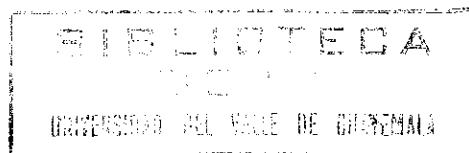


**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**  
**Facultad de Ciencias y Humanidades**  
**Departamento de Química**

**DETERMINACION DE LA ACCION DE *Euphorbia lancifolia* (IXBUT) SOBRE  
LOS NIVELES DE PROLACTINA Y HORMONA DEL CRECIMIENTO EN  
CONEJAS**



**LUIS ERNESTO MATHEU WYLD**

**Trabajo de graduación presentado para optar a  
al grado académico de Licenciatura en Bioquímica.**

**Guatemala 27 de septiembre de 1996.**

**DETERMINACION DE LA ACCION DE *Euphorbia lancifolia* (IXBUT) SOBRE  
LOS NIVELES DE PROLACTINA Y HORMONA DEL CRECIMIENTO EN  
CONEJAS**

**Vo.Bo:**

(f) *Ricardo Bressani*

**Doctor. Ricardo Bressani**

**Tribunal:**

(f) *Ricardo Bressani*

Doctor Ricardo Bressani. Ph.D.

(f) *MC*

Doctor Alvaro Molina Cruz. Ph.D.

(f) *Patricia Palacios*

Licda. Patricia Palacios

Fecha de aprobación: 27 de septiembre de 1996

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al doctor Parlow, del Centro de Hormonas y Anticuerpos de la Universidad de California, por los reactivos donados a este proyecto. Sin ellos este trabajo no habría sido posible, al doctor Ricardo Bressani y al doctor Armando Cáceres por su colaboración y apoyo incondicional en la ejecución de este trabajo, así como por el tiempo dedicado a la discusión del problema planteado.

Deseo agradecer al Dr. Omar Dary y Licda. Flori Cano del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP), por el apoyo logístico y técnico en el manejo de las conejas usadas en este proyecto, a Auto-Safari Chapín, por permitirme tomar sangre de uno de sus monos (*Maccaca mulata*).

De manera muy especial quiero agradecer a la Licenciada Cecilia Sánchez de la Dirección General de Energía Nuclear de Guatemala, por su apoyo, tiempo, conocimientos, paciencia y muy grata colaboración en la ejecución de este proyecto.

Quiero agradecer también a: José, Tinita, Luis Rodríguez, técnicos del INCAP y a Mauricio, Maco, Lourdes y Marco Tulio técnicos de la Dirección General de Energía Nuclear, por su valiosa colaboración y hacerme sentir como miembro de su familia de trabajo.

Por último agradezco a mis Padres por su paciencia y colaboración. Y a mis amigos por toda su colaboración durante nuestra época de estudiantes (Maricruz, Chalo, José Pablo, Rita, Pablo, Mónica, Erick)

## RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la acción farmacológica que poseen el Ixbut (*Euphorbia lancifolia*) y la metoclopramida, al ser inyectadas por vía intravenosa, sobre los niveles de prolactina y hormona del crecimiento en conejas lactantes (5 crías). Para esto se preparó un extracto de Ixbut, colocando 420 gr de planta fresca en 800 ml de agua entre 50 y 60 C, durante 6 horas, luego se procedió a filtrar el extracto para ser liofilizado.

Para determinar el efecto de los fármacos, se privó a las madres de la cría durante 24 horas, para luego tomar una muestra de sangre de la madre (0 minutos), inyectarla con Ixbut, Metoclopramida o suero salino y permitir durante 10 minutos contacto con las crías. Se tomaron luego muestras de sangre a los 15, 30 y 60 minutos. Se utilizaron tres dosis distintas de Ixbut: 5 mg/kg, 20 mg/kg y 200 mg/kg.

Las muestras fueron analizadas mediante radio inmuno análisis y los resultados mostraron que el Ixbut no parece aumentar los niveles séricos de prolactina y hormona del crecimiento al ser administrado por vía intravenosa, mientras que la metoclopramida sí es capaz de elevar los niveles de éstas hormonas en conejas lactantes.

## INDICE DEL CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	
A. Lactogénesis	2
B. Descripción de las funciones hormonales y del eje hipotálamo-hipófisis	2
1. Anatomía	2
2. Secreción hormonal	3
3. Prolactina	4
a. Fisiología de prolactina	4
b. Pruebas de estimulación para la secreción de prolactina	5
4. Hormona del crecimiento	6
a. Pruebas de estimulación para la secreción de hormona del crecimiento	7
C. Fisiología de la lactancia	8
1. Control hormonal durante la lactancia	8
a. Descripción de mamogénesis	8
b. Descripción de lactogénesis	8
i. Acción de la prolactina en lactogénesis	10
ii. Acción de la hormona del crecimiento y la hormona humana lactogénica placentaria	10
c. Descripción de la galactopoyesis	10
2. Dificultades al inicio y durante la lactancia	12
D. Medicamentos galactogogos	12
1. Prolactina	12
2. Metoclopramida	13
3. Ixbut	14
a. Descripción Botánica del Ixbut	14
b. Estudios realizados con Ixbut	15
4. Otras plantas con carácter lactogénico	20

	<u>Página</u>
E. Radio Inmuno Ensayo (RIA)	21
1. Historia	21
2. Definiciones	21
3. Principios del radio inmuno ensayo	22
4. Marcaje de proteínas con yodo 125	24
III. OBJETIVOS	26
IV. HIPOTESIS	26
V. MATERIALES Y METODO	27
A. Obtención del Ixbut	27
B. Preparación de Extracto	27
C. Fármaco de referencia	27
D. Radio inmuno ensayo para prolactina y hormona del crecimiento	27
1. Marcaje de prolactina (RbPRL) con yodo(125)	27
2. Radio inmuno análisis de prolactina	28
3. Marcaje de hormona del crecimiento (HC)	29
4. Radio inmuno análisis de hormona del crecimiento	29
E. Diseño experimental con conejas	30
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	32
A. Resultados de concentración de prolactina, hormona del crecimiento de las conejas y cambio en peso de las crías	32
B. Análisis y discusión de resultados	45
1. Análisis de resultados: respuesta fármaco-efecto para estimulación de niveles séricos de prolactina	45
2. Análisis de resultados: respuesta fármaco-efecto sobre los niveles séricos de hormona del crecimiento	46
3. Análisis de la respuesta: fármaco-efecto en peso de críos	47
4. Análisis de la respuesta: dosis Ixbut-efecto en los niveles séricos de prolactina y hormona del crecimiento	47
5. Otros efectos observados	48

	<u>Página</u>
VII. CONCLUSIONES	49
VIII. RECOMENDACIONES	50
IX. LITERATURA CITADA	51

## LISTA DE CUADROS

<u>Cuadro #:</u>	<u>Página</u>
1. <b>Cuadro # 1:</b> Análisis químico del Ixbut, Teosinte, Bambú de hojas amarillas y Bambú hojas verdes.	18
2. <b>Cuadro # 2:</b> Resultados de análisis cualitativo del Ixbut. (maceración de Ixbut con metanol al 80 %)	19
3. <b>Cuadro # 3:</b> Dosificación de conejas del grupo 1	30
4. <b>Cuadro # 4:</b> Dosificación de conejas del grupo 2	30
5. <b>Cuadro # 5:</b> Dosificación de conejas del grupo 3	31
6 <b>Cuadro # 6:</b> Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 4	32
7 <b>Cuadro # 7:</b> Valores de hormona de crecimiento (ng/ml) de la coneja 4	32
8 <b>Cuadro # 8:</b> Valores de peso de crías antes y después de lactar coneja 4	32
9 <b>Cuadro # 9:</b> Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 6	33
10 <b>Cuadro # 10:</b> Valores de hormona del crecimiento (ng/ml) de la coneja 6	33
11 <b>Cuadro # 12:</b> Valores de peso de crías antes y después de lactar coneja 6	33
12 <b>Cuadro # 12:</b> Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 7	34
13 <b>Cuadro # 13:</b> Valores de hormona del crecimiento (ng/ml) de la coneja 7	34
14 <b>Cuadro # 14:</b> Valores de peso de crías antes y después de lactar coneja 7	34
15 <b>Cuadro # 15:</b> Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 1	35
16 <b>Cuadro # 16:</b> Valores de hormona del crecimiento (ng/ml) de la coneja 1	35
17 <b>Cuadro # 17:</b> Valores de peso de crías antes y después de lactar coneja 1	35
18 <b>Cuadro # 18:</b> Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 2	36

	<u>Página</u>
19 Cuadro # 19: Valores de hormona de crecimiento (ng/ml) de la coneja 2	36
20 Cuadro # 20: Valores de peso de crías antes y después de lactar coneja 2	36
21 Cuadro # 21: Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 8	37
22 Cuadro # 22: Valores de hormona del crecimiento (ng/ml) de la coneja 8	37
23 Cuadro # 23: Valores de peso de crías antes y después de lactar coneja 8	37
24 Cuadro # 24: Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 9	38
25 Cuadro # 25: Valores de hormona del crecimiento (ng/ml) de la coneja 9	38
26 Cuadro # 26: Valores de peso de crías antes y después de lactar coneja 9.	38
27 Cuadro # 27: Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 10	39
28 Cuadro # 28: Valores de hormona del crecimiento (ng/ml) de la coneja 10	39
29 Cuadro # 29: Valores de peso de crías antes y después de lactar coneja 10.	39
30 Cuadro # 30: Valores promedio de prolactina (ng/ml) de las conejas de los grupos 1, 2, y 3.	40
31 Cuadro # 31: Valores promedio de la hormona del crecimiento (ng/ml) de la conejas de los grupos 1, 2 y 3.	40
32 Cuadro # 32: Valores promedio para cambio en peso de las conejas de grupo 1,2 y 3 (gr/cría)	40
33 Cuadro # 33: Valores promedio para prolactina (ng/ml) para las distintas dosis de Ixbut	41
34 Cuadro # 34: Valores promedio para hormona del crecimiento (ng/ml) para las distintas dosis de Ixbut	41

## LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>	<u>Página</u>
1. <b>Figura # 1</b> Conexión vascular entre hipófisis-hipotálamo	2
2. <b>Figura # 2</b> Preparación hormonal post parto del pecho para la lactancia	9
3. <b>Figura # 3</b> Respuesta neuro-hormonal en el proceso de lactancia	11
4. <b>Figura #4</b> Niveles de prolactina en conejas lactantes, luego de inyección de metoclopramida	14
5. <b>Figura # 5</b> Niveles de prolactina y hormona del crecimiento luego de la inyección de extractos de plantas galactogenica	20
6. <b>Figura # 6</b> Equilibrio dinámico en la reacción antígeno anticuerpo en radio inmuno ensayo	22
7. <b>Figura # 7</b> Representación básica de un radio inmuno ensayo	23
8. <b>Figura # 8</b> Residuos tirosil e histidil, mostrando posiciones favorecidas para la yodación con Cloramina T	24
9. <b>Figura # 9</b> Valores promedio de prolactina vrs. tiempo, para cada fármaco	42
10. <b>Figura # 10</b> Valores promedio para concentración de prolactina vrs tiempo para tratamiento con Ixbut y Salino	43
11. <b>Figura # 11</b> Valores de concentración de hormona del crecimiento vrs. tiempo, para cada fármaco	44

## LISTA DE APENDICES

	<u>Página</u>
<b>A. Radio inmuno análisis de prolactina</b>	
A.1. Protocolo de marcación de prolactina	54
A.2. Cromatograma #1: Purificación de prolactina marcada con I-125	55
A.3. Cromatograma #2: Purificación de prolactina marcada con I-125	56
A.4. Protocolo para la determinación de los niveles de prolactina.	57
A.5. Valores de prolactina de las conejas grupo 1 (coneja 4,6,7) dosis de Ixbut 5 mg/kg	58
A.6. Valores de prolactina de las conejas grupo 2 (coneja 1,2) dosis de Ixbut 20 mg/kg	59
A.7. Valores de prolactina de las conejas grupo 3 (coneja, 8,9,10) dosis de Ixbut 200 mg/kg	60
<b>B. Hormona del crecimiento</b>	
B.1. Protocolo de marcación de hormona del crecimiento	61
B.2. Cromatograma #1: Purificación de la hormona del crecimiento marcada con I-125	62
B.3. Protocolo para la determinación de los niveles de hormona del crecimiento	63
B.4. Valores de hormona del crecimiento de las conejas grupo 1 (coneja 4,6,7) dosis de Ixbut 5 mg/kg	64
B.5. Valores de la hormona del crecimiento de las conejas grupo 2 (coneja 1,2) dosis de Ixbut 20 mg/kg	65
B.6. Valores de hormona del crecimiento de las conejas grupo 3 (coneja, 8,9,10) dosis de Ixbut 200 mg/kg	66
<b>C. Análisis Estadístico de Resultados</b>	
C.1. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de prolactina, tiempo de lectura 0 minutos.	67
C.2. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de prolactina, tiempo de lectura 15 minutos.	68
C.3. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de prolactina, tiempo de lectura 30 minutos.	69
C.4. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de prolactina, tiempo de lectura 60 minutos.	70
C.5. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento tiempo de lectura 0 minutos.	71
C.6. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento tiempo de lectura 15 minutos.	72
C.7. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento tiempo de lectura 30 minutos.	73

	<u>Página</u>
C.8. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento tiempo de lectura 60 minutos.	74
C.9. Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina de tiempo de lectura 15 minutos. (Fármaco-Efecto).	75
C.10. Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento tiempo de lectura 15 minutos. (Fármaco-Efecto)	75
C.11. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de prolactina, de las distintas dosis de Ixbut (5,20 y 200 mg/kg), tiempo de lectura 15 minutos (Dosis Ixbut-Efecto)	76
C.12. Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las distintas dosis de Ixbut (5,20 y 200 mg/kg) tiempo de lectura 15 minutos.(Dosis-Efecto)	77
C.13. Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 0 minutos.	78
C.14. Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina de las distintas dosis de Ixbut, tiempo de lectura 15 minutos.	78
C.15. Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 30 minutos.	79
C.16. Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 15 minutos.	80
C.17. Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 0 minutos	81
C.18. Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 15 minutos.	81
C.19. Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 30 minutos.	82
C.20. Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 60 minutos.	82
C.21. Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 0 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)	83
C.22. Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 15 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)	83
C.23. Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 30 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)	83
C.24. Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 60 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)	84
C.25. Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 0 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)	85

	<u>Página</u>
C.26. Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 15 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)	86
C.27. Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 30 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)	87
C.28. Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 60 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)	87
C.29. Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías, al tratar a las madres con los distintos fármacos, 7-8 días post-parto.	88
C.30. Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías, al tratar a las madres con los distintos fármacos, 10-11 días post-parto.	89
C.31. Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías, al tratar a las madres con los distintos fármacos, 14-15 días post-parto.	90
C.32. Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías, al tratar a las madres con los distintos fármacos, 18-20 días post-parto.	91
C.33. Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías para los distintos días post-parto, al tratar a las madres con Ixbut.	92
C.34. Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías, para los distintos días post-parto, al tratar a las madres con Suero Salino.	93
C.35. Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías para los distintos días post-parto, al tratar a las madres con Metoclopramida.	94
D. OTROS	
D.1. Secuencia de aminoácidos de la prolactina.	95

## I. INTRODUCCION

Desde tiempos remotos el hombre ha tratado de aliviar enfermedades mediante el uso de medicamentos, lo cual dio origen a las ciencias médicas y al uso de plantas supuestamente medicinales. "La ciencia hará que el médico ande con la cabeza alta y será celebrado entre los poderosos. El Señor hace brotar de la tierra los remedios y el hombre prudente no los desechará... Con los remedios el Señor sana y alivia de la enfermedad y el farmacéutico hace sus mezclas" (Eclesiásticos 38,4-7). En la actualidad muchos medicamentos han sido obtenidos a base de plantas y animales, para ésto se ha requerido de estudios antropológicos, los cuales recogen la información popular y estudios químicos, que aíslan, caracterizan y comprueban la actividad farmacológica de una molécula.

En Guatemala, existe la medicina natural y muchos de sus habitantes confían en la acción farmacológica de plantas y extractos. Una de estas plantas es el Ixbut (*Euphorbia lancifolia*) la cual se encuentra distribuida en gran parte del territorio de Guatemala, El Salvador y Sur de México.

El ixbut es una hierba perenne, a partir de la cual se puede obtener una infusión, a la cual se le atribuyen propiedades lactogénicas. En los últimos años la lactancia materna ha despertado interés, debido a los múltiples beneficios que ésta provee al recién nacido. Estos beneficios son de carácter nutricional, inmunológico, psicológico e higiénico.

Para algunas madres, iniciar la lactancia es difícil debido a la baja producción de leche y para otras es difícil mantener una producción adecuada. Por estas razones se buscan en la actualidad fármacos galactogénicos, tanto sintéticos como naturales. Como ejemplos tenemos a la prolactina, metoclopramida, clorpromazina y la hormona tiroidea.

*Euphorbia lancifolia* es una planta a la cual se le atribuye actividad galactogénica. A la fecha se han realizado diversos trabajos de investigación y tesis al respecto. Estos trabajos incluyen análisis histológico de área alveolar de glándula mamaria, así como contenido de ácidos nucleicos en glándula mamaria, sin embargo no se han publicado estudios sobre el factor hormonal.

El objetivo principal de este trabajo fue determinar los efectos hormonales que puede presentar un extracto acuoso de ixbut, administrado por vía intravenosa, en conejas en período de lactancia.

