacios. 1991. New developments in long-acting contraception. En:

Reproduction, growth and development. Vol. 71 (Eds. A. Negro-Villar y G. Pérez-Palacios). Raven Press. New York. Pp. 359-371.

Dennerstein, L. C., C. Spencer, G. Gotts, J. B. Brown, M. A. Smith y G. D. Burrows. 1985. Progesterone and the premenstrual syndrome: a double blind crossouer trial. **Br. Med. J.** 290: 1617-1620.

Descomps, B. J. C. Nicolas, Y. Chikhaoui y A. C. de Paulet. 1980. Prediction and detection of ovulation by hormonal measurements: contribution of a new enzymtic method. **J. Steroid. Biochem.** 12: 383-393.

Díaz, V. 1984. Nuevos sistemas de liberación controlada para hormonas esteroides en anticoncepción. Anticoncepción. Curso de la Asociación Médica del Hospital Americano Británico Cowdray. D. F. (Dr. B. Rubio, Director del curso). Pp. 195-216.

Díaz, V., J. Garza-Florez, S. Jiménez y H. W. Rudel. 1987. Development of a low-dose monthly injectable contraceptive system: II pharmacokinetic and pharmacodinamic studies. **Contraception** 35: 57-66.

Diczfalusy, E. 1986. New development in oral injectable and implantable contraceptives, vaginal rings and intrauterine devices a review. **Contraception** 33 (1): 7-22.

Diczfalusy, E. 1987. Riesgos, beneficios y controversias en el uso de métodos anticonceptivos de larga duración. En avances recientes en la regulación de la fertilidad Vol I. (Eds. G. Pérez-Palacios, J. Garza-Flores y P. E. Hall). Ed. Piensa. México. Pp. 1-16.

Downie, N. y R. W. Heath. 1986. Métodos estadísticos aplicados. 2a. edición. Ed. Harla. México. Pp 380.

Edwards, P. R. 1988. Inmunoassay program ver. 5.2. O.M.S.

England, John, 1975. A statistical and epidemiological approach. Medical research. Churchill Livingstron. Inglaterra. P. 56.

Erny, R. A., A. Pigne, C. Prouvost, M. Gamerre, C. Malet, H. Serment y J. Barrat. 1986. The effects of oral administration of progesterone for premature labor. **Am. J. Obstet. Gynecol.** 154 (3): 525-529.

Ferre, F. 1984. Oral administration of micronized natual progesterone in late human pregnancy. Effects of progesterone and estrogen concentration in the plasma, placenta and endometrium. **Am J. Obstet. Gynecol.** 148: 26-34.

Filicori, N., Santoro, G. R. Merriam y W. F. Crowley, Jr. 1986. Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throhghout the human menstrual cycle J. **Clin. Endocr. Metab.** 58: 378-383.

Fotherby, K. 1981. Pharmacokinetics of ethynyloestradiol in women from different populations. **Contraception** 23: 487 - 496.

Fotherby, K. 1994. A critical evaluation of the pharmacokinetics of contraceptive steroids. En Steroid contraceptives and women's response, regional variability in side-effects and pharmacokinetics. (Ed. R. Snow y P. Hall). Plenum Press. New York. Pp 125-132.

Galbenick, H. L. 1987. Desarrollo de sistemas biodegradables en anticoncepción de acción prolongada. En: Avances recientes en regulación de la fertilidad. Vol 1. (Eds. G. Pérez-Palacios, J. Garza-Flores y P. E. Hall). Ed. Piensa. México. Pp. 137-147.

Ganong, W. 1990. Fisiología médica. 12 edición. Ed. El Manual Moderno. México. Pp. 365-402.

Garza-Flores, J. 1994. Pharmacokinetics of once-a-month injetable contraceptive. **Contraception** 49: 347-359.

Garza-Flores, J., V. Díaz, S. Jiménez y H. W. Rudel. 1984. Development of a low-dose monthly injectable contraceptive system: I choice of compounds, dose and administration route. **Contraception** 30 (4): 371-379.

Garza-Flores; J., V. Díaz, S. Vázquez, A. Brandeis y C. Romero. 1996. El radioinmunoanálisis y su control de calidad. (Ed. F. Cambrano y V. Díaz). ININ. México. Pp. 85.

Garza-Flores, J., T. Fatinikun, L. Hernández, I. Ramos, M. Cardenas y M. Menjívar. 1991. A pilot study on the assessment of a progesterone/estradiol sustained release as once-a-month-injectable. **Contraception** 44(1): 45-59.