## II. ANTECEDENTES

### A. Lactogénesis

La lactogénesis resulta de una compleja interacción de hormonas que inducen cambios morfológicos en las mamas de la madre durante el embarazo (Enhkranz, 1986) El cuerpo de la hembra se adecua de acuerdo a diferentes agentes hormonales, durante los períodos de embarazo y lactancia. Las hormonas son secretadas por distintas glándulas como los ovarios, hipófisis, glándulas adrenales y glándulas mamarias. (Turner, 1949)

En el período de lactancia la prolactina no es el único factor fisiológico involucrado, también otras hormonas como: estrógenos, progesterona, hormona del crecimiento (GH), hormona estimulante de tiroides (TSH) y otras, se encuentran involucradas en la iniciación, mantenimiento y regulación de la lactogénesis. (Ehernkranz y Ackerman, 1986)

### B. Descripción de las funciones hormonales y el eje hipotálamo-hipófisis

#### 1. Anatomía

La hipófisis anterior se diferencia de la posterior en que poseen distintos orígenes embriológicos y fuentes sanguíneas de irrigación. Sin embargo se ha sugerido que debe haber una comunicación vascular directa entre la hipófisis anterior y posterior. De gran importancia para la regulación hormonal de la hipófisis es la sangre venosa proveniente del hipotálamo, tal como se muestra en la figura 1. La funcionalidad de la relación entre el hipotálamo y la hipófisis es compleja y se sugiere una retroalimentación entre la hipófisis y el hipotálamo. (Mazzaferri, 1985)

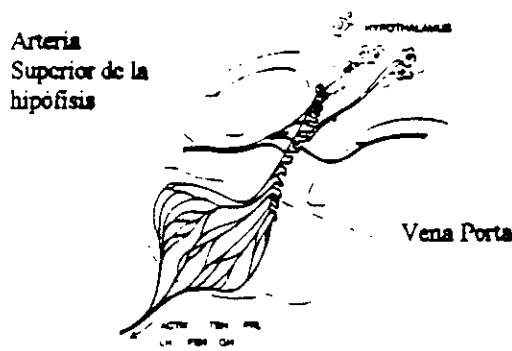


Figura # 1. Conexión vascular entre la hipófisis y el hipotálamo. (Felig, et al, 1981)

## **2. Secreción hormonal**

La secreción de hormonas de la hipófisis está regulada por el hipotálamo y los órganos blancos, así como por otra gran cantidad de señales. Por ejemplo, numerosos factores fisiológicos, farmacológicos y patológicos se ven involucrados en la secreción de hormona de crecimiento. Entre los factores fisiológicos estimulantes se encuentran: ejercicio, hiperglicemia aguda, estrés fisiológico o físico y sueño. Entre los factores farmacológicos: deoxiglucosa, arginina, glucagón estímulos monoaminérgicos como L-dopa y estrógenos. Como se puede observar, existen múltiples factores de regulación. (Mazzaferri, 1985)

El exceso de hormonas secretadas puede deberse a órganos blanco defectuosos, un tumor hipofisiario o desórdenes del eje hipotálamo-hipófisis. La disminución en la secreción de hormonas hipofisiarias produce hipopituitarismo. (Mazzaferri, 1985)

La detección de una hormona hipofisiaria en plasma por radio inmuno ensayo usualmente, pero no siempre, refleja presencia de actividad fisiológica. Esta no es la situación generalmente en varios casos de hipotiroidismo en pacientes con niveles plasmáticos de TSH (Hormona estimulante de tiroides) elevados, a los cuales al administrarles TSH exógena poseen una respuesta normal, indicando que la patología observada obedece a falta de actividad fisiológica de la hormona endógena (Mazzaferri, 1985).

La prolactina o PRL, es una hormona que se encuentra aumentada en algunos casos debido a problemas en el eje hipófisis-hipotálamo, en parte por su sistema de regulación inhibitoria. Para determinar el origen del problema, se han desarrollado metodologías de estimulación (Dillon, 1980).

Las hormonas secretadas por la hipófisis son clasificadas en tres grupos. Las hormonas relacionadas con las corticotrópicas como la adrenocorticotrópica (ACTH) y la beta lipotropina (LPH), estas son péptidos sencillos de 13 a 90 aminoácidos. Las somatotropinas como la hormona de crecimiento (GH) y la PRL, son cadenas simples de aminoácidos con puentes disulfuro intramoleculares. Las hormonas glicoprotéicas como la estimulante de tiroides (TSH), hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante del foliculo, las cuales poseen dos sub-unidades, siendo la sub-unidad alfa idéntica para todos los casos (Mazzaferri, 1985).

Las hormonas hipofisarias se encuentran presentes en gran variedad de formas moleculares, según lo han demostrado los análisis por cromatografía en columna de muestras suero y extractos hipofisarios (Mazzaferi,1985).

### **3. Prolactina**

En 1970 se obtuvo evidencia sólida de la existencia de la prolactina, pues la similitud en efectos biológicos entre la prolactina y la hormona del crecimiento, ponía en duda la existencia de la prolactina. En 1977 se secuenciaron los 198 aminoácidos de los que cuenta la prolactina humana y se encontró que la similitud con la hormona del crecimiento se encontraba en los carbonilos terminales (Mazzaferi,1985).

El desarrollo de radio inmuno ensayo para prolactina proporcionó la oportunidad para estudiar la fisiología de la prolactina. En animales la función de la prolactina ha sido descrita. En humanos la única función bien establecida es la promoción de leche. En el hombre se han sugerido funciones como espermatogénesis, la inducción de lipólisis y síntesis de esteroides entre otros. (Mazzaferi,1985)

#### **a. Fisiología de prolactina**

Los niveles basales de prolactina son ligeramente mayores en mujeres que en hombres. Se estima que la vida media en el plasma es de 15 a 25 minutos. La secreción de prolactina aumenta entre la primera y segunda hora de sueño, esto se debe a un aumento en el nivel de estrógenos. Los niveles de prolactina en suero aumentan durante el embarazo, incrementándose 20 veces de su concentración normal en el tercer trimestre. Los niveles de prolactina decaen luego del parto pero son aumentados mediante el estímulo de succión. (Mazzaferi,1985). La concentración normal de prolactina en el ser humano se encuentra entre los 5 a 10 ng/ml y alcanza un valor de 200 ng/ml después del parto. La concentración puede aumentar de 10 a 100 veces su valor mediante estimulación (Goodman,1986). En conejas el nivel de PRL se encuentra entre los 4 a 10 ng/ml, y la estimulación por succión durante 3 minutos puede elevar los valores hasta 150-200 ng/ml. (Lamb, et al, 1993)

Los factores fisiológicos como ejercicio, estrés, hipoglicemia y actividad sexual son capaces de aumentar los niveles de prolactina sérica. Además los efectos farmacológicos de sustancias como: fenotiazinas, haloperidol, hipoglicemia, estrógenos y arginina son capaces de promover la secreción de prolactina (Mazzeferi, 1985).

Los receptores noradrenérgicos y dopaminérgicos del hipotálamo estimulan o inhiben la secreción de prolactina. Por ejemplo, los bloqueadores dopaminérgicos como el haloperidol, incrementa la concentración de prolactina, mientras agonistas adrenérgicos y dopaminérgicos como la L-dopa y la bromocriptina inducen una pronta caída en las concentraciones de séricas de prolactina (Mazzaferi, 1985).

La prolactina se encuentra regulada por un factor hipotalámico inhibitorio de su secreción, la dopamina, además se cree que la prolactina es capaz de autorregular su síntesis y secreción por la hipófisis (Mazzaferi, 1985). La dopamina es la única catecolamina presente en la circulación del eje hipófisis-hipotálamo y la administración de L-dopa disminuye la concentración de PRL en la sangre (Dillon, 1980).

#### **b. Pruebas de estimulación para secreción de prolactina**

Los estímulos para la secreción de PRL pueden dividirse en aquellos que actúan directamente en la hipófisis o aquellos de acción sobre el hipotálamo. Las respuestas diferenciales pueden ser utilizadas para discriminar entre una deficiencia hipotalámica o hipofisiaria.

Prueba de la Hormona Liberadora de Tirotropina (TRH). La TRH estimula la secreción de PRL a través de la acción directa sobre el lactótrofo en la hipófisis.

El método consiste en la administración de 500 micro gramos de TRH, los cuales son inyectados por vía intravenosa, luego se toman muestras de sangre a los 0, 15, 30, 60, 120 minutos. Se considera como respuesta normal un aumento de tres veces el valor basal de la PRL, es decir (20 ng/ml). Una respuesta disminuida en pacientes con hipoprolactinemia indica un desorden primario, mientras que una respuesta disminuida en pacientes con hiper prolactinemia indica la presencia de un tumor secretor de PRL, fallo renal crónico o hiperprolactinemia idiopática, los pacientes con tumor hipofisiario tienen una respuesta normal (Felig, et al, 1981).

Respuesta normal: en individuos normales se observa un aumento de hasta 3 veces el valor basal. El aumento es mayor en mujeres que en hombres.

Interpretación: una respuesta reducida o ausente indica deficiencia en la reserva de PRL e implica un alteración hipofisiaria primaria. La prueba no puede ser utilizada para discriminar pacientes con tumores secretores de PRL (Dillon,1980).

Prueba de la Clorpromazina. La secreción de PRL aumenta después de la adición del fármaco como resultado del bloqueo de los receptores dopaminérgicos en el sistema nervioso central y en la hipófisis (Dillon,1980).

El método consiste en la inyección intramuscular de 25 mg de clopromazina tomando luego muestras de sangre a los 0, 30 60,90,120 minutos luego de la inyección (Dillon,1980).

Respuesta normal: los valores normales los constituyen un aumento en por lo menos tres veces el valor basal, obteniéndose los valores máximos a los 60 y 90 minutos de la inyección.

Interpretación: esta prueba se propuso inicialmente para distinguir entre enfermedades hipotalámicas e hipofisiarias. Sin embargo ya que existen receptores de dopamina en el hipotálamo y en los lactótrofos, los efectos de los antagonistas se reflejan en relación directa con el bloqueo de los receptores en la hipófisis. Una respuesta baja indica tumor secretor de PRL o trastorno hipotalámico (Dillon,1980).

Riesgos: con frecuencia se observa somnolencia, hipotensión, que por lo general son leves y de corta duración. Pueden obtenerse los mismos resultados con 10 mg de sulpiride intramuscular o 10 mg metoclopraida oral o intravenoso (Dillon,1980).

#### **4. Hormona del crecimiento**

La hormona del crecimiento es secretada por las células acidófilas de la hipófisis anterior. La proteína consta de 191 amino ácidos y dos puentes de azufre. Existen cuatro formas de hormona de crecimiento que son: B,C,D y E. Estas isoformas o isohormonas se diferencian en su migración en gel de acrilamida así como su actividad biológica. La concentración en el suero es proporcional a la producción de la hormona y el hígado es el responsable de remover la hormona del torrente sanguíneo (Dillon,1980).

**a. Pruebas de estimulación de secreción de la hormona del crecimiento.**

La melatonina es capaz de incrementar la concentración de la hormona del crecimiento, mediante la interacción con los receptores de serotonina en el hipotálamo. Existen diversos factores capaces de aumentar la concentración de la hormona, estos factores son según Dillon (1980):

- a) Fisiológicos (sueño)
- b) Anabólicos ( arginina, alimentos ricos en proteína, l-fenilalanina)
- c) Catabólicos (anorexia, ejercicio muscular)
- d) Farmacológicos ( alfa-adrenérgicos, beta-bloqueadores, hipoglicemia, L-dopa).

Las pruebas de estimulación consisten en la determinación de la concentración basal de la hormona, la cual se debe obtener entre las 7 y 8 a.m. y el nivel esperado es de 5 ng/ml. Luego se procede a la inducción la cual puede ser realizada mediante la administración de 500 mg de L-dopa vía oral, con la cual se obtiene una concentración de 17 ng/ml. Debido a que la administración es por vía oral algunos autores sugieren que se administren dosis similares dos días antes de realizar el estudio y con esto dicen, se obtienen mejores resultados (Dillon,1980). Otra prueba la constituye la estimulación con arginina. Esta prueba consiste en la administración de 0.5 g de arginina/kg de peso por vía intravenosa. Luego de la administración se toman muestras de sangre cada 30 minutos, durante 2 horas. Como resultado se debe obtener un nivel máximo de 8 a 35 ng/ml a los 30 ó 60 minutos. La prueba presenta riesgo para pacientes con daño hepático o renal (Alsevar y Goltin, 1980).

### **C. Fisiología de la lactancia.**

La lactancia es el procesos fisiológico que completa un ciclo reproductivo y que garantiza en cierta manera la alimentación al crío. La lactancia requiere de la producción y evacuación de leche de la glándula mamaria, para lo cual la glándula mamaria debe haber desarrollado. Al proceso de desarrollo de la glándula mamaria se le conoce como mamogénesis. La producción de leche, se conoce como lactogénesis y al mantenimiento adecuado de la lactancia, galactopoyesis. Todos estos procesos están bajo control de intrincados sistemas hormonales y nerviosos (Lawrence, 1989).

#### **1. Control hormonal durante la lactancia**

Como se expresó anteriormente la lactancia es parte del ciclo reproductivo en los mamíferos. El control hormonal de la lactancia puede ser descrito bajo tres grandes títulos: mamogénesis, lactogénesis y galactopoyesis. (Lawrence, 1989)

Bajo la influencia de esteroides y estrógenos, el epitelio de las glándulas mamarias prolifera, formándose múltiples capas epiteliales. Este proceso se inicia desde la pubertad, y se ha demostrado que este desarrollo depende también de las hormonas secretadas por la hipófisi. El desarrollo tanto de los ductos como los lóbulos alveolares dependen de la secreción dela hipófisis.

##### **a. Descripción de la mamogénesis**

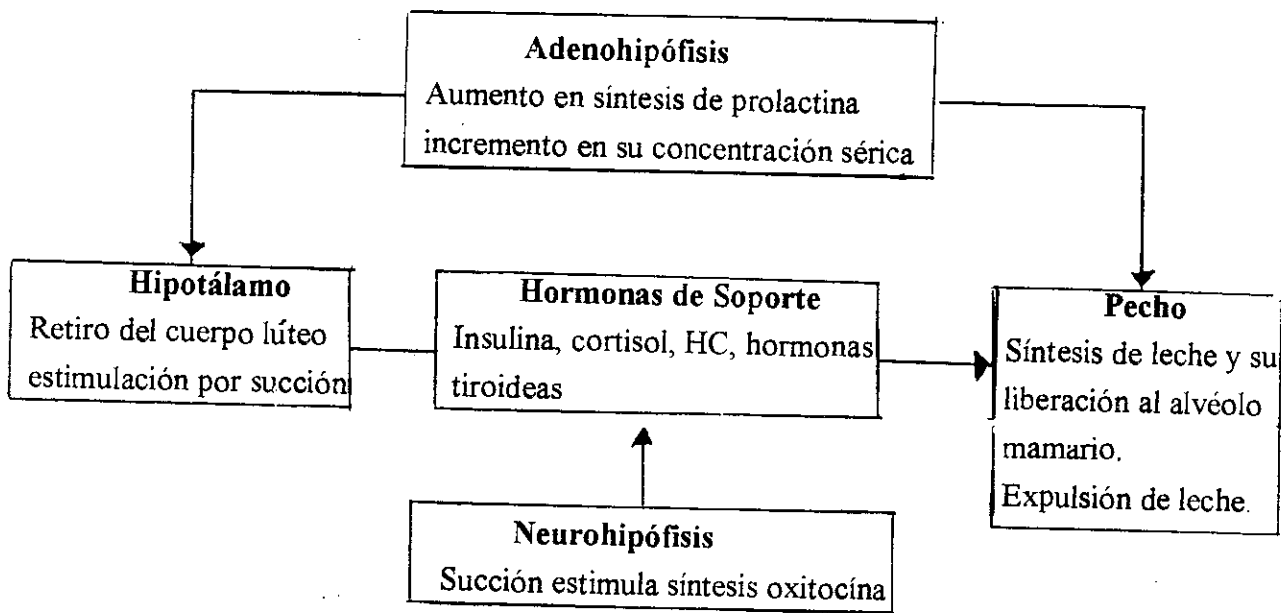
Se realiza a través de distintas etapas de crecimiento: crecimiento de la pubertad, crecimiento del ciclo menstrual y crecimiento durante el embarazo, en caso de haberlo. Durante todo este tiempo se ha estado preparando fisiológica y morfológicamente, a la glándula mamaria, para iniciar la lactogénesis. (Lawrence, 1989)

##### **b. Descripción de la lactogénesis**

Se divide en dos etapas o estadios y de acuerdo a lo reportado por Lawrence (1989) este proceso ha sido ampliamente estudiado por Hartman (1973). La primera etapa se inicia 12 semanas antes del parto y se caracteriza por: un aumento en las concentraciones de lactosa, proteína e inmonoglobulina y por un descenso en las concentraciones de cloruro y sodio.

La segunda etapa incluye un aumento en la circulación sanguínea y la toma de oxígeno, así como un aumento considerable de citrato. La etapa II ocurre entre los días 2 y 3 de la etapa postparto en humanos. Esta etapa culmina con la expulsión de leche.

La glándula mamaria, uno de los órganos blanco endocrinos mas complejos, se ha preparado para responder a la prolactina con la secreción de leche, de acuerdo a la figura 2. Los efectos lactogénicos de la prolactina son controlados y modulados por secreciones de órganos como el ovario, la tiroides, la glándula adrenal y hormonas pancreáticas. Se ha demostrado que cuando existen niveles altos de progesterona y prolactina no se observa lactogénesis, esto se debe a la acción antagónica de la progesterona en la síntesis del ARNm para la caseína. (Lawrence, 1989)



**Figura # 2** Preparación hormonal post parto del pecho para la lactancia ( modificado de Lawrence, 1989)

Se reconoce a tres hormonas como las responsables de lactogénesis: prolactina (PRL), hormona de crecimiento (HC) y hormona placentaria humana (HPL). (Lawrence, 1989)

### **i. Acción de la prolactina en la lactogénesis.**

La prolactina es una hormona compuesta por 198 amino ácidos cuya secuencia se presenta en el apéndice D.1. La relación entre la concentración de prolactina y el volumen de leche producida no ha podido ser bien establecida en humanos. Es claro que la estimulación de ambos pechos simultáneamente produce niveles mayores de prolactina (PRL) así como de leche. Lawrence (1989) reporta los siguientes experimentos que muestran que la relación entre la concentración de prolactina y la producción de leche no son del todo claras:

- Howie, et al en 1980, no encontró correlación entre los niveles de prolactina y la producción de leche.

- Aono, et al en 1977, reportaron haber encontrado una correlación entre niveles de prolactina con buenos y malos alimentadores, sin embargo ellos midieron la producción de leche utilizando bombas luego de haber alimentado a niños o niñas.

La búsqueda de receptores para prolactina en la glándula mamaria ha reportado la presencia de receptores en la membrana celular. En conejos, Perry y Jacobs, se notó que la capacidad para la unión entre la prolactina y su receptor aumenta con el tiempo de lactancia, logrando de esta manera aumentar la respuesta del tejido. Esto puede ayudar a explicar el mantenimiento de la lactancia a niveles máximos, a pesar de la disminución en los niveles séricos de prolactina. (Lawrence, 1989)

### **ii. Acción de la hormona de crecimiento y la hormona humana lactogénica placentaria.**

La acción de la hormona del crecimiento en el mantenimiento de la lactancia es poco entendida, pero puede considerársele como sinérgica de la acción de la prolactina. La acción de la hormona humana lactogénica placentaria, es similar a la de la prolactina.

### **c. Descripción de la galactopoyesis**

El establecimiento y continuación de la lactancia esta íntimamente ligada al buen funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis, el cual regula adecuadamente los niveles de

prolactina y oxitocina. El proceso de lactancia requiere no sólo de la producción de leche sino de su adecuada liberación, ésta es la función de la prolactina y oxitocina respectivamente. (Lawrence,1995)

La liberación de leche involucra una estimulación y respuesta neurohormonal. La estimulación táctil causa una relajación del sistema canicular produciéndose entonces la liberación de prolactina y oxitocina. La oxitocina se adhiere a receptores de membrana de los canalículos, produciendo la evacuación de la leche, cuyo proceso se muestra en la figura # 3 (Lawrence,1989).