Garza-Flores, J. y P. E. Hall. 1987. Anticonceptivos inyectables mensuales. Avances recientes en regulación de la fertilidad. Vol. I. En: Métodos anticonceptivos de acción prolongada. (Eds. G. Pérez-Palacios y J. Garza-Flores y P. E. Hall). Editorial Piensa. México. Pp. 57-73.

Garza-Flores, J., S. Guo-wei y P. Hall. 1994. Popoulation and delivery systems: variability in pharmacokinetics of long-acting injectable contraceptives. En Steroid contraceptives and women's response, regional variability in side-effects and pharmacokinetics. (Ed. R. Snow y P. Hall). Plenum Press. New York. 125-136.

Garza-Flores, J., L. P. Laiseca, J. Angeles y J. Guillen. 1996. Injetable pharmaceutical composition. Patent number 5512303. U.S.A.

Garza-Flores, J., M. Martínez, L. Diaz y G. Pérez-Palacios. 1992. Anticoncepción hormonal: reevaluación de sus riesgos y beneficios. En: Salud Reproductiva en las Américas (Ed. G. López, J. Yunes, J. A. Solís y A. R. Omran) O.P.S./O.M.S. Méx. Pp. 226-255.

Garza-Flores, J. y M. Menjívar. 1988. Regulación de la fertilidad en la mujer con hormonas esteroides naturales: Un nuevo concepto en anticoncepción parenteral de intervalo y de postparto. XI Reunión Bianual de la Asociación Latinoamericana de Investigación en Reproducción humana. P. 38.

Garza-Flores, J., A. Morales y M. Martínez. 1990. Anticoncepción hormonal de acción prolongada. **Ginec. Obst. Méx.** Vol. 58 (Supl.1): 1-8.

Gibaldi, M. y D. Perrier. 1976. Pharmacokinetics. 2a. edición. Marcel Dekker. Nueva York. Pag. 445-463.

Goldzieher, J. W. , T. s. dozier y A. De la Pena. 1980. Plasma levels and pharmacokinetics of ethynylestrogens in various populations. **Contraception** 21: 1 - 27.

González,C. 1991. Control de calidad. Ed. McGraw-Hill.México. Pp 201-214.

Grambrell, D. R. Jr. 1978. The prevention of endometrial cancer in postmenopausal women with progestogens. **Obst. and Gynecol.** 51:320-323.

Guo-wei, S. 1994. Regional population differences and population pharmacokinetcs of steroidal contraceptives. En Steroid contraceptives and women's response, regional variability in side-effects and pharmacokinetics. (Ed. R. Snow y P. Hall). Plenum Press. New York. Pp. 219 - 237.

Hillier, S., L. E. Reichert,Jr., y E. Van Hall. 1980. Control of preovulatory follicular estrogen biosnthesis in the human ovary. **J. Clin. Endocr. Metab.** 52: 847-856.

Hargrove, J. W. S. Maxon y A. Colston. 1989. Absorption of oral progesterone is influenced by vehicle and particle size. **Am. J. Obstet. Gynecol.** 161 (4): 948-951.

Jackanicz, E., T. M. Nash, H. A. Wise y J. Gregory. 1973. Polylactic acid as a biodegradable carrier for contraceptive steroids. **Contraception** 8: 227-234.

Lane, G. N. C. Siddle, T. A. Ryder, J. Pryse, R. J. B. King y M. J. Whithead. 1983. Dose depedent effects of oral progesterone on the oestrogenised postmenopausal endometrium. **Br. Med. J.** 287: 1241-1245.

Lewis, D. H. y T. R. Tice. 1984. Polymeric considerations in the design of microencapsulation of contraceptive steroids. En: long-acting contraceptive delivery systems. (Eds. G. I. Zaccatuchi, A. Goldsmith, J. D. Shelton y J. J. Scierra). Harper and row publishers. NY. Pp. 77-91.

Maxson, W. y J. T. Hargrove. 1985. Bioavailability of oral micronized progesterone. **Fertil. Steril.** 44 (15): 622-626.

McLachan, R. I., N. L. Cohen, W. E. Vale, J. E. Rivier, H. G. Burger, W. J. Bremner y M. R. Soules 1989. The importance of luteinizing hormone in the control of inhibin and

progesterone secretion by the human corpus luteum. **J. Clin. Endocr. Metab.** 68: 1078-1085.

Metzler, C. M. y D. L. Weiner. 1994. Pcnonlin Ver. 4.2. 4a. ed. Statistical Consultants, Inc. Michigan.U.S.A.