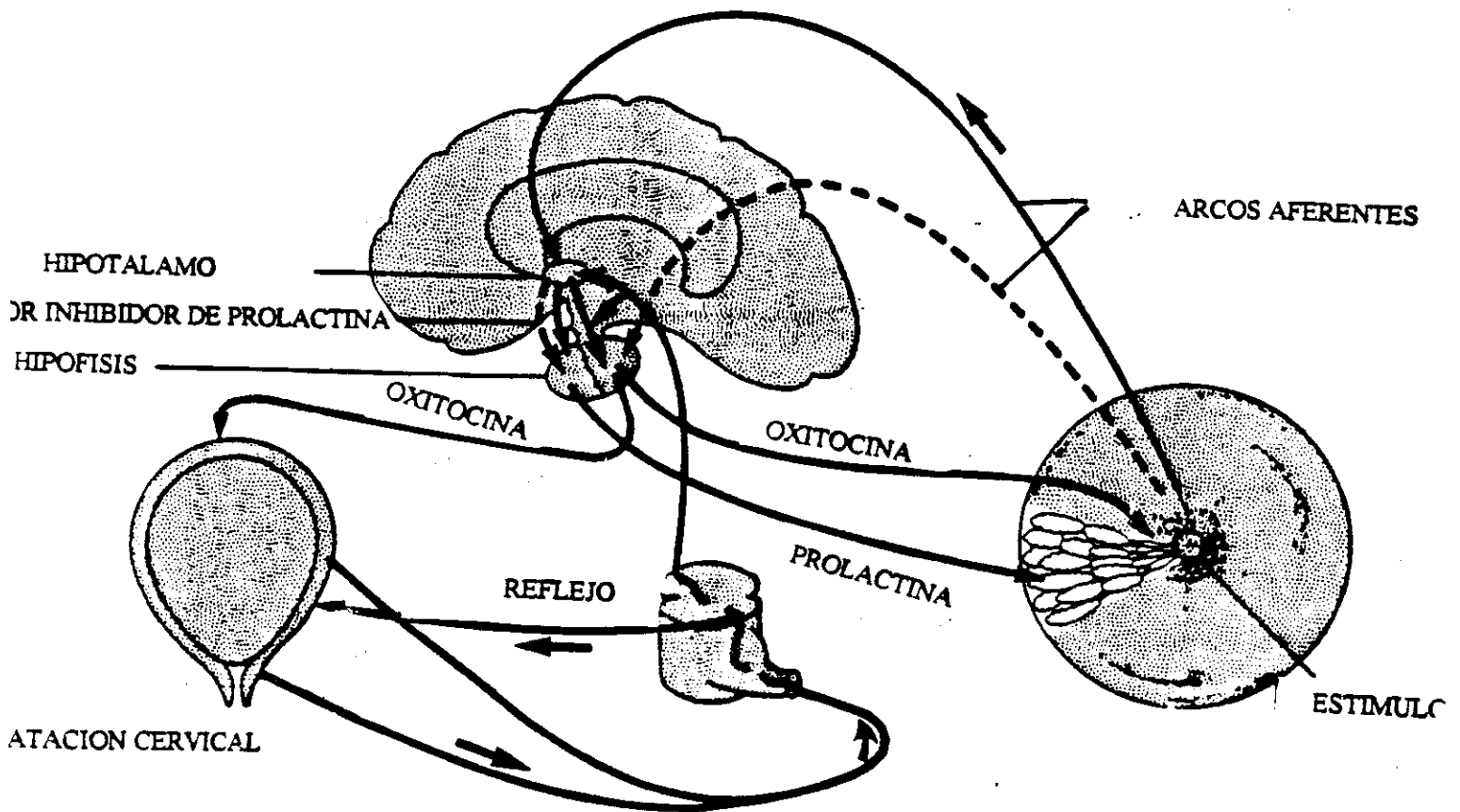


Figura #3. Relación neurohormonal en el proceso de lactancia

## **2. Dificultades al inicio y durante la lactancia:**

Es evidente que una gran variedad de disturbios al sistema pueden prevenir o inhibir la lactación de su proceso normal. De la misma manera, cualquier trastorno fisiológico caracterizado por disminución de niveles de azúcar o calcio sanguíneo harán la lactogénesis difícil o imposible. La secreción láctea involucra interacciones de múltiples hormonas, así como mecanismos nerviosos y nutricionales complejos (Turner, 1949).

Incluso, si en el período temprano post-parto, una mujer no amamanta al infante, los niveles de prolactina séricos disminuyen, gradualmente hasta alcanzar el nivel normal. En las mujeres que practican lactancia materna, el nivel de prolactina se mantiene elevado durante 3 meses y luego baja poco a poco (Ehernkranz y Ackerman, 1986).

Las mujeres de partos prematuros no tienen un nivel de prolactina adecuado y es por esto que les es difícil amamantar a sus hijos. Lo mismo sucede con un estímulo insuficiente, de donde resulta que las mujeres tienen dificultad para principiar la lactancia (Ehernkranz y Ackerman, 1986).

Según Lawrence (1989), también el estrés, crisis emocionales y miedo pueden causar pérdida abrupta en la producción de leche, y en algunos casos esta pérdida es irreversible.

## **D. Medicamentos galactogogos**

Durante los últimos 15 años ha cobrado importancia la práctica de lactancia materna, y desde entonces se ha incentivado a las madres a que la practiquen. No obstante, el proceso no es tan sencillo y muchas madres no pueden amamantar a sus hijos por diversos factores.

En la actualidad existen fármacos naturales y sintéticos para estimular la producción láctea, algunos ejemplos se dan a continuación:

### **1. Prolactina**

La prolactina es una hormona secretada por la hipófisis y es un polipéptido de 198 aminoácidos para el humano, las secuencias de prolactina de humano y otros mamíferos se dan en el apéndice D.1 (Fasman, 1976).

La prolactina es una hormona de importancia significativa tanto durante el embarazo como en el período de lactancia, sin embargo no son éstas sus únicas funciones, se le atribuyen al rededor de 80 distintas funciones fisiológicas (Lawrence, 1989).

La concentración plasmática humana adulta normal es de 5 a 10 ng/ml y en el embarazo llega hasta 200 ng/ml. Después del parto la concentración de prolactina disminuye, a menos que se dé de mamar, provocándose un estímulo que eleva la concentración de prolactina nuevamente. La vida media de la prolactina en el plasma sanguíneo es de 15 a 20 minutos (Mazzaferri, 1985).

En las mujeres, la prolactina puede inhibir la secreción de hormonas gonadotrópicas o el efecto de éstas sobre las gónadas. La succión es un potente estímulo de la secreción de prolactina durante la lactancia. La elevación de prolactina causada por la lactancia y sus efectos inhibidores sobre la función ovárica puede explicar la infertilidad de la mujer en este período (Goodman, 1986).

## **2. Metoclopramida**

La metoclopramida (2-metoxi-5-cloroprocainamida) es una benzamida que estimula la secreción de prolactina por antagonismo de los receptores dopaminérgicos hipotalámicos. Es utilizada para regular trastornos gastrointestinales y para prevenir vómitos y náusea asociados a la quimioterapia (Reynolds, 1989).

Debido a que estimula la secreción de prolactina, se ha utilizado en el tratamiento de mujeres que presentan problemas para iniciar o mantener la lactancia. En dosis de 10 mg tres veces al día por vía oral se encontró que la metoclopramida se transmite a la leche materna y en 4 de 5 madres las concentraciones de metoclopramida en leche eran mayores que las encontradas en plasma de la madre. (Reynolds, 1989)

Los efectos secundarios y adversos son:

- Somnolencia, pues posee acción depresora central del tipo neuroléptico, semejante a las fenotiazinas y sulfhidrilo, pero de potencia inferior.

- Trastornos digestivos: posee buena absorción por el tracto gastrointestinal y por vía intramuscular, sin embargo causa molestias epigástricas, náusea y diarrea en algunos casos.

- Trastornos nerviosos: somnolencia, a veces trastornos extrapiramidales, crisis colinérgicas y torticolis dolor de cabeza e insomnio (Ehernkranz y Ackerman, 1986).

-Efectos cardiovasculares: se ha reportado hipotensión luego de inyecciones de metoclopramida en pacientes sometidos luego a cirugía. También se ha observado hipertensión transitoria en pacientes que reciben metoclopramida junto a quimioterapia. (Reynolds, 1989)

La metoclopramida es absorbida rápidamente por vía gastrointestinal y es excretada por vía urinaria en forma libre y conjugada con otros metabolitos de degradación. Puede ser excretada también por vía oral, la vida media es de 6 horas. por vía intravenosa, se distribuye rápidamente y posee una vida media de 2.6 a 5.4 horas (Reynolds, 1989).

Dosis diaria: 0.5 mg/kg

En experimentos con conejos, Lamb, et al (1993). demostraron que al inyectar metoclopramida a conejas lactantes antes de que estas amamantaran a las crías y tomando muestras de sangre a los 0, 15, 30 y 60 minutos de iniciada la lactancia de las crías, los niveles de prolactina se elevaron significativamente de las conejas control que recibieron sólo una inyección salina.

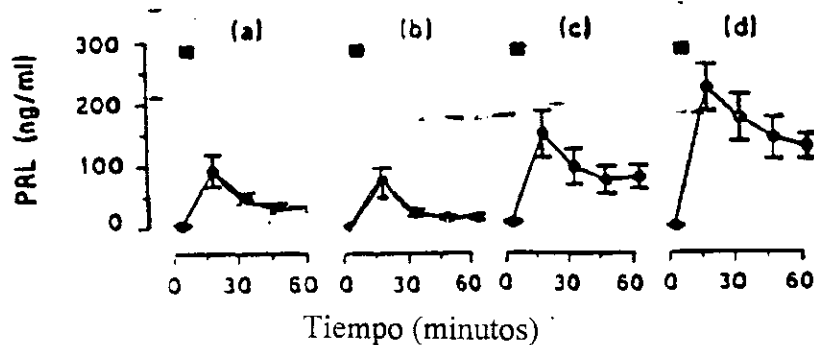


Figura # 4. Niveles de prolactina en conejas lactantes, luego de inyección de:(a) salino, (b) naloxone, (c) domperidone, (d) metoclopramida

### 3. Ixbut

#### a. Descripción Botánica del Ixbut

Otros nombres: hierba lechera, sapillo, isbut.

Nombre botánico: *Euphorbia lancifolia*. Familia de las Eufobiáceas.

Clase: Dicotiledóneas

Sub-clase: dialipetalas superováricas (meristemona)

Orden: Euphorbidas

Género: Euphorbia

Especie: lancifolia. (Rojas, 1925)

Es una planta silvestre que al trozarse los tallos deja escapar un jugo lechoso como sucede en casi todas las Euforbiáceas.

Es una hierba subtrepadora o rastrera, de tallos delgados y cilíndricos, algo carnosos. lisos y articulados, de color verde pálido, hojas alternas, romboideo-lanceoadas, anchas en la base y con extremidades agudas, flores pequeñas y blanquecinas, con el cáliz de cuatro segmentos y ovario veloso. Se dice que las semillas son venenosas para el ganado. De acuerdo a Rosengarten (1982) Aguilar escribió en su libro "Plantas Forrajeras" lo siguiente:

"...crece perfectamente en variedad de suelos, pero prefiere los volcánicos, húmedos. Se propaga por fragmentos del tallo. Su altura es de 1 a 10 metros. Sus tallos se mantienen suaves y jugosos hasta la florescencia. El ixbut es una planta galactófera por excelencia. Su cultivo y su utilización adecuada en el racionamiento del ganado en producción láctea, será siempre benéfico para grandes y pequeños criadores. Su cultivo con fines forrajeros no requiere grandes extensiones de terreno, porque en la alimentación del ganado sólo debe emplearse en mezclas balanceadas y en carácter de alimento concentrado. El exceso de ixbut causa trastornos fisiológicos en el ganado en plena producción".

#### **b. Estudios realizados con Ixbut**

El efecto galactogogo del Ixbut, ha sido objeto de varios estudios y a continuación se presentan algunos de los cuales han sido publicados:

El Dr. Pedro Molina Flores la introdujo a la ciudad de Guatemala donde, una vez aclimatada, el Dr. Salvador Saravia preparó un extracto fluido que experimentó en varios casos, comprobando plenamente su propiedad de producir y aumentar la secreción láctea, usando hasta ocho gramos de extracto. Varios médicos salvadoreños entre ellos, Sixto Padilla, Pedro Molina Flores y Salvador Saravia han emitido testimonios favorables. El vulgo usa simplemente 250 gr de hierba en un litro de agua. (Rosengarten, 1982)

En 1928, Guillermo Gándara, durante su estancia en El Salvador, supo que existía una plantación de Ixbut en el Hospital Infantil de San Miguel, donde se empleaba como galactogogo

para las nodrizas. El mismo día Gándara propagó la planta por estaca para utilizarla en la estación Experimental La Ceiba y experimentó con vacas lecheras, escogiendo una cuya producción había sido una de las más regulares. Dicha vaca venía produciendo una botella en la mañana y otra por la tarde. Le dieron a tomar dos botellas del cocimiento de la hierba lechera (250 gr/lit) y al otro día la producción aumentó en media botella luego de dos tratamientos. Se le administró tres veces más y al final de la administración, la producción se incrementó a 6 botellas. A las cinco veces de haber tratado al animal lo dejamos descansar por tres días consecutivos, al cabo de los cuales bajó la producción a cinco botellas, pero nuevamente aplicando la medicina por tres días más, la producción volvió a subir a seis botellas. En resumen, en once días, con el tratamiento indicado había triplicado su producción diaria (Rosengarten, 1982 ).

El doctor Manuel Serrano, en Guatemala utilizó ixbut con éxito. Por su parte Máximo Martínez cree que convendría seguir estudiando la mencionada hierba para conocer las ventajas y desventajas que pueda presentar, así como los desequilibrios orgánicos que pudiera causar su uso continuo. (Rosengarten, 1982)

El doctor del Pozo dijo luego de tres años de investigación del IXBUT, lo siguiente:

- 1) Para una evaluación adecuada es necesario realizar períodos largos de control, pues los ensayos cortos no son confiables.
- 2) No es posible inducir lactancia en mujeres no lactantes.
- 3) El Ixbut no produce dolores de pecho o congestión en mujeres que están entre el 2 y 14 mes de lactancia.
- 4) No causa cambio en el volumen de pecho o glándula mamaria.
- 5) El principio activo no es inestable.
- 6) El Ixbut de noviembre parece ser el más activo.
- 7) Según Dr. Pozos el efecto del Ixbut ha sido exagerado.
- 8) El Dr. Pozos opina que los efectos no pueden ser totalmente negados.

(Rosengarten, 1982)

Un estudio realizado por Cristina López, en 1991 analizó la capacidad galactogoga en ratas Wistar mediante un método histológico, en el cual determinó el área alveolar de la mama de la rata. Realizó tres experimentos, en el primero se determinó la acción galactogoga en dos tipos de extractos, uno derivado de una infusión y otro obtenido de un prensado caliente de la planta entera. Ambos se utilizaron a concentraciones de 20 mg/rata/día. El segundo experimento fue realizado para observar los efectos de ixbut en ratas de 21 días post parto sin crías. El tercero fue un experimento de comparación entre una droga de referencia, metoclopramida vs. Ixbut. El método utilizado consistió en determinar el área alveolar de tejido de la glándula mamaria, comparando las áreas alveolares de un grupo control y un grupo tratado con Ixbut. El método utilizado, partía de la premisa de que a mayor producción de leche, se debería observar un aumento en el área alveolar, sin embargo la metoclopramida no produjo un aumento en el área alveolar mientras que el ixbut si produjo aumento. Además en este trabajo se tomaron muestras de sangre de las ratas para ser analizadas por radio inmuno ensayo (RIA), dicha información no ha sido publicada o reportada hasta el momento (López, 1991).

Otro estudio realizado por Denny Guarán Mijangos, en 1994 analizó la actividad lactogénica de Ixbut mediante la cuantificación de ácidos nucleicos (ácido desoxirribonucleico y ácido ribonucleico mensajero total) en glándula mamaria de ratas Wistar tratadas con ixbut. Sus resultados mostraron que no existe diferencia significativa entre el contenido de ADN de tejido mamario. Desgraciadamente no fue posible determinar los niveles de ARNm total. (Guarán, 1994)

El uso del ixbut en la maternidad y cuidado de los niños: fue reportado por la señora Nathusius quien fuera una de las lideresas en la Liga Internacional de la Leche en Guatemala. La señora comprobó que en Guatemala se recomendaba Ixbut como relajante a madres con problema de lactancia. La preparación del ixbut correspondía a la tradición oral. La señora comprobó que a pesar de que el ixbut se continúa recomendando, su uso es mucho menor al utilizado en generaciones anteriores (Rosengarten, 1982).

Es conocido que la preocupación y tensión emocional poseen un efecto adverso en la lactación. Posiblemente como relataba la señora Nathusius, el ixbut es adecuado como un tranquilizante. En 1950 el doctor Pozo realizó un experimento, en el cual inyectó a mujeres lactantes con ixbut, observando una disminución en la presión sanguínea así como en las pulsaciones del corazón (Rosengarten, 1982 ).

Otros trabajos sobre Ixbut, incluyen los realizados por el Dr. Squibb sobre el contenido de carotenos y otros factores nutricionales del ixbut, que se presentan en el cuadro #1.

**Cuadro #1 Análisis químico del Ixbut, Teosinte, Bambú de hojas amarillas y Bambú hojas verdes.(100 gr tejido fresco)**

Característica	Ixbut	Teosinte	Bambú hoja amarilla	Bambú hoja verde
Ceniza, g	9.8	21.30	19.70	12.5
Calcio, mg	1519.00	-----	-----	1163.0
Hierro, mg	53.30	13.40	8.00	147.60
Fósforo, mg	400.00	86.00	86.00	320.00
Fibra Cruda, g	16.20	21.70	24.40	21.60
Nitrógeno, g	1.90	1.61	1.55	1.20
Caroteno, mg	5.05	12.32	8.61	8.28
Vit C, mg	73.00	6.00	8.00	38.00
Vit B2, mg	0.66	0.99	0.65	0.57
Vit B1, mg	0.04	0.10	0.16	0.10
Niacina, mg	4.22	2.54	3.10	3.32

(Rosengarten, 1982)

Además, Escobar, D. realizó un estudio en la Universidad San Carlos de Guatemala titulado "Recopilación botánica y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas medicinales en Guatemala" en el que menciona al ixbut. Sus resultados son los siguientes:

**Cuadro #2 Resultados de análisis cualitativo del Ixbut.  
(maceración de ixbut con metanol al 80 %)**

<b>Característica</b>	<b>Presencia</b>
Alcaloides no cuaternarios	+
Alcaloides cuaternarios	+
Saponinas	-
Esteroides insaturados	+
Cardenólicos	-
Bufadienólicos	-
Flavonoides	-
Taninos	-
Polifenoles	+
Glicosidos Cianogenéticos	-
Antraquinonas	-
Leucoantocianidinas	-

Notas y comentarios: en la base de datos NAPRALERT, aparece citado solamente un trabajo, en el cual se estudió su uso como insecticida, encontrándose que no poseía actividad insecticida (Archer, et al. 1949).

#### 4. Otras Plantas con carácter galactogénico

Existen otras plantas, como el algodón y lino que han mostrado que son capaces de estimular la secreción de prolactina y hormona del crecimiento en cabras. Esto es logrado mediante la inyección intravenosa de extractos de dichas plantas. Los resultados se presentan a continuación. (Houdebiene, et al. 1989)

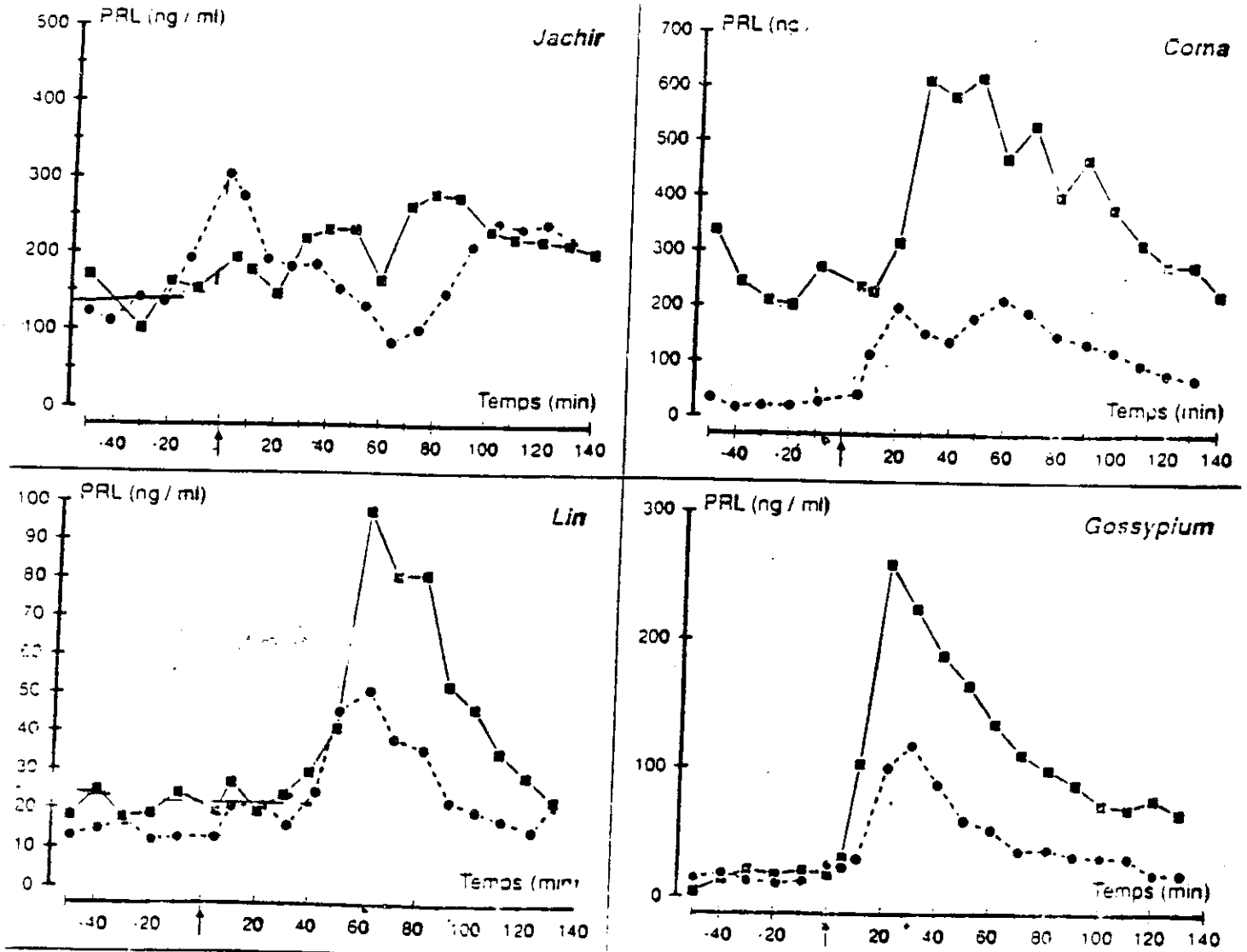


Figura # 5 Niveles de prolactina y hormona del crecimiento luego de inyección de extractos de plantas galactogénicas

## **E. Radio Inmuno Análisis (RIA).**

### **1. Historia**

El radio inmuno ensayo es una mezcla entre bioquímica, computación y física nuclear. Esta técnica es muy poderosa y fue desarrollada en 1960 por Solomon Berson y Rosalyn Yalow. El radio inmuno análisis combina la especificidad de la reacción antígeno anticuerpo y la sensibilidad de detección de radioisótopos. (Mathews y van Holde, 1988)

Yalow y Berson estudiaban el metabolismo de insulina marcada con yodo 131. Ellos descubrieron que casi todos los diabéticos tratados con insulina porcina poseían anticuerpos contra insulina. Ellos consideraron difícil publicar dichos estudios y resultados, pues como un crítico de su trabajo dijo, " todos sabemos que la insulina no induce la formación de anticuerpos" (Keane, 1977).

Sin embargo continuaron adelante con su trabajo y establecieron que incrementando las cantidades de insulina añadidas a una cantidad constante de anticuerpos, producía un descenso en la fracción unida a la gama-globulina, a pesar de que la cantidad absoluta unida aumentaba. El desplazamiento de insulina marcada con yodo 131 de la gama globulina , podía ser logrado mediante la adición de insulina no marcada. (Kean, 1977)

El reconocimiento de que la unión entre la insulina marcada es función de la concentración o cantidad de insulina presente cuando se mantiene la concentración del anticuerpo constante y que la insulina marcada puede ser desplazada por la insulina no marcada, dio lugar a las bases para el radio inmuno análisis (RIA) (Kaen, 1977).

### **2. Definiciones**

**Antígeno:** cualquier sustancia capaz de inducir la formación de anticuerpos y que reacciona específicamente con los anticuerpos que indujo. (Haber y Re, 1980)

**Hapteno:** son sustancias de bajo peso molecular, que no son inmunogénicas por si mismas y requieren estar acopladas a moléculas de mayor tamaño, para producir una respuesta inmune, induciendo la formación de anticuerpos específicos contra ellos (Haber y Re, 1980).

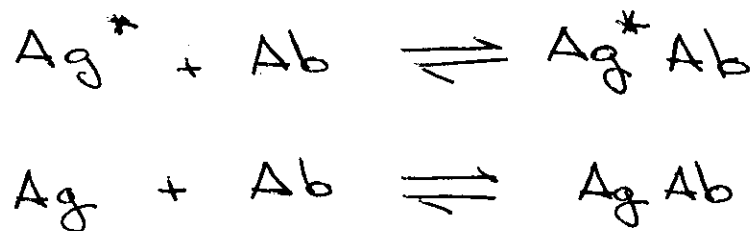
**Anticuerpo:** una proteína formada que responde a un antígeno que reacciona específicamente con el antígeno y con ciertas estructuras similares al antígeno (Haber y Re, 1980).

La cuantificación fisiológica de la concentración de hormonas y otros materiales biológicos presentes en fluidos corporales, ha sido lograda mediante esta técnica. Estos métodos requieren de:

- a) Un trazador, o antígeno marcado con un radio isótopo que compite contra la sustancia a ser cuantificada, por unirse al anticuerpo,
- b) un anticuerpo de alta especificidad hacia el trazador o sustancia que va a ser cuantificada,
- c) un método para separar el trazador libre del que se encuentra unido al anticuerpo,
- d) poseer suficiente antígeno libre de impurezas que permita realizar soluciones de concentración conocida para desarrollar una curva de calibración (Haber y Re, 1980).

### **3 Principios del radio inmuno análisis.**

El principio del RIA, es relativamente simple, involucra básicamente tres reactivos: El anticuerpo, el antígeno marcado y el antígeno sin marcar (muestra desconocida). En el RIA se puede suponer la siguientes reacciones en competición (Haber y Re, 1980)



**Figura # 6** Equilibrio dinámico en la reacción antígeno-anticuerpo en radio inmuno ensayo. Ab: anticuerpo; Ag: antígeno; Ag\*: antígeno marcado con I-125

El antígeno no marcado en la muestra desconocida compite contra el antígeno marcado por la unión con el anticuerpo. Para la determinación de la concentración del antígeno en la muestra, el grado de inhibición competitiva observada en la muestra, es comparado con el obtenido por soluciones estándar. La validez del ensayo depende del comportamiento físico químico similar, del estándar y del antígeno en la muestra (Kean, 1977).

En la siguiente figura el anticuerpo está presentado por las moléculas con forma de Y, el antígeno por moléculas hexagonales y el antígeno marcado es representado por moléculas hexagonales con un asterisco. En la primera muestra, cuatro moléculas de antígeno se encuentran unidas al anticuerpo, dejando cuatro moléculas libres. En este punto se requiere de dos técnicas adicionales para la determinación de la concentración de un antígeno en la muestra:

1. Un método para separar las moléculas que se encuentran unidas (U), de las que se encuentran libres (L). (Haber y Re, 1980)

2. Un método apropiado para medir radio actividad y así poder determinar la relación moléculas Unidas/ moléculas Libres (U/L), que determina el porcentaje de unión (Haber y Re, 1980)

La separación de las moléculas libres de las unidas, puede ser lograda de distintas maneras, pero una de las más usadas es el uso de un segundo anticuerpo, este segundo anticuerpo está dirigido contra el primer anticuerpo. Con esto se logra la formación de un enrejillado de gran tamaño, el cual precipita y puede ser separado mediante centrifugación y decantación. (Haber y Re, 1980)

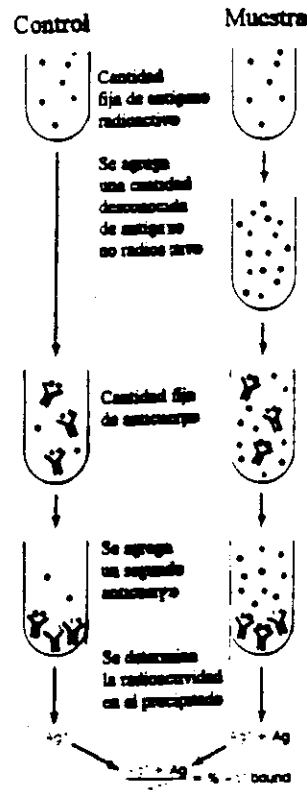


Figura # 7 Representación básica de un radio inmuno ensayo (Mathews y van Holde, 1988)

Luego mediante el uso de un contador de centelleo se puede determinar la cantidad de radioactividad en el fondo del tubo, para determinar posteriormente la concentración del antígeno

En la práctica la concentración de un antígeno en una muestra puede ser determinada graficando la función Logit Y vrs logaritmo de la concentración del antígeno. Esto da lugar a una línea recta a partir de la cual se determinan las concentraciones aritméticamente. La función Logit Y está definida como  $\text{Ln}(Y/1-Y)$ , donde Y representa el porcentaje de unión (Kean, 1977).

#### 4. Marcaje de proteínas con yodo 125

La razón para la yodación es obtener un antígeno marcado con suficiente actividad específica para permitir determinaciones de hormonas a sus concentraciones fisiológicas, para lograr este objetivos existen tres métodos: 1 método químico, 2 método enzimático y método de acilación. (Kean, 1977)

El método químico fue desarrollado por Hunter y Greenwood, utiliza cloramina T. Este procedimiento introduce yodo en residuos tirosilo o histidil de un polipéptido. La reacción es la adición del yodo al anillo aromático mediante una reacción de óxido-reducción. El yodo puede ser incorporado en las posiciones 3 y 5 del residuo tirosil y en la 2 y 4 del residuo histidil, usualmente es mejor si solo se incorpora un átomo de yodo por residuo, pues esto evita daños a la hormona (Kean, 1977).



Figura # 8. Residuos tirosil e histidil, mostrando posiciones favorecidas para la yodación con Cloramina T

El método enzimático, utiliza enzimas como la lactoperoxidasa, la cual introduce yodo sólo en los residuos tirosil. Una de las ventajas de este método es que evita el daño a la molécula que se va a marcar (Kean, 1977).

El método de yodación mediante acilación utiliza el éster de hidroxisuccinimida (I-125) y ácido 3-(4-hidroxifenil)propiónico como agente acilador, marcando todos los grupos amino libres en la proteína (Kean, 1977).

Luego de marcada la hormona, se debe separar la fracción de hormona marcada del yodo que no se incorporó. Para ésto se realiza una cromatografía de exclusión molecular de la cual se recogen fracciones, luego se determina la cantidad de radio actividad en cada fracción, obteniéndose un patrón de elección, en el cual el primer pico representa a la hormona marcada y el segundo el yodo que ha quedado libre. A partir de estos datos se calcula la actividad específica del marcaje, es decir cuántos micro curies se han incorporado a un microgramo de hormona<sup>1</sup> (Kean, 1977).

---

<sup>1</sup> Ver apéndice A.2

### III. OBJETIVOS

- a. Determinar la acción farmacológica de *Euphorbia lancifolia* como droga galactogoga.
- b. Determinar los efectos de *Euphorbia lancifolia* sobre los niveles de prolactina y hormona del crecimiento, en conejas.

### IV. HIPOTESIS

La administración intravenosa del liofilizado del extracto acuoso de las hojas y tallos de *Euphorbia lancifolia* (Ixbut) es capaz de elevar los niveles de hormona del crecimiento y prolactina en conejas lactantes.

## **V. MATERIALES Y METODO**

### **A. Obtención de Ixbut:**

Se obtuvo Ixbut de una plantación en la Finca las Marias, Patulul, Suchitepéquez, localizada a 2800 pies sobre el nivel del mar. El Ixbut se recolectó en el mes de noviembre, 1994.

### **B. Preparación del extracto**

Se preparó un extracto acuoso de ixbut utilizando 420.0 gr de planta y 800ml de agua, se realizó la extracción durante 6 horas a una temperatura entre 50 y 60 C. Luego el extracto fue filtrado y luego congelado a -4 C y almacenado por 2 días. Luego descongelado para ser transferido a erlenmeyes y ser liofilizado posteriormente con las facilidades de la Universidad San Carlos de Guatemala, obteniéndose al rededor de 6 gr secos.

Las dosis utilizadas fueron de 5 mg/kg, 20 mg/kg y 200 mg/kg, el cual se diluyó en un volumen de 2 ml de suero salino, el cual se inyectó vía la vena marginal de la oreja.

### **C. Fármaco de referencia**

El fármaco de referencia utilizado, fue el clorohidrato de metoclopramida (Lab. Mellarini, Clopan, lote 943) que es un antagonista de la dopamina. La dosis utilizada fue de 1.5 mg/kg, el volumen de inyección fue de 2 ml vía la vena marginal de la oreja (Lamb, et al 1993)

### **D. Radio inmuno ensayo para prolactina y hormona de crecimiento**

#### **D.1 Marcaje de Prolactina (RbPRL) con Yodo(125)**

Para la marcación de prolactina, se utilizó prolactina de conejo altamente purificada, la cual fue donada por el doctor A. Parrlow (UCLA, Davis, Harbor Medical Center Pituitary & Antisera). Para realizar la yodación, se solubilizó la prolactina en una solución 0.01 M de bicarbonato de sodio a una concentración de 100 microgramos por ml. Se prepararon alícuotas y

se almacenaron en refrigeración a -20 C. Para la yodación, se utilizó el protocolo de cloramina T, el cual se encuentra detallado en el **apéndice A.1**. Debido al tiempo que transcurió entre el marcaje y la obtención de los distintos sueros fue necesario realizar 2 marcajes de RbPRL, los cuales dieron actividades específicas de 45microcuries/ microgramo de prolactina y 6.2 microcuries/microgramos de prolactina. Los cromatogramas de se en cuentan en el **apéndice A.2 y A.3**. Apartir de estos datos y de acuerdo con lo recomendado por Jacobs (1974) se realizó una solución de aproximadamente 2 picogramos de PRL marcada por microlitro de solución. De esta solución se agregaron 100 microlitros a todos los tubos, tal como se muestra en el **apéndice A.4**.

Antisuero contra prolactina de conejo, fue donado por el Dr. Parlow. 1 ampolla de liofilizado se reconstituyó en 1.0 ml de agua destilada y proveé una dilución de 1:12.5 en 2% de suero normal de rata en PBS (Bufere de fosfato salino). Se diluyó 1:125 con PBS(0.1M) con 2% de suero normal de rata; se prepararon múltiples alícuotas y conservaron congeladas a -20 C. La dilución final utilizada fue de 1:100,000 tal como lo recomienda el Dr. Parlow

Prolactina de conejo para uso como estandar frío en curvas de desplazamiento. 1 ampolla conteniendo 5 microgramos, liofilizada en albúmina de suero bovino (BSA) en bufer salino de fosfatos (PBS) (0.1M). Para el uso de estandar frío en curvas de desplazamiento, se reconstituyó la prolactina con 1 ml de agua destilada, esto es 5 microgramos por ml. Apartir de esta solución se realizaron estandares de distintas concentraciones: 194.00 ng/ml, 77.60 ng/ml, 12.93 ng/ml y 2.15 ng/ml.

## **D.2 Radio inmuno análisis de prolactina**

Procedimiento todos los reactivos fueron colocados en tubos de poliestireno, en un solo paso, a temperatura ambiente y en la secuecia siguiente: a)standar o desconocido b) Buffer (PBS 0.1 M, 2% en suero normal de rata), c)Prolactina marcada y d) anticuerpo (anti RbPRL) a una dilución final, en el tubo de 1:100,000. Los tubos fueron incubados por 24 horas a temperatura ambiente, antes de la adición del segundo anticuerpo, Anti Gama globulina de Rata globulina. El segundo anticuerpo fue comprado en Antibodies Inc, según lo recomendado en la literatura. Según las experiencias reportadas 16 microlitros del segundo anticuerpo agregados a

### **E. Diseño experimental con conejas**

Se contó con tres grupos de conejas. El primer grupo estaba formado por 3 conejas(n=3), el segundo grupo, por 2 (n=2) y el tercer grupo, por 3 conejas (n=3). Los grupos fueron trabajados en distintos meses.

El primer grupo formado por las conejas numeradas: 4,6,7 recibió una dosis de ixbut de 5 mg/kg, metoclopramida 1.5 mg/kg y un suero salino de acuerdo al cuadro # 4.

El peso de las conejas para la dosificación fue determinado 24 horas antes y se muestra en el apéndice E.1.

<b>Cuadro # 3 Dosificación de las conejas del Grupo 1</b>			
<b>Días Post Parto</b>	<b>Coneja 4</b>	<b>Coneja 6</b>	<b>Coneja 7</b>
8	Metoclopramida	Ixbut	Salino
11	Ixbut	Salino	Metoclopramida
15	Salino	Metoclopramida	Ixbut
18	Metoclopramida	Ixbut	Salino

El segundo grupo formado por las conejas: 1 y 2 recibió una dosis de 20 mg ixbut /kg de peso, 1.5 mg metoclopramida/kg de peso y suero salino, el volumen de inyección fue de 2 ml. El orden en la administración de fármacos se muestra en el Cuadro# 5 Dosificación de las Conejas del Grupo 2

<b>Cuadro # 5 Dosificación de las conejas del Grupo 2</b>		
<b>Días Post Parto</b>	<b>Coneja 1</b>	<b>Coneja 2</b>
7	Ixbut	Metoclopramida
10	Metoclopramida	Salino
14	Salino	Ixbut
20	Ixbut	Metoclopramida

El tercer grupo formado por las conejas: 8, 9 y 10 recibió una dosis de 200 mg Ixbut /kg de peso, 1.5 mg Metoclopramida/kg de peso y suero salino, el volumen de inyección fue de 2 ml. El orden en la administración de fármacos se muestra en el Cuadro # 6

<b>Cuadro # 6 Dosificación de las conejas del Grupo 3</b>			
<b>Días Post Parto</b>	<b>Coneja 8</b>	<b>Coneja 9</b>	<b>Coneja 10</b>
8	Ixbut	Metoclopramida	Salino
11	Metoclopramida	Salino	Ixbut
15	Salino	Ixbut	Metoclopramida
18	Falleció	Cancelado	Cancelado

Toma de muestras de sangre.