Mishell, D. R. Jr. 1991. Long-acting contraceptive steroids. En: Infertility, contraception and reproductive endocrinology. (Eds. D. R. Mishell, Jr, V. Davajan y R. A. Lobo). 3era. edición. Blackwell scientific publications. NY. 872-894.

Mishell, D. R. 1968. Contraceptive with an injectable progestin. **Am. J. Obstet. Gynecol.** 10 (8): 1046-1053.

Murad, F. y R. C. Haynes, Jr. 1981. Estrógenos y progestágenos. En: Bases farmacológicas de la terapeútica (Eds. A. Goodman, L. S. Goodman y A. Gliman). 6a. edición. Editorial Médica Panamericana. Pp. 1286-1412.

Newmann, E. 1978. The physiological action of progesterone pharmacological effects of progestogens - a short review. **Postgr. Med. J.** 54 (Suppl 2): 11-24.

Nillius, S. J. y E. D. B. Johansson. 1971. Plasma levels of progesterone after vaginal, rectal, o intramuscular administration of progesterone. **Am. J. Obstet. Gyn.** 110 (4): 470-477.

O.M.S. 1978. Multinational comparative clinical evaluation of two long-acting injectable contraceptive steroids norethisterone oenanthate and medroxyprogesterone acetate. **Contraception** 17 (5): 395-406.

O.M.S. 1982. Injectable hormonal contraceptives: technical and safety aspects. O.M.S. Offset Publication 65: 45.

Ottoson, U. B. B. G. Johansson y B. von Schoultz. 1985. Subfractions of high-density lipoprotein. **Am. J. Obstet. Gyn.** 151 (6): 746-750.

Pauerstein, C. J., C. A. Eddy, H. D. Croxatto, R. Hess, T. M. Siler-Khodr y H. B. Croxatto. 1978. Temporal relationships of estrogen, progesterone, and luteinizing hormone levels to ovulation in women and infrahuman primates. **Am J. Obstet. Gynecol.** 130: 876.

Pincus, G. 1980. progestational agents and the control of fertility. **Br. Med. J.** 280: 825-827.

Rylance, B. P., M. Brincat, K. Lafferty, J. C. de Trafford, S. Brincat, V. Parson y J. W. W. Studd. 1985. Natural progesterone and antihypertensive action. **Br. Med. J.** 290: 13-14.

Saperstein, S., R. A. Edgren, D. jung, E. J. Mroszczak, G. J. L. Lee, A. Dorr, R. Pritchard, S. Kushinsky, J. C. Fong y D. L. Combs. 1989. Pharmacokinetics of norethindrone: effect of particle size. **Contraception** 40: 731 - 740.

Schefler, W. C. 1981. Bioestadística. 2a. edición. Fondo educativo interamericano. México. Pp. 84 - 94.

Siegel S. 1972. Estadística no parámetrica. 2a. ed. Ed Trillas. México. Pp. 344.

Siturck, L., C. Bricaire, B. Lignieres, H. Yaneva y P. Mauvais. 1987. Oral micronized progesterone. **Contraception** 36 (4): 373-402.

Soules, M. R. A. Steiner, D. K. Clifton, N. L. Cohen, J. Aksel y W. J. Bremmer.1984. Progesterone modulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in normal women. **J. Clin. Endocr. Metab.** 58: 378-383.

Stevens, K. R., H. G. Spies, J. Hilliard, and C. H. Sawyer. 1970. Site(s) of action of progesterone in blocking ovulation in the rat. **Endocr.** 86: 970-975.

Symods, H. W. G. R. Prime y R. A. Pullr. 1994. Preliminary evidence for the enterohepatic circulation of progesterone in the pig. **Br. Vet. J.** 150 (6): 585-593.

Thorneycroft, I. H., B.Sribyatta, W. K. Tom, R. M. Nakamura y D. R. Mishell. 1974. Measurement of serum LH, FSH, progesterone, 17,hydroxyprogesterone and estradiol-17beta levels at 4 hour intervals during the preovulatory phase of the menstrual cycle. **J. Clin. Endocr. Metab.** 39: 754 - 758.

Welling, P. G. 1986. Phrmacokinetics, process and mathematics. ACS Monograph 185. Washington D. C. Pp. 290.

Whithead, M., P. T. Towsend, D. K. Gill, W. P. Collins y S. Campbell. 1980. Absorption and metabolism oral progesterone. **Br. Med. J.** 280: 825-827.

Yamaoka, K. T. Nakagawa y T. Uno. 1978. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear Pharmacokinetic equation. **J. Pharmacokin. Biopharm.** 6 (2): 165-175.