Previo a la toma de muestra inicial, se separó a las madres de los crios durante 24 horas. El día de la toma de sangre, se tomó 1 muestra de sangre previa a inyectar a las conejas sus respectivos fármacos. Luego se inyectó a las conejas con sus respectivos fármacos y se les permitió el contacto con las crías durante 10 minutos, luego se les volvió a separar de las crías hasta terminar con la toma de muestras las cuales se realizaron a los 15 minutos, 30 minutos y 60 minutos. Las muestras de sangre fueron colocadas en un recipiente con hielo y posteriormente se obtuvo el suero por centrifugación a 3,000 rpm (10 C) durante 35 minutos. Los sueros obtenidos fueron colectados y almacenados a -20 C.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSION

### A. Resultados de concentración de prolactina, hormona del crecimiento y cambio en peso de las crías

A continuación se presentan los resultados para las concentraciones de prolactina, hormona de crecimiento y cambio de peso de las crías, para cada coneja. La recta de calibración así como los cálculos para determinar las concentraciones se encuentran en el apéndice A.4 y B.3

#### Grupo 1

<b>Cuadro # 6 Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 4</b>								
	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
4, Metoclopramida	0.82	0.00	231.47	20.9	133.52	22.02	80.24	21.44
4, Ixbut	1.07	0.35	51.27	5.38	8.82	1.45	N.D.	
4, Salino	3.16	1.77	69.66	9.79	38.31	0.25	39.78	3.72
4, Metoclopramida	2.01	0.60	169.14	38.70	110.68	36.84	86.06	11.01

<b>Cuadro # 7 Valores de hormona del crecimiento (ng/ml), coneja 4</b>								
	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
4, Metoclopramida	20.27	6.17	76.45	0.55	31.11	0.92	17.88	2.49
4, Ixbut	13.86	1.02	16.70	0.00	14.77	1.67	N.D.	
4, Salino	22.22	5.56	37.31	2.81	20.67	4.03	9.60	2.95
4, Metoclopramida	16.07	0.00	100.95	3.23	19.21	6.86	20.36	1.44

<b>Cuadro # 8 Peso de crías antes y después de lactar, coneja 4</b>				
Fármaco	Número Crías	Peso Antes +/- 0.5 gr	Peso Después +/- 0.5 gr	Diferencia (gr/crío)
Metoclopramida	5	728.0	796.0	13.6
Ixbut	5	941.0	985.0	8.8
Salino	5	1076.0	1219.0	28.6
Metoclopramida	5	1275.0	1400.0	25.0

**Cuadro # 9 Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 6**

	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
6,Ixbut	3.21	2.18	63.96	1.35	29.52	3.44	20.37	1.07
6,Salino	0.41	0.47	138.73	11.63	89.12	6.96	76.92	5.88
6,Metoclopramida	1.32	0.71	455.49	56.49	213.46	42.29	122.58	6.88
6,Ixbut	2.37	0.40	140.82	5.94	130.51	7.05	71.15	20.81

**Cuadro # 10 Valores de hormona del crecimiento (ng/ml) de la coneja 6**

	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
6,Ixbut	30.03	4.90	20.89	1.47	23.40	3.47	28.60	9.86
6,Salino	22.15	0.32	30.31	3.54	21.14	0.91	18.59	6.79
6,Metoclopramida	23.46	1.63	65.19	5.02	21.26	3.62	23.16	0.93
6,Ixbut	10.20	1.57	19.91	10.09	31.86	6.46	30.34	1.21

**Cuadro # 11 Peso de crías antes y después de lactar, coneja 6**

Fármaco	Numero Crías	Peso Antes +/- 0.5 gr	Peso Después +/- 0.5 gr	Diferencia gr/crío
Ixbut	5	587.0	627.0	8.0
Salino	5	755.0	785.0	6.0
Metoclopramida	5	867.0	917.0	10.0
Ixbut	5	975.0	1034.0	18.8

	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
7,Salino	6.69	4.44	165.28	10.4	95.34	4.62	120.32	8.30
7,Metoclopramida	1.91	1.81	298.92	9.32	273.63	11.19	115.55	21.38
7,Ixbut	0.71	0.16	83.01	0.00	N.D.		176.43	11.37
7,Salino	0.82	0.00	159.75	23.71	113.72	0.73	89.9	0.00

	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
7,Salino	11.39	2.33	42.47	0.81	20.13	0.79	22.37	0.48
7,Metoclopramida	13.56	0.81	98.27	9.03	26.15	4.12	<b>41.53</b>	16.79
7,Ixbut	<u>31.62</u>	0.00	19.25	0.58	N.D.		16.94	1.49
7,Salino	21.66	0.80	53.13	2.11	25.03	4.52	<u>19.21</u>	0.00

Fármaco	Numero críos	Peso Antes +/- 0.5 gr	Peso después +/- 0.5 gr	Diferencia gr/crío
Salino	6	790.0	876.0	14.3
Metoclopramida	6	995.0	1109.0	19.0
Ixbut	6	1226.0	1383.0	26.2
Salino	6	1464.0	1615.0	25.2

**Grupo 2:**

	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
1,Ixbut	53.20	4.41	98.36	4.87	79.88	32.94	55.54	15.43
1, Metoclopramida	0.01	0.00	982.38	6.65	398.72	127.5	171.47	57.98
1, Salino	86.06	2.66	132.77	31.77	69.32	0.00	17.24	0.00
1, Ixbut	0.01	0.00	37.49	5.46	26.90	17.68	40.69	24.05

	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
1, Ixbut	11.78	1.00	12.66	0.59	8.33	1.31	11.68	0.85
1, Metoclopramida	8.25	0.9	22.60	0.83	17.13	0.11	10.72	0.28
1, Salino	13.96	1.32	11.03	1.89	11.32	0.06	13.79	3.22
1, Ixbut	9.36	1.69	10.17	0.97	8.25	2.69	13.98	3.23

Fármaco	Número crías	Peso Antes +/- 0.5 gr	Peso después +/- 0.5 gr	Diferencia gr/crío
Ixbut	5	714.0	730.0	3.2
Metoclopramida	5	943.0	1071.0	25.6
Salino	5	1319.0	1414.0	19.0
Ixbut	5	1638.0	1723.0	17.0

**Cuadro # 18 Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 2**

	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
2, Metoclopramida	0.01	0.00	652.00	37.31	642.35	0.00	149.60	10.40
2, Salino	39.26	18.47	165.26	7.24	92.98	17.40	178.74	41.19
2, Ixbut	25.50	1.24	53.78	6.04	N.D.		N.D.	
2, Metoclopramida	0.01	0.00	575.77	37.09	175.67	12.48	139.49	15.23

**Cuadro # 19 Valores de hormona del crecimiento (ng/ml) coneja 2**

	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
2, Metoclopramida	12.63	3.84	43.33	1.43	7.76	0.07	12.99	2.12
2, Salino	10.91	1.49	14.55	4.14	8.24	2.34	13.00	5.41
2, Ixbut	11.38	1.95	7.88	0.10	N.D.		N.D.	
2, Metoclopramida	11.10	2.46	24.85	1.78	6.65	0.05	13.75	2.38

**Cuadro # 20 Peso de crías antes y después de lactar, coneja 2**

Fármaco	Número crías	Peso Antes +/- 0.5 gr	Peso después +/- 0.5 gr	Diferencia gr/crío
Metoclopramida	5	633.0	770.0	27.4
Salino	5	868.0	923.0	11.0
Ixbut	5	1301.0	1400.0	19.8
Metoclopramida	5	1705.0	1852.0	29.4

**Grupo 3:**

<b>Cuadro # 21 Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 8</b>								
	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
8,Ixbut	2.04	0.13	6.06	2.02	11.28	2.60	13.36	0.00
8,Metoclopramida	1.31	0.27	80.06	10.34	88.73	11.32	48.83	3.30
8,Salino	2.76	1.20	43.37	3.47	20.98	0.64	18.93	4.72
8,Ixbut	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	

<b>Cuadro # 22 Valores de hormona del crecimiento (ng/ml), coneja 8</b>								
	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
8,Ixbut	14.55	4.58	12.48	1.36	9.77	1.77	8.90	0.66
8,Metoclopramida	13.77	0.09	27.71	0.42	15.78	3.70	11.37	0.61
8,Salino	9.36	0.97	18.75	2.21	14.77	2.90	12.64	0.75

<b>Cuadro # 23 Peso de crías antes y después de lactar. coneja 8</b>				
Fármaco	Número críos	Peso Antes +/- 0.5 gr	Peso después +/- 0.5 gr	Diferencia gr crio
Ixbut	5	650.0	782.0	26.4
Metoclopramida	5	890.0	1052.0	32.4
Salino	5	1220.0	1359.0	27.8

<b>Cuadro # 24 Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 9</b>								
	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
9, Metoclopramida	18.73	0.10	262.35	15.11	101.07	1.15	63.83	2.72
9, Salino	95.60	0.00	234.45	20.70	182.49	15.57	70.81	2.39
9, Ixbut	46.16	7.50	102.33	15.16	89.98	1.81	66.92	18.70

<b>Cuadro # 25 Valores de Hormona del crecimiento (ng/ml), coneja 9</b>								
	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
9, Metoclopramida	9.79	0.80	60.61	0.51	40.97	2.67	14.18	1.22
9, Salino	13.12	2.20	67.80	7.98	11.64	1.76	13.41	2.03
9, Ixbut	13.20	0.58	71.48	3.58	12.78	0.44	11.73	6.27

<b>Cuadro # 26 Peso de crías antes y después de lactar, coneja 9</b>				
Fármaco	Número críos	Peso Antes +/- 0.5 gr	Peso después +/- 0.5 gr	Diferencia gr/crío
Metoclopramida	5	548.0	590.0	8.4
Salino	5	661.0	748.0	17.4
Ixbut	5	857.0	915.0	11.6

<b>Cuadro # 27 Valores de prolactina (ng/ml) de la coneja 10</b>								
	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
10, Salino	0.87	0.07	264.00	56.98	120.05	7.48	172.74	15.58
10,Ixbut	1.32	1.65	82.28	12.94	61.05	1.93	18.53	1.04
Metoclopramida	1.54	0.20	261.74	11.78	155.27	6.17	95.11	9.30

<b>Cuadro # 28 Valores de hormona del crecimiento (ng/ml) coneja 10</b>								
	0 minutos		15 minutos		30 minutos		60 minutos	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
10, Salino	9.41	0.92	27.92	4.96	11.70	1.07	13.83	1.04
10,Ixbut	14.31	2.80	10.97	3.55	13.21	2.11	15.76	3.65
Metoclopramida	11.43	1.20	90.54	14.75	19.75	1.29	14.82	0.81

<b>Cuadro # 29 Peso de crías antes y después de lactar, coneja 10</b>				
Fármaco	Número críos	Peso Antes +/- 0.5 gr	Peso después +/- 0.5 gr	Diferencia gr/crío
Salino	5	755.0	837.0	16.4
Ixbut	5	999.0	1055.0	11.2
Metoclopramida	5	1291.0	1401.0	22.0

## Respuesta Fármaco - Efecto

**Cuadro # 30 Valores promedio de prolactina (ng/ml) de las conejas grupos 1,2 y 3.**

Tiempo de lectura	Ixbut		Salino		Metoclopramida	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
0 minutos	13.56	19.5	26.18	36.4	2.77	5.4
15 minutos	71.49	35.9	152.59	65.7	396.93	258.0
30 minutos	54.74	40.4	91.37	45.5	229.31	164.0
60 minutos	40.93	22.3	87.26	56.7	107.22	37.3

Para el cuadro #31 Valores promedio de prolactina (ng/ml)

Ixbut 30 minutos, número conejas n = 8

Ixbut 60 minutos, número coneja n = 9

Salino 0, 15, 30, 60 minutos, número de conejas n = 9

Para el resto número de conejas n = 10

**Cuadro # 31 Valores promedio de hormona del crecimiento (ng/ml) de los grupos 1,2 y 3**

Tiempo de Lectura	Ixbut		Salino		Metoclopramida	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
0 minutos	22.90	7.6	14.90	5.2	14.03	4.5
15 minutos	28.91	17.5	33.69	17.5	61.05	28.8
30 minutos	17.48	8.7	16.07	5.5	20.58	9.7
60 minutos	19.70	7.5	15.16	3.8	18.07	8.7

Para el cuadro # 32 Valores promedio de hormona del crecimiento (ng/ml)

Ixbut 30 minutos, número conejas n = 8

Ixbut 60 minutos, número coneja n = 9

Salino 0, 15, 30, 60 minutos, número de conejas n = 9

Para el resto número de conejas n = 10

**Cuadro # 32 Valores promedio para cambio de peso de crías (g/cría)**

Días post parto	Ixbut		Salino		Metoclopramida	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
7-8 días	12.5(*)	12.2	30.7(**)	1.5	16.4 (*)	9.8
10-11 días	10.0(**)	1.6	11.4(**)	5.7	25.6(*)	6.7
14-15 días	19.2(*)	7.3	25.1(*)	5.3	16.0(**)	8.4
18-20 días	17.9(*)	1.2	25.2(***)	0.0	27.2(**)	3.1

Para el cuadro # 33 Valores promedio para cambio en peso de crios (g/crío)

(\*)= tres conejas, n = 3.

(\*\*)= dos conejas, n = 2.

(\*\*\*)= una coneja n = 1

**Respuesta dosis-efecto para las distintas concentraciones de Ixbut**

<b>Cuadro # 33 Valores promedio de prolactina (ng/ml) para las distintas dosis de Ixbut</b>						
Tiempo de Lectura	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	Concentración	SD	Concentración	SD	Concentración	SD
0 minutos	1.84 (*)	1.15	26.2(**)	26.60	16.50(**)	25.68
15 minutos	84.77 (*)	39.58	63.21(**)	31.51	63.56(**)	50.79
30 minutos	56.28 (**)	65.11	53.39(***)	37.46	54.10(**)	39.80
60 minutos	89.31(**)	79.60	48.11(***)	10.50	32.94(**)	29.54

Para el cuadro # 34 Valores promedio de prolactina (ng/ml) para las distintas dosis de Ixbut

(\*)= cuatro conejas, n=4.

(\*\*)= tres conejas, n=3.

(\*\*\*)= dos conejas, n=2.

<b>Cuadro # 34 Valores promedio de hormona del crecimiento (ng/ml) para las distintas dosis de Ixbut</b>						
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	Concentración	SD	Concentración	SD	Concentración	SD
0 minutos	21.43(*)	10.97	10.84(**)	1.30	14.02(**)	0.72
15 minutos	19.19(*)	1.79	10.24(**)	2.39	31.64(**)	34.5
30 minutos	23.34(**)	8.54	8.29(***)	0.05	11.92(**)	1.87
60 minutos	25.29(**)	7.28	25.66(***)	1.62	12.13(**)	3.45

Para el cuadro # 35 Valores promedio de hormona del crecimiento (ng/ml) para las distintas dosis de Ixbut

(\*)= cuatro conejas, n=4.

(\*\*)= tres conejas, n=3.

(\*\*\*)= dos conejas, n=2.

**Figura # 9 Valores promedio de prolactina vrs. tiempo, para cada fármaco**

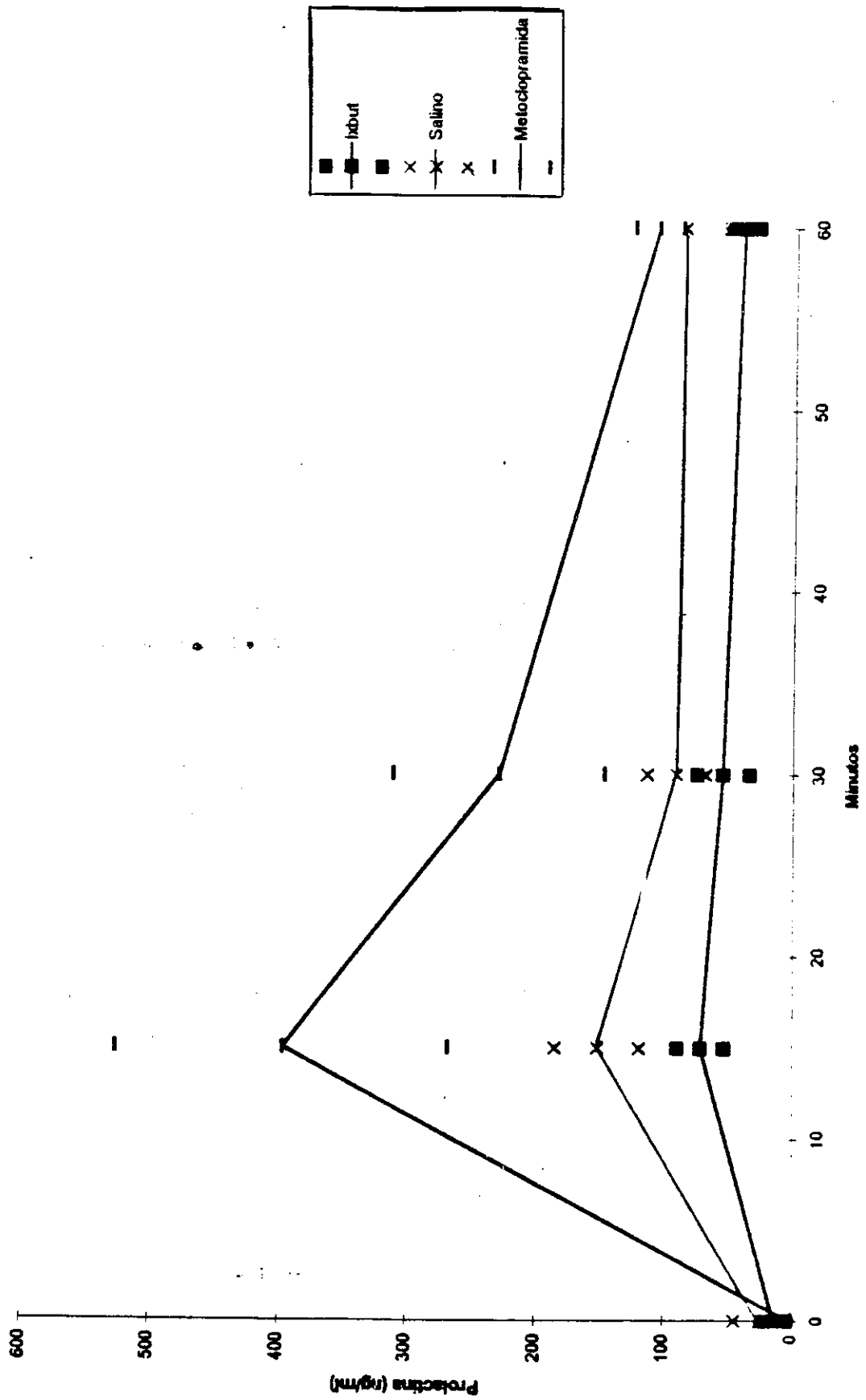


Fig. 10  
**Figura # 10 Valores promedio para concentración de prolactina vs tiempo para tratamiento Ixbut y Salino**

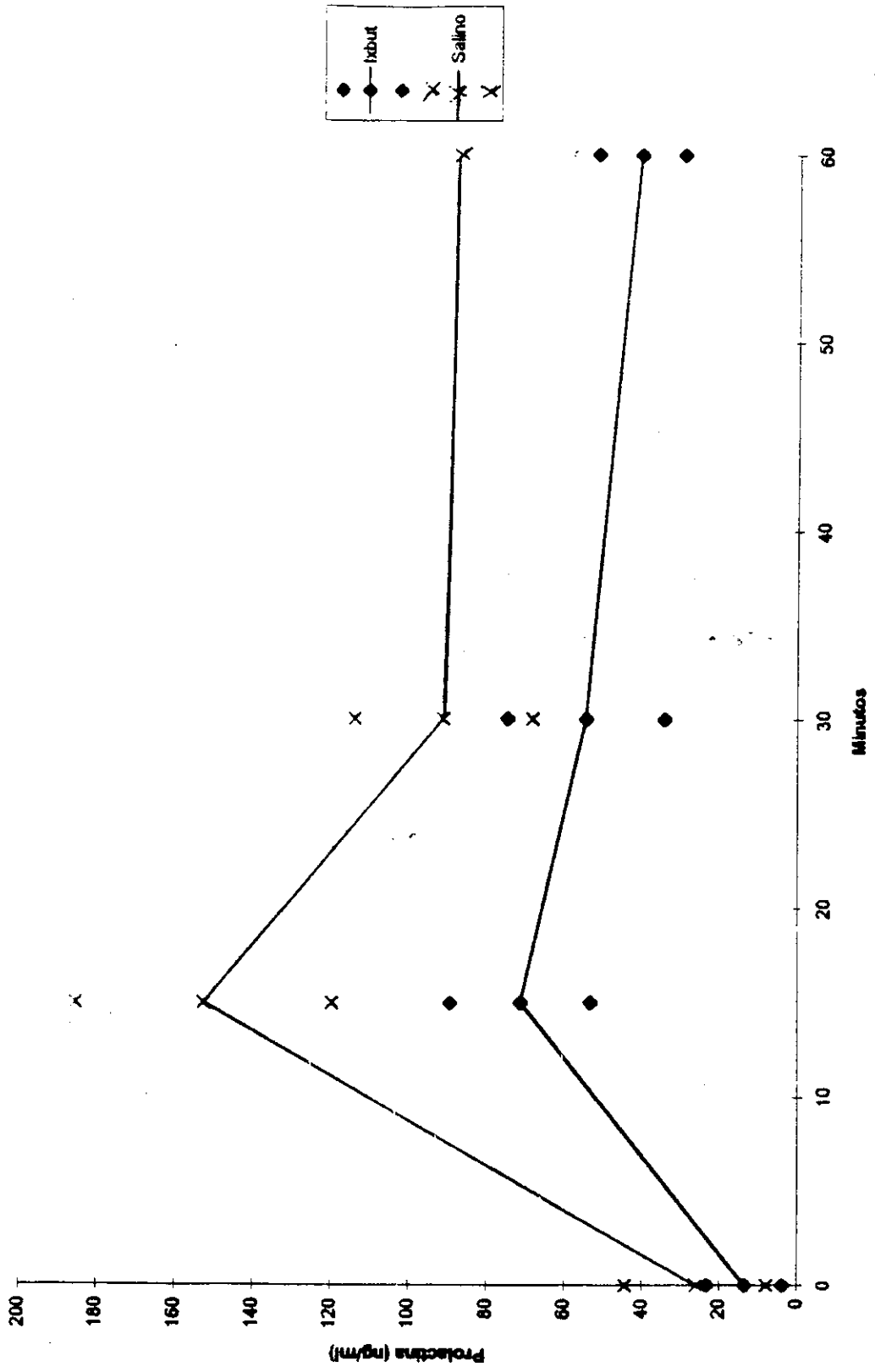
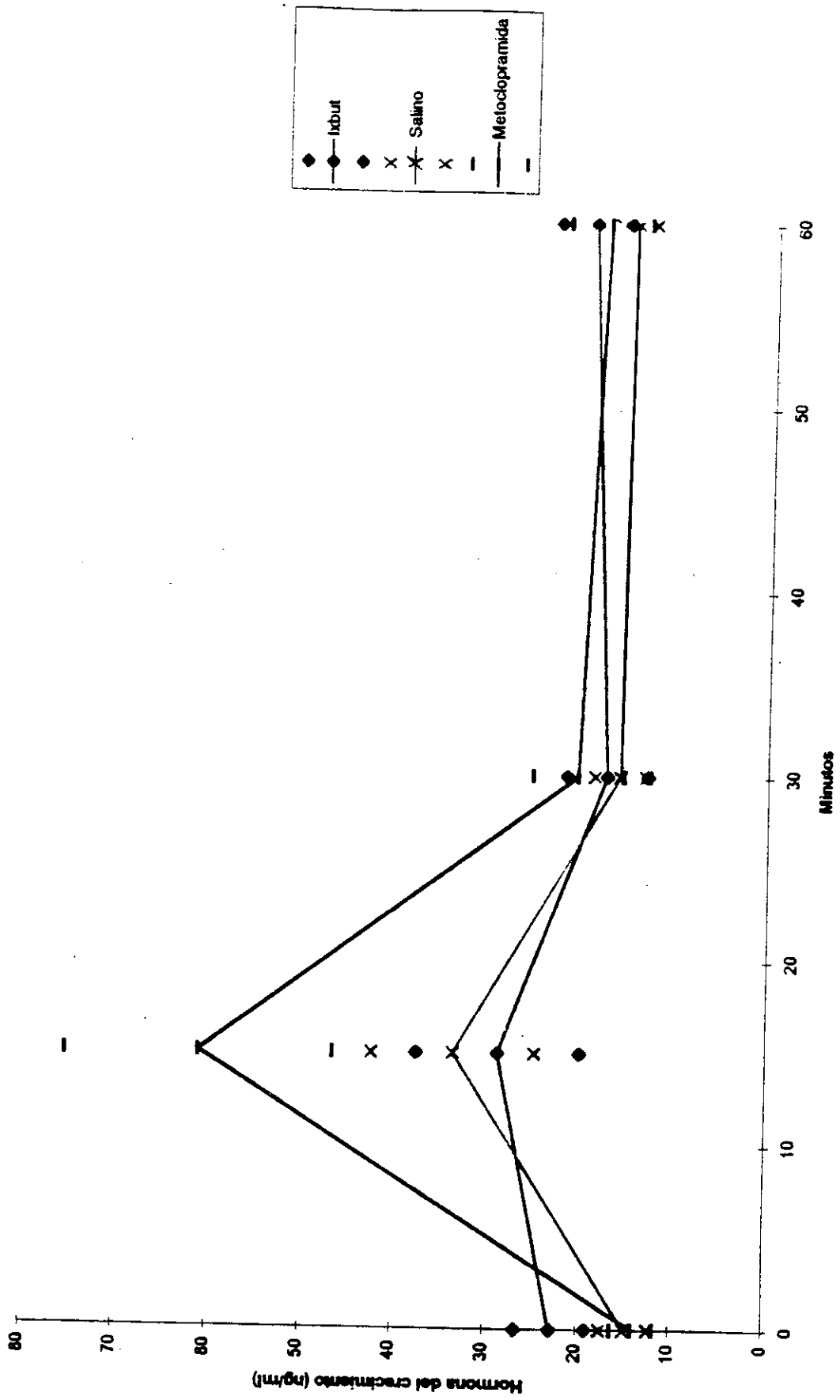


Figura # 11 Valores de concentración de hormona del crecimiento vs. tiempo, para cada fármaco.



## **B. Análisis y discusión de resultados**

Se pueden observar en cuadros del 6 al 29 con los resultados individuales para cada coneja. Se prueba que los mayores niveles hormonales se registran a los 15 minutos para todos los fármacos y que para cada coneja los niveles mayores corresponden a la administración de metoclopramida, luego salino y luego Ixbut, ver además figura # 8 Valores promedio de prolactina vrs. tiempo para cada fármaco; figura # 9 Valores promedio de prolactina vrs tiempo para Ixbut y salino; figura # 10 Valores promedio de hormona del Crecimiento para cada fármaco.

### **B.1. Análisis de resultados: respuesta fármaco-efecto para la estimulación de niveles séricos de prolactina**

Se realizó un análisis de varianza de una vía (ONEWAY), para los distintos tratamientos o fármacos (Ixbut, Salino, Metoclopramida), considerando la concentración promedio de hormonas para cada tiempo de lectura (TL, : 0,15, 30 ,60 minutos por separado.) ver cuadro # 30 Valores promedio de prolactina (ng/ml) y cuadro # 31 Valores promedio de hormona del crecimiento (ng/ml).

Este análisis mostró que para los valores promedio de la concentración de prolactina en el tiempo de lectura de 0 minutos no se observa diferencia significativa, ( $P=0.05$ ) Ver apéndice C.1

Sin embargo, el análisis de varianza de una vía muestra que para los valores promedio de la concentración de prolactina a los 15 minutos, existe diferencia significativa entre los valores de concentración de prolactina de las conejas cuando son tratadas con metoclopramida y cuando son tratadas con Ixbut o salino. No se observa diferencia significativa entre Ixbut y salino. Ver Apéndice C.2. Sin embargo al realizar una prueba de t de student entre los valores promedio de prolactina de las conejas tratadas con Ixbut y los de las conejas tratadas con salino, se observa una diferencia significativa, en la cual se muestra que los valores promedio para el Ixbut son menores a los del tratamiento salino (control), ver apéndice C.9.

El análisis de varianza de una vía para los valores promedio de la concentración de prolactina a los 30 minutos, presenta una diferencia significativa entre los valores de concentración de prolactina de las conejas, cuando son tratadas con metoclopramida y cuando son tratadas con Ixbut o salino. Nuevamente no se observa diferencia entre los valores promedio

para prolactina entre las conejas tratadas con Ixbut y salino. Ver apéndice C.3 Análisis de varianza de una vía para valores de prolactina, tiempo de lectura 30 minutos.

El análisis de varianza de una vía para los valores promedio de la concentración de prolactina a los 60 minutos, no presentan diferencia significativa, apéndice C.4 Análisis de varianza de una vía para valores de prolactina, tiempo de lectura 60 minutos.

## **B.2. Análisis de resultados: respuesta fármaco-efecto sobre los niveles séricos de hormona del crecimiento**

También se realizaron dichas pruebas para los valores obtenidos para la hormona del crecimiento encontrando que:

El análisis de varianza de una vía para los valores promedio de hormona de crecimiento, en el tiempo de lectura 0 minutos no presentan diferencia significativa, ver apéndice C.5 Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de la hormona del crecimiento, tiempo de lectura 0 minutos.

El análisis de varianza de una vía para los valores promedio de hormona de crecimiento en el tiempo de lectura de 15 minutos muestra que existe diferencia significativa entre los valores de concentración de hormona del crecimiento de las conejas cuando son tratadas con metoclopramida y cuando son tratadas con Ixbut o salino, no se observa diferencia entre los valores, cuando las conejas son tratadas con Ixbut o salino, ver apéndice C.6. El análisis de t-student para estos valores, no muestran diferencia significativa, ver apéndice C.10 Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, tiempo de lectura 15 minutos, sin embargo se puede observar en la figura #11 que los valores de concentración de hormona del crecimiento que corresponden a metoclopramida son mayores a los observados por solución salina e Ixbut .

El análisis de varianza de una vía para los valores promedio de la hormona de crecimiento en el tiempo de lectura 30 y 60 minutos muestran que no existe diferencia significativa entre las concentraciones de hormona. Ver apéndices C.7 y C.8 Análisis de varianza de una vía para tiempo de lectura 30 y 60 minutos, respectivamente y figura #11 Valores de hormona del crecimiento vrs. tiempo para cada fármaco.

### **B.3. Análisis de la respuesta: fármaco-efecto cambio en peso de críos**

El análisis de cambio en peso de las crías no parece obedecer al fármaco utilizado (Ixbut, salino o Metoclopramida), tal como lo muestra el cuadro # 32, sino más bien a los días post parto, que reflejan a la vez el aumento en el apetito de las crías, así como un aumento en la capacidad de ingestión. Además la gran variabilidad existente entre individuos no permite observar un efecto exclusivo del fármaco, así que para esto es mejor analizar el cambio en peso y los días post parto tal como se muestra en los cuadros # 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26 y 29.

El cambio de peso que en este experimento representa la producción de leche, no se debe única y exclusivamente a la administración de un fármaco, pues si bien el fármaco administrado puede causar aumento en la producción de leche, hay que recordar que las conejas pasaron 24 horas sin alimentar a sus críos, esto representa 24 horas de acumulación de leche.

Además se realizó una serie de análisis de varianza de una vía, los cuales se presentan en los apéndices C 29 al C 32, para observar si existe diferencia significativa en el cambio de peso debido a los fármacos usados considerando los días post parto individualmente, pero no se muestra diferencia significativa entre los distintos fármacos.

El análisis de varianza de una vía para determinar si existe diferencia entre el cambio de peso de críos dependiendo del día post parto, para cada fármaco de manera individual, no muestra diferencia significativa ( $P=0.05$ ), ver apéndices C 33 al 35.

### **B.4. Análisis de la respuesta: dosis Ixbut-efecto en los niveles séricos de prolactina y hormona del crecimiento**

Al analizar los valores de concentración de prolactina para cada una de las distintas dosis, los valores promedio para el tiempo de lectura 15 minutos se observa que los valores observados son inversamente proporcionales a la dosis administrada, sin embargo no existe una diferencia significativa, debido a la variabilidad en la respuesta y el número reducido de individuos. Estos resultados parecen indicar un efecto en la administración intravenosa del liofilizado de Ixbut, a nivel de glándula mamaria, posiblemente aumentando la capacidad relativa de enlace de los receptores de prolactina en la glándula mamaria, sin embargo en base a los resultados obtenidos no se puede afirmar que las conejas al ser tratadas con Ixbut aumentarían su producción de leche.

Los efectos sobre los niveles de hormona del crecimiento son menos entendidos aún, sin embargo en la lactancia parece existir un estímulo que induce el aumento en niveles séricos, esto se observa cuando las conejas son tratadas con el suero salino y luego amamantan a las crías, dicho efecto no es observado en las conejas tratadas con Ixbut exceptuando a la coneja 9 (ver cuadro # 26 de la sección de resultados).

#### **B.5. Otros efectos observados**

La administración intravenosa de Ixbut en dosis de 5 y 20 mg/kg no presentaron ningún problema para las conejas lactantes durante el estudio, ya fuera que a la coneja se le inyectara por primera o segunda vez.

Pero la segunda administración de la dosis de 200 mg/kg a la coneja #8 fue fatal para la coneja, esto se debió seguramente a shock anafiláctico u osmótico causado por la re-administración del extracto de Ixbut. No debe considerares éste como un efecto adverso propio del Ixbut.

## VII. CONCLUSIONES

1.- Con base en los resultados observados y presentados, el Ixbut (dosis 5 , 20 y 200 mg/kg) no parece tener un efecto que aumente los niveles de prolactina sérica, al ser administrado por vía intravenosa en conejas lactantes. Mas bien parecería producir una disminución en los valores de prolactina. No se le puede atribuir al extracto acuoso de Ixbut preparado, acción de beta-bloqueador al ser administrado por vía intravenosa. Sin embargo de acuerdo a Lawrence (1989) la prolactina y hormona del crecimiento son los únicos responsables en la lactogénesis y galactopoyesis.

2.- De acuerdo con los resultados observados y presentados, el Ixbut (dosis de 5, 20 y 200 mg/kg) no parece tener capacidad de elevar los niveles de hormona del crecimiento, al ser administrado por vía intravenosa en conejas lactantes.

3. Los cambios en peso de los críos no presentan relación con el fármaco utilizado, más bien son el resultado de un aumento en la capacidad de ingestión del crío y una mayor acumulación de leche en la glándula mamaria de la madre. Y de acuerdo con lo reportado por Lawrence (1989) no parece claro si existe una correlación entre la cantidad de leche producida (medida mediante el cambio en peso de la camada y los niveles pico de hormona del crecimiento y prolactina.

4. La administración intravenosa del extracto acuoso de Ixbut y la determinación sérica de niveles de prolactina y hormona del crecimiento no parecen ser un buen bio-ensayo para realizar una búsqueda bio-guiada del principio activo, sin embargo se requiere de más trabajo en esta área.

## VIII. RECOMENDACIONES

1.- Para posteriores estudios hormonales que contemplen la extracción de sangre en conejas, ya sea que se realice una administración oral o intravenosa:

- Tomar muestras de sangre a los 0, 15 y 30 minutos. Esto reducirá el daño en las orejas de las conejas así como el estrés al cual se someten.

- Analizar otras hormonas como la oxitocina (en leche) y la hormona estimulante de la tiroides (en suero sanguíneo) (TSH)

- Analizar la capacidad relativa de unión entre la prolactina y su receptor en la glándula mamaria, de manera similar a lo realizado por Jacobbs y Perry (1978)

2.- Buscar un protocolo adecuado así como el apoyo de distintos grupos, para realizar el experimento en humanos, mediante la administración oral del Ixbut, tal como es preparado y evaluar los niveles hormonales en estos pacientes.

## IX. LITERATURA CITADA

- Alsevar ,R. Gotlin,R. 1980. Handbook of endocrine tests in adults and child. 2ed. Yearbook Publisher Inc. pp 210.
- Archer,W., McGovran,R., Moore, H., Sievers, A. 1949. Insecticidal test of plants from tropical America. Journal of Economic Entomology, 42 (3) 549-551.
- Bartke, A. 1980. Role of prolactin in reproduction in male mammals. Department of Obstetrics and Gynecology, University of Texas Health Science Center. Fedration proceedings, Jn. (39), 8, pp 2577-2581.
- Dillon,R. 1980. Hanbook of endocrinology: diagnosis and management of endocrine and metabolic disorders. 2 ed. Lea&Febiger. Filadelfia. pp 760.
- Escobar. D. M. 1979. Recopilación botánica y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas medicinales de Guatemala. Guatemala, Universidad San Carlos. pp 78.
- Ehrenkranz, R., Ackerman, A. 1986 . Metoclopramide effect on faltering milk production by mothers of premature infants. Pediatrics; 78 (4); 614-620. Connecticut. USA.
- Fasman,G. 1976. Handbook of Biochemistry and Molecular Biology; Volumen 3. 3 edición. CRC Press. NY. USA.
- Felig,P. Baxter, J. Broadus,A. Forhoman,L. 1981. Endocrinología y metabolismo. MacGraw Hill. México. pp 1469.
- Goodman, L. 1986 The pharmacological baises of therapeuthics. 3 edición. New York USA. pp 831.
- Guarán Mijangos, D. 1994. La actividad galactogénica del Ixbut (*Euphorbia lancifolia*) y su posible efecto a nivel de síntesis proteica medida por el cambio de ácidos nucléicos Tesis de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad San Carlos de Guatemala.

- Haber, E., Re, R. 1980. Methods in Immunodiagnosis, Chapter 11: Radioimmunoassay. Editado por Rose y Bigazzi. 2 ed. USA. pp 147-154.
- Houdebienne, L. Kann, G. Sepehri, H. 1992. Pouvoir lactogene potentiel de quelques extraits de plantes iraniennes. Chariers Agricultures. 1; 35-9.
- Houdebienne, L. Sepehri, H. Sawadogo, L. 1989. Mise en évidence d'un facteur stimulant la sécrétion de prolactine et de l'hormone de croissance dans les reches de brasseire. Reproduction and Nutritional Development. 29; 139-146.
- Joacobs, L. 1974. Methods in Radioimmunoassay: pituitary hormones. Academic Press Inc. New York. pp 574.
- Jacobs, L., Perry HM. Rabbit mammary protein receptors. J Biological Chemistry 253: 1560, 1978.
- Kean, Walker. 1977. Handbook of Radioimmunoassay. Abraham. USA.
- Lamb, I., Strachan, W., Henderson, G., Partridge, G., Fuller, M. y Racey, P. 1993. Effects of naloxone, metoclopramide and domperidone on plasma levels of prolactin and LH following suckling in the female rabbit. Therogenology 39:1201-1208.
- Lawrence, R. 1989. Breastfeeding. 3 edición. Mosby company. Baltimore. pp 641.
- Lopez, C. 1991. Determinación de la acción de *Euphorbia lancifolia* (Ixbut) como planta medicinal galactogoga. Tesis de la Facultad de Ciencias y Humanidades de la Universidad del Valle de Guatemala.
- Mathews, C., van Holde, K. 1988. Biochemistry. Benjamin/Cumming Publish Company Inc. NY. USA. pp 813.
- Mazzaferi, E. 1985. Endocrinology. 3 edición. Medical Examination Publishing Co. New York. pp 839.
- Parlow, A. 1987. Rabbit Prolactin radioimmunoassay. Pituitary Hormones & Antisera Center. Harbor UCLA. Davis.
- Parlow, A. 1987. Rabbit Growth Hormone Radioimmunoassay. Pituitary Hormones & Antisera Center. Harbor UCLA. Davis.
- Reynolds, J. 1989. Martindale, The extra Pharmacopoeia. 29 ed. The pharmaceutical Press, London. pp 1097-1100.

- Rojas, U. 1925. Elementos de botánica general. Guatemala. Tipografía Nacional de Guatemala. pp 689.

- Rosengarten, F. 1982. A Neglected Mayan Galactagogue- Ixbut (*Euphorbia lancifolia*). Journal of Ethnopharmacology, 5, 91-112. Elsevier Sequoia. S.A, Lausanne-Netherlands.

- Turner, D. C. 1949. General Endocrinology. Saunders Co. Philadelphia. pp 527.

11

## **Apéndice A.1      Protocolo de marcaje de prolactina con yodo 125.**

### **Apéndice A.1.a**

Solución de prolactina: se tomaron 50 microlitros de una solución que contenía 0.1 microgramos/microlitro, esto es 5 microgramos de prolactina.

Solución de cloramina T: se tomaron 17 microlitros de una solución 0.575 mg/ml, esto es 10 microgramos de cloramina T.

Actividad del yodo 125: se prepararon 50 microlitros de una solución de yoduro 125 con una actividad de 553 microcuries.

Marcaje: se colocaron las distintas soluciones en un bial de reacción, se agitó ocasionalmente y se dejó reaccionar durante un minuto y medio. Todo este trabajo se realizó en una campana de extracción.

Fin de la reacción: para detener la reacción se agregaron 100 microlitros de una solución buffer de PBS con 1% BSA y con una concentración de 10 mg KI/ml. Además se agregaron 200 microlitros de PBS con 1% BSA.

El producto de la reacción fue transferido a una columna abierta de cromatografía para purificar la prolactina. Ver apéndice A.2.

### **Apéndice A.1.b**

Solución de prolactina: se tomaron 50 microlitros de una solución que contenía 0.1 microgramos/microlitro, esto es 5 microgramos de prolactina.

Solución de cloramina T: se tomaron 17 microlitros de una solución 0.575 mg/ml, esto es 10 microgramos de cloramina T.

Actividad del yodo 125: se prepararon 50 microlitros de una solución de yoduro 125 con una actividad de 154 microcuries.

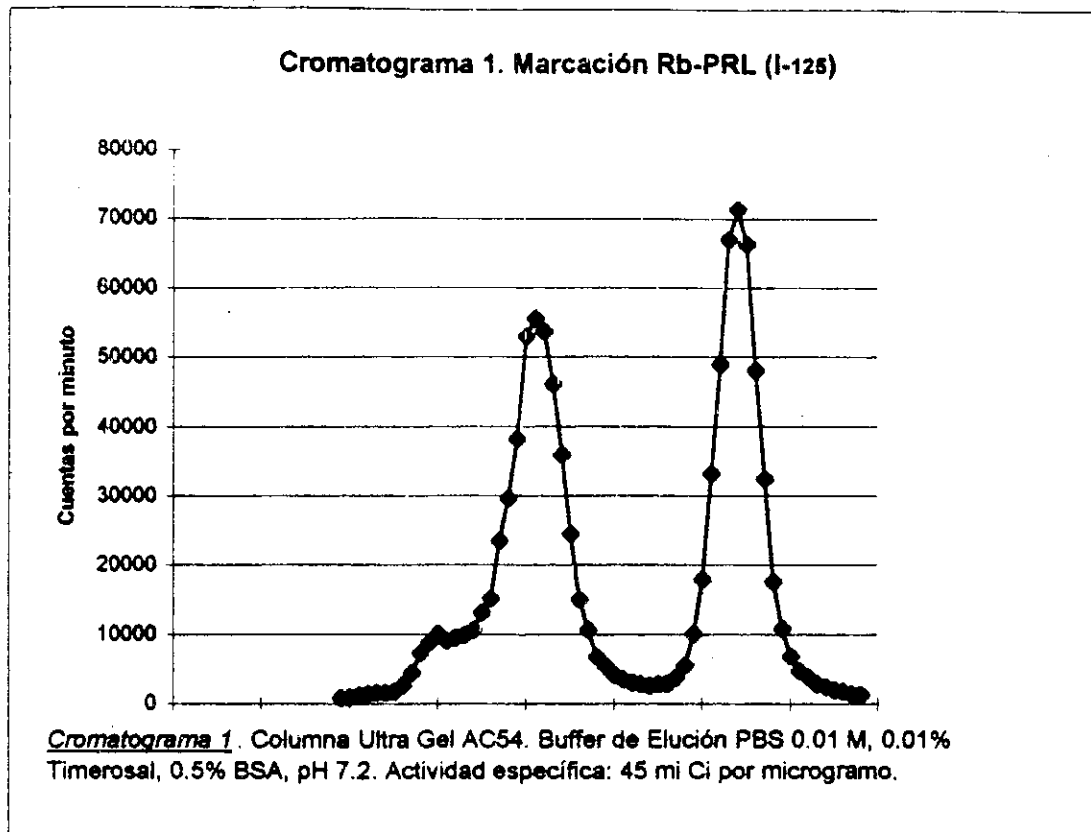
Marcaje: se colocaron las distintas soluciones en un bial de reacción, se agitó ocasionalmente y se dejó reaccionar durante un minuto y medio. Todo este trabajo se realizó en una campana de extracción.

Fin de la reacción: para detener la reacción se agregaron 100 microlitros de una solución buffer de PBS con 1% BSA y con una concentración de 10 mg KI/ml. Además se agregaron 200 microlitros de PBS con 1% BSA.

El producto de la reacción fue transferido a una columna abierta de cromatografía para purificar la prolactina. Ver apéndice A.3.

## Apéndice A.2

## Marcaje de Prolactina

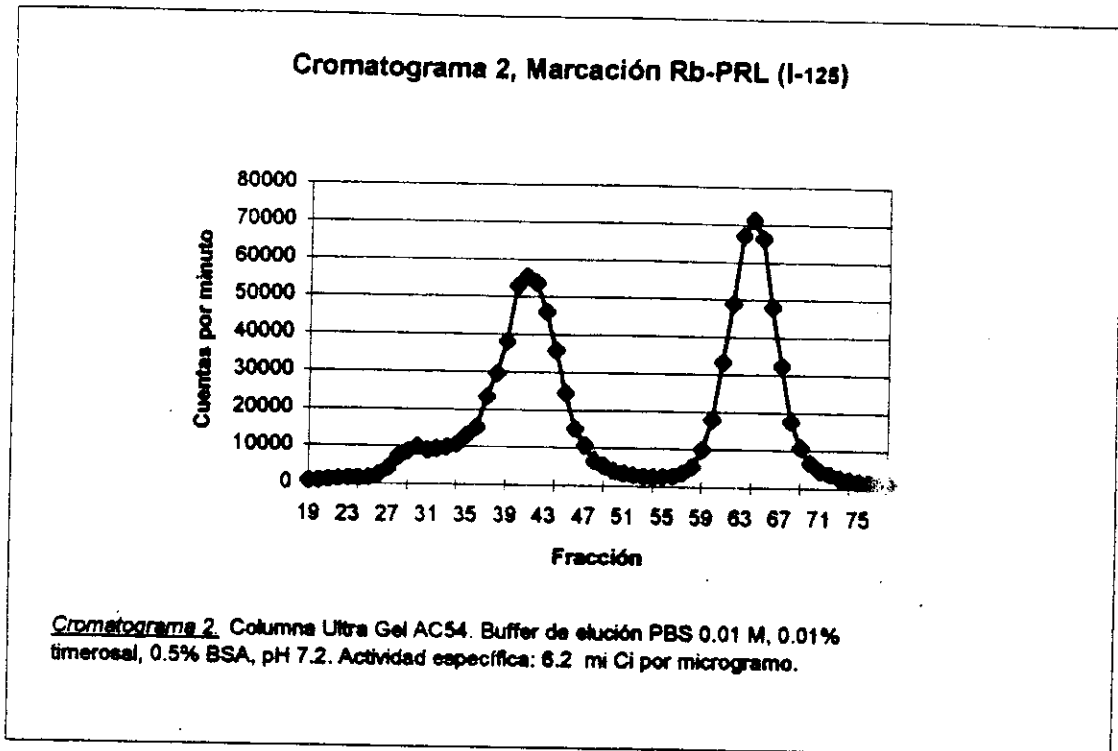


Marcaje de Prolactina	
Fecha	3/7/95
Prolactina	5 microgramos
I 125	553 microcuries
Cloramina T	10 microgramos
Tiempo	1.5 minutos

Remanente	22759 CPM	
	CPM	Actividad microcuries
Total CPM	1009880	553
CPM Marcación	402915	220.63
% Transferido	97.70%	541.94
Prolactina Transferida	4.9 microgramos	
Actividad Específica	45 Ci/gr	

**Apéndice A.3**

**Marcaje de Prolactina**



<b>Marcaje de Prolactina</b>	
Fecha	27/11/1995
Prolactina	5 microgramos
I 125	154 microcuries
Cloramina T	10 microgramos
Tiempo	1.5 minutos

<b>Remanente</b>		<b>5153 CPM</b>
	<b>Actividad</b>	
	<b>CPM</b>	<b>microcuries</b>
<b>Total CPM</b>	169085	154
<b>CPM Marcación</b>	32796	29.87
<b>% Transferido</b>	97. %	149.38
<b>Prolactina Transferida</b>		<b>4.85 microgramos</b>
<b>Actividad Específica</b>		<b>6.2 Ci/gr</b>

## Apéndice A.4 Protocolo para la determinación de los niveles de prolactina

Tubo	Volúmenes de ensayo expresados en microlitros				
	Buffer	Muestra o Muestra	Trazador	Buffer de ensayo	1 Anticuerpo
Cuentas Totales (CT)	0	0	100	0	0
Enlace no específico (NE)	100	0	100	300	0
Enlace Máximo (Max)	100	0	100	200	100
Estándar o muestra	0	100	100	200	100

Luego de haber agregado las soluciones se incubaron los tubos a temperatura ambiente durante 24 horas. Entonces se agregaron 200 microlitros de la solución del segundo anticuerpo.

Se incubó durante una hora a 4 °C. Luego se agregaron 500 microlitros de solución buffer de PBS con PEG al 4 %. Se centrifugó por 30 minutos a 3,000 rpm. A una temperatura de 10 °C. Se decantó y determinó la radioactividad en el tubo como cuentas por minuto (CPM).

El tubo de las cuentas totales no fue centrifugado ni decantado.

### Fórmula para el cálculo del % de enlace

- Se determinó el valor promedio para las CPM del tubo TC.
- Se determinó el valor promedio para las CPM del tubo NE.
- Se determinó el valor promedio para las CPM del tubo MAX.
- El % de enlace máximo está dado por  $100 \cdot (\text{MAX} - \text{EN}) / \text{TC}$ .
- El % de enlace para un tubo (%B/Bo) está dado por:  

$$100 \cdot (\text{CPM}_{(\text{tubo})} - \text{CPM}_{(\text{NE})} / \text{CPM}_{(\text{Max})} - \text{CPM}_{(\text{NE})})$$
- Logit (%B/Bo) está dado por:  

$$\text{Ln} \{ (\% \text{ B/Bo}) / (100 - \% \text{ B/Bo}) \}$$
- Luego se obtuvo la recta de regresión entre Logit (%B/Bo) vrs el logaritmo de la concentración de los estándares.
- A partir del valor Logit se determinó la concentración de hormona en la muestra.

### Especificaciones

Buffer: buffer de PBS 0.01 M (pH7.42) 1% BSA.

Muestra: suero de coneja.

Estándar: solución que contiene prolactina de conejo marcada con yodo 125. No debe tener una concentración mayor a 2 picogramos/ microlitro.

Buffer de ensayo: buffer de PBS 0.01 M (pH7.42), 2% suero normal de rata y 1% BSA.

1 er. Anticuerpo: solución del anticuerpo contra prolactina de conejo, 1:20,000 de acuerdo con lo recomendado por el doctor Parlow.

### Preparación de estándares

- Stock: se reconstituyeron 5,000 ng de prolactina de conejo con 80 ml de agua tridestilada, lo que proporcionó una concentración de 6,250 ng/ml.
- Estándar 194 ng/ml: se diluyeron 16 microlitros de la solución stock en 500 microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 194 ng/ml.
- Estándar de 77.6 ng/ml: se diluyeron 200 microlitros del estándar de 194 microlitros en 300 microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 77.6 ng/ml.
- Estándar de 12.93 ng/ml: se diluyeron 100 microlitros del estándar de 77.6 ng/ml en 500 microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 12.93 ng/ml.
- Estándar de 2.15 ng/ml: se diluyeron 100 microlitros del estándar 12.93 ng/ml en 500 microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 2.15 ng/ml.

Apéndice A.5		Valores de Prolactina Conejas Grupo 1									
		ENSAYO DE CONEJAS 4,6,7									
	CPM1	CPM2	CV	CPM P	B/Bo	$y = -2.42x + 3.32$					
	13743.00	13565.40	0.92	13654.20		$r = -0.997$					
N.E	279.10	237.30	11.45	258.20		Log Conc	Logit	Recalc Conc			
Max	1940.00	2305.70	12.18	2122.85	13.66						
2.15 ng/ml	1930.30	2068.30	4.88	1999.30	93.37	0.332	2.646	1.907			
12.93 ng/ml	1458.40	1329.70	6.53	1394.05	60.91	1.112	0.444	15.412			
77.60 ng/ml	670.20	623.90	5.06	647.05	20.85	1.890	-1.334	83.250			
194.00 ng/ml	474.80	451.00	3.64	462.90	10.98	2.288	-2.093	171.111			
I.D.	CPM	CPM	CV	%B/Bo	%B/Bo	Logit	Logit	Conc.	Conc.	Conc. P.	S.D.
4.0.IXBUT,11	2037.70	2070.00	1.11	95.43	97.17	3.04	3.53	1.31	0.82	1.07	0.35
4.15.IXBUT,11	797.80	859.80	5.29	28.94	32.26	-0.90	-0.74	55.08	47.47	51.27	5.38
4.30.IXBUT,11	1678.40	1589.70	3.84	76.16	71.41	1.16	0.92	7.80	9.85	8.82	1.45
4.0.SALINO,15	1999.30	1849.70	5.50	93.37	85.35	2.65	1.76	1.91	4.41	3.16	1.77
4.15.SALINO,15	746.70	674.80	7.15	26.20	22.34	-1.04	-1.25	62.74	76.59	69.66	9.79
4.30.SALINO,15	957.40	953.10	0.32	37.50	37.27	-0.51	-0.52	38.13	38.49	38.31	0.25
4.60.SALINO,15	969.40	909.10	4.54	38.14	34.91	-0.48	-0.62	37.15	42.41	39.78	3.72
4.0.METO.O.8	2070.00	2070.00	0.00	97.17	97.17	3.53	3.53	0.82	0.82	0.82	0.00
4.15.METO.O.8	421.80	402.70	3.28	8.77	7.75	-2.34	-2.48	216.63	246.31	231.47	20.99
4.30.METO.O.8	546.00	490.90	7.52	15.43	12.48	-1.70	-1.95	117.95	149.08	133.52	22.02
4.60.METO.O.8	604.70	732.90	13.55	18.58	25.48	-1.48	-1.07	95.40	65.08	80.24	21.44
6.0.SALINO,11	2075.60	2118.50	1.45	97.47	99.77	3.65	6.06	0.74	0.07	0.41	0.47
6.15.SALINO,11	521.00	494.00	3.76	14.09	12.65	-1.81	-1.93	130.51	148.96	138.73	11.63
6.30.SALINO,11	643.40	609.00	3.88	20.66	18.81	-1.35	-1.46	84.20	94.04	89.12	6.96
6.60.SALINO,11	692.50	655.70	3.66	23.29	21.32	-1.19	-1.31	72.77	81.08	76.92	5.88
6.0.METO,15	2004.30	2070.00	2.28	93.84	97.17	2.69	3.53	1.83	0.82	1.32	0.71
6.15.METO,15	344.30	330.30	2.93	4.62	3.87	-3.03	-3.21	415.55	495.44	455.49	56.49
6.30.METO,15	404.40	449.80	7.52	7.84	10.28	-2.48	-2.17	243.36	183.56	213.46	42.29
6.60.METO,15	526.70	546.50	2.61	14.40	15.48	-1.78	-1.70	127.44	117.72	122.58	6.88
6.0.IXBUT,8	2014.80	1830.80	6.77	94.21	84.34	2.79	1.68	1.67	4.75	3.21	2.18
6.15.IXBUT,8	745.10	733.90	1.07	26.11	25.51	-1.04	-1.07	63.01	64.91	63.96	1.35
6.30.IXBUT,8	1040.60	1120.50	5.23	41.96	46.24	-0.32	-0.15	31.95	27.09	29.52	3.44
6.60.IXBUT,8	1242.40	1278.70	2.04	52.78	54.73	0.11	0.19	21.13	19.61	20.37	1.07
7.0.METO,11	2082.90	1920.30	5.74	97.86	89.14	3.82	2.10	0.62	3.19	1.91	1.81
7.15.METO,11	375.20	380.40	0.97	6.27	6.55	-2.70	-2.66	305.51	292.33	298.92	9.32
7.30.METO,11	392.40	385.00	1.35	7.20	6.80	-2.56	-2.02	265.72	281.55	273.63	11.19
7.60.METO,11	521.70	589.70	8.79	14.08	17.78	-1.81	-1.53	130.67	100.43	115.55	21.38
7.0.IXBUT,15	2070.00	2084.50	0.49	97.17	97.94	3.53	3.86	0.82	0.60	0.71	0.16
7.15.IXBUT,15	648.00	648.00	0.00	20.90	20.90	-1.33	-1.33	83.01	83.01	83.01	0.00
7.60.IXBUT,15	448.90	466.00	2.64	10.23	11.14	-2.17	-2.08	184.47	168.39	176.43	11.37
7.0.SALINO,8	1590.90	1898.80	12.48	71.47	87.98	0.92	1.99	9.82	3.55	6.69	4.44
7.15.SALINO,8	461.20	478.80	2.65	10.89	11.83	-2.10	-2.01	172.64	157.94	165.29	10.40
7.30.SALINO,8	615.40	595.00	2.38	19.16	18.06	-1.44	-1.51	92.07	98.60	95.34	4.62
7.60.SALINO,8	553.80	529.10	3.23	15.85	14.53	-1.67	-1.77	114.45	126.19	120.32	8.30
4.0.METO,18	2019.80	1966.30	1.90	94.47	91.80	2.84	2.39	1.59	2.43	2.01	0.60
4.15.METO,18	437.80	501.90	9.65	9.63	13.07	-2.24	-1.89	196.50	141.78	169.14	38.70
4.30.METO,18	641.70	510.10	16.16	20.57	13.51	-1.35	-1.86	84.64	136.74	110.69	36.84
4.60.METO,18	667.40	609.60	6.40	21.95	18.85	-1.27	-1.48	78.28	93.85	86.07	11.01
6.0.IXBUT,18	1987.80	1952.80	1.26	92.76	90.88	2.55	2.30	2.09	2.65	2.37	0.40
6.15.IXBUT,18	510.30	496.90	1.88	13.52	12.80	-1.86	-1.92	136.62	145.02	140.82	5.94
6.30.IXBUT,18	512.20	530.40	2.47	13.62	14.80	-1.85	-1.77	135.49	125.52	130.51	7.05
6.60.IXBUT,18	788.00	637.10	14.97	28.41	20.32	-0.92	-1.37	56.43	85.87	71.15	20.81
7.0.SALINO,18	2070.00	2070.00	0.00	97.17	97.17	3.53	3.53	0.82	0.82	0.82	0.00
7.15.SALINO,18	457.00	500.00	8.35	10.66	12.97	-2.13	-1.90	176.52	142.99	159.76	23.71
7.30.SALINO,18	554.30	556.70	0.31	15.88	16.01	-1.67	-1.66	114.24	113.20	113.72	0.73
7.60.SALINO,18	622.70	622.70	0.00	19.55	19.55	-1.41	-1.41	89.90	89.90	89.90	0.00

ID= Identificación de la Muestra: (# coneja, Tiempo Lectura, Fármaco, Días post parto)





## **Apéndice B.1      Protocolo de marcaje de la hormona del crecimiento.**

Solución de hormona del crecimiento: se utilizaron 100 microlitros de una solución 0.1 microgramos/microlitro.

Solución de cloramina T: se tomaron 10 microlitros de una solución de 0.004 mg/microlitro, esto equivale a 40 microgramos de cloramina T.

Actividad del yodo 125: se prepararon 50 microlitros de una solución de yoduro 125, con actividad de 718 microcuries.

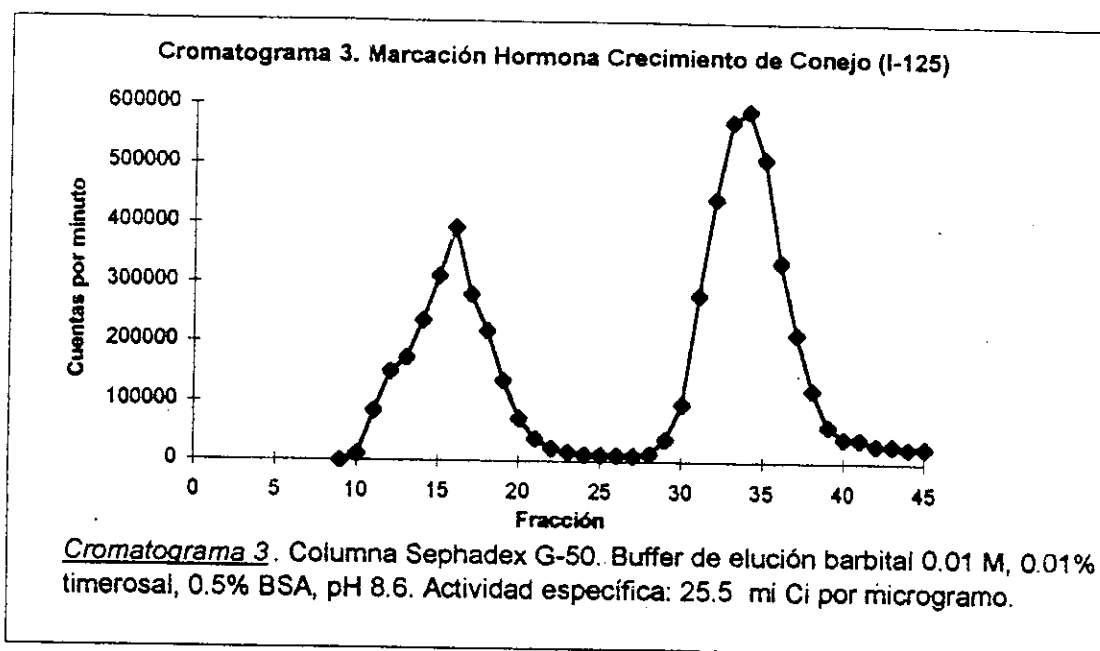
Marcaje: se colocaron las distintas soluciones en un bial de reacción, se agitó ocasionalmente y se dejó reaccionar durante un minuto y medio. La reacción se llevó a cabo bajo una campana de extracción.

Fin de la reacción: para detener la reacción se agregaron 10 microlitros de una solución buffer de PBS, con metabisulfito (0.012 microgramos/microlitro) y 100 microlitros de una solución PBS con 1% BSA y 10 mg KI/ml

El producto de la reacción fue transferido a una columna abierta de cromatografía para purificar la hormona marcada.

## Apéndice B.2

## Marcaje Hormona del Crecimiento



Marcaje de Hormona de Crecimiento	
Fecha	29-1-96
H. Crecimiento	10 microgramos
I 125	718 Curies
Cloramina T	40 microgramos
Tiempo	1.5 minutos

Remanente		
	CPM	Actividad microcuries
Total CPM	6097867	718
CPM Marcación	2012819	237
% Transferido	93	667.74
H. Crecimiento Transferida	9.3 microgramos	
Actividad Específica	25.5 Ci/gr	

### Apéndice B.3

### Protocolo para la determinación de los niveles de hormona del crecimiento

Tubo	Volúmenes de ensayo expresados en microlitros				
	Buffer	Muestra o muestra	Trazador	Buffer de ensayo	1 Anticuerpo
Cuentas Totales (CT)	0	0	100	0	0
Enlace no específico (NE)	50	0	100	350	0
Enlace Máximo (Max)	50	0	100	250	100
Estándar o muestra	0	50	100	250	100

Luego de haber agregado las soluciones se incubaron los tubos a temperatura ambiente durante 24 horas. Entonces se agregaron 200 microlitros de la solución del segundo anticuerpo.

Se incubó durante una hora a 4 °C. Luego se agregaron 500 microlitros de solución buffer de PBS con PEG al 4 %. Se centrifugó por 30 minutos a 3,000 rpm. A una temperatura de 10 °C. Se decantó y determinó la radioactividad en el tubo como cuentas por minuto (CPM).

El tubo de las cuentas totales no fue centrifugado ni decantado.

#### Fórmula para el cálculo del % de enlace

Ver Apéndice A.4

#### Especificaciones

Buffer: buffer de PBS 0.01 M (pH7.42) 1% BSA.

Muestra: suero de coneja.

Estándar: solución que contiene prolactina de conejo marcada con yodo 125.

Trazador: solución de hormona con una concentración no mayor a 2 picogramos/ microlitro.

Buffer de ensayo: buffer de PBS 0.01 M (pH7.42), 2% suero normal de rata y 1% BSA.

1<sup>er</sup>. Anticuerpo: solución del anticuerpo contra hormona de crecimiento de conejo, 1:20,000 de acuerdo con lo recomendado por el doctor Parlow.

#### Preparación de estándares

- Hormona del crecimiento (HC): se reconstituyeron 138,000 ng de HC de conejo con 1.38 ml de una solución 0.01 M de bicarbonato, lo que proporcionó una concentración de 100 ng/ml.
- Stock: 100 microlitros de la solución anterior se diluyeron en 99° microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 0.01 microgramos/microlitro.
- Estándar de 100 ng/ml: se diluyeron 10 microlitros del estándar anterior en microlitros en 990 microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 100 ng/ml.
- Estándar de 50 ng/ml: se diluyeron 200 microlitros del estándar de 100 ng/ml en 200 microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 50 ng/ml.
- Estándar de 25 ng/ml: se diluyeron 200 microlitros del estándar 50 ng/ml en 200 microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 25 ng/ml.
- Estándar de 12.5 ng/ml: se diluyeron 200 microlitros del estándar 25 ng/ml en 200 microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 12.5 ng/ml.
- Estándar de 6.25 ng/ml: se diluyeron 200 microlitros del estándar 25 ng/ml en 200 microlitros de buffer, lo que proporcionó una solución de 6.25 ng/ml.

Apendice B.4											Valores de Hormona del Crecimiento Grupo 1			
											Conejas 4,6,7			
	CPM-1	CPM-2	C.V.	AVG CPM	$y = -2.34x + 3.37$									
TC	24442	24611	0.49	24526.50	$r = -0.989$									
ENE	3237	2723	12.20	2980.00	ne/tc	12.150								
MAX	6435	6546	1.21	6490.50	B/tc	14.313	Conc.	log Conc	Logit	Recalc				
6.25 ng/ml	5925	5904	0.25	5914.50	83.58		6.250	0.80	1.63	5.60				
12.50 ng/ml	5162	5277	1.56	5219.50	63.79		12.500	1.10	0.57	15.92				
25.00 ng/ml	4767	5201	6.16	4984.00	57.08		25.000	1.40	0.29	21.00				
50.00 ng/ml	4053	4299	4.17	4176.00	34.06		50.000	1.70	-0.68	53.27				
100.00 ng/ml	3744	3745	0.02	3744.50	21.77		100.000	2.00	-1.28	97.94				
I.D.	CPM	CPM	CV	% B/B <sub>0</sub>	% B/B <sub>0</sub>	Logit	Logit	Conc	Conc	Prom	STD			
4,15,METO,8	3909	3902	0.13	26.46	26.26	-1.02	-1.03	76.07	76.84	73.45	0.55			
4,60,METO,18	4968	5055	1.23	56.62	59.10	0.27	0.37	21.38	19.35	20.36	1.44			
4,30,IXBUT,11	5218	5347	1.73	63.74	67.42	0.56	0.73	15.95	13.59	14.77	1.67			
4,30,METO,18	5303	4864	6.11	66.16	53.66	0.67	0.15	14.36	24.06	19.21	6.86			
7,0,SALINO,8	5591	5379	2.73	74.37	66.33	1.07	0.77	9.74	13.04	11.39	2.33			
7,0,SALINO,18	4980	4934	0.96	56.96	55.65	0.28	0.23	21.09	22.23	21.66	0.80			
4,0,IXBUT,11	5373	5291	1.09	66.16	65.82	0.78	0.66	13.14	14.58	13.66	1.02			
4,0,METO,8	5220	4843	5.30	63.80	53.06	0.57	0.12	15.91	24.84	20.27	6.17			
4,60,METO,8	5042	5209	2.30	58.73	63.49	0.35	0.55	19.84	16.12	17.66	2.49			
6,30,IXBUT,8	4986	4800	2.69	57.13	51.84	0.29	0.07	20.95	25.66	23.40	3.47			
6,15,IXBUT,18	5395	4760	8.84	66.78	50.70	0.79	0.03	12.77	27.05	19.91	10.09			
7,30,METO,11	4895	4696	2.93	54.54	48.87	0.18	-0.05	23.23	29.06	26.15	4.12			
7,30,SALINO,8	5045	4997	0.88	58.82	57.45	0.36	0.30	19.57	20.69	20.13	0.79			
4,30,METO,8	4817	4654	0.56	48.62	47.66	-0.14	-0.09	31.76	30.46	31.11	0.92			
7,80,SALINO,16	5061	5061	0.00	59.27	59.27	0.36	0.36	19.21	19.21	19.21	0.00			
7,15,IXBUT,15	5078	5041	0.52	59.76	58.70	0.40	0.35	18.84	19.66	19.25	0.58			
7,0,IXBUT,15	4621	4621	0.00	46.74	46.74	-0.13	-0.13	31.82	31.82	31.82	0.00			
7,30,SALINO,18	4950	4722	3.33	56.11	49.62	0.25	-0.02	21.83	26.22	25.03	4.52			
6,15,METO,15	3981	4062	1.42	26.51	30.82	-0.92	-0.81	66.74	61.64	65.19	5.02			
6,15,SALINO,11	4586	4735	2.23	45.80	49.99	-0.17	0.00	32.81	27.81	30.31	3.54			
7,15,METO,11	3784	3705	1.49	22.90	20.65	-1.21	-1.35	91.66	104.85	96.27	9.03			
7,80,METO,11	4678	4174	8.05	48.36	34.01	-0.07	-0.66	29.65	53.40	41.53	16.79			
6,80,IXBUT,8	4958	4517	6.58	56.34	43.76	0.25	-0.25	21.63	35.57	28.80	9.66			
6,0,IXBUT,8	4570	4776	3.12	45.29	51.15	-0.19	0.05	33.49	26.56	30.03	4.90			
6,0,METO,15	4844	4931	1.26	53.09	55.57	0.12	-0.22	24.61	22.30	23.46	1.63			
6,60,METO,15	4923	4873	0.72	55.34	53.92	0.21	0.16	22.51	23.82	23.16	0.93			
6,30,METO,15	4873	5084	3.00	53.92	59.93	0.16	0.40	23.92	18.70	21.26	3.82			
6,30,IXBUT,15	4496	4752	3.91	43.18	50.47	-0.27	0.02	36.43	27.29	31.66	6.46			
7,15,SALINO,8	4375	4352	0.37	39.73	39.08	-0.42	-0.44	41.90	43.05	42.47	0.81			
6,60,IXBUT,16	4833	4883	0.76	47.06	46.50	-0.12	-0.06	31.19	29.49	30.34	1.21			
6,30,SALINO,11	5005	4952	0.75	57.66	56.17	0.31	0.25	20.50	21.78	21.14	0.91			
7,15,SALINO,18	4201	4156	0.78	34.78	33.49	-0.63	-0.69	51.84	54.62	53.13	2.11			
6,60,SALINO,11	5335	4869	6.17	67.07	54.37	0.71	0.18	13.79	23.39	18.59	6.79			
7,60,SALINO,8	4942	4915	0.39	55.66	55.11	0.24	0.21	22.03	22.71	22.37	0.46			
6,0,SALINO,11	4928	4946	0.26	55.48	56.00	0.22	0.24	22.38	21.93	22.15	0.32			
4,0,SALINO,15	4790	5103	4.47	51.55	60.47	0.06	0.42	26.15	18.29	22.22	5.56			
4,15,SALINO,15	4523	4430	1.47	43.95	41.30	-0.24	-0.35	35.32	39.30	37.31	2.81			
4,30,SALINO,15	4884	5125	3.41	54.23	61.09	0.17	0.45	23.52	17.83	20.67	4.03			
4,60,SALINO,15	5756	5462	3.71	79.07	70.69	1.33	0.69	7.51	11.68	9.60	2.95			
7,0,METO,11	5362	5316	0.87	68.41	66.53	0.77	0.69	12.99	14.13	13.56	0.81			
6,0,IXBUT,18	5466	5637	1.92	71.38	75.66	0.91	1.14	11.30	9.09	10.20	1.57			
7,60,IXBUT,15	5221	5117	1.42	63.83	60.87	0.57	0.44	15.89	17.99	16.94	1.49			
6,15,IXBUT,8	4946	5033	1.23	56.00	58.47	0.24	0.34	21.93	19.85	20.69	1.47			
4,15,IXBUT,11	5180	5180	0.00	62.66	62.66	0.52	0.52	16.70	16.70	16.70	0.00			
4,15,METO,18	3713	3740	0.51	20.66	21.65	-1.33	-1.29	103.24	98.67	100.95	3.23			
4,0,METO,18	5212	5212	0.00	83.57	63.57	0.56	0.56	16.07	16.07	16.07	0.00			
I.D. = Identificación de coneja (#coneja, Tiempo de lectura, Fármaco, Días post parto)														

**Apendice B.5**

**Valores de Hormona de Crecimiento Grupo 2**

		Conejas 1,2								
	CPM-1	CPM-2	C.V.	AVG CPM	$y = -2.39x + 3.46$ $r = -0.985$					
CT	13043	12211	4.66	12626.75						
ENE	1577.3	1436.8	6.59	1507.05	ne/tc	11.935				
MAX	5041.5	4807.2	3.36	4924.35	B/tc	27.064	Conc.	Log Conc.	Logit	Recalc
6.25 ng/ml	4403	4419.8	0.27	4411.40	85.00		6.250	0.79	1.73	5.27
12.50 ng/ml	3669	3650.2	0.36	3659.60	63.00		12.500	1.10	0.53	16.79
25.00 ng/ml	3459.4	3449.9	0.19	3454.65	57.00		25.000	1.40	0.28	21.37
50.00 ng/ml	2679.5	2658	0.57	2668.75	34.00		50.000	1.70	-0.66	53.12
100.00 ng/ml	2247.9	2269.5	0.68	2258.70	22.00		100.000	2.00	-1.27	94.91

I.D.	CPM	CPM	% CV	% B/Bo	% B/Bo	Logit	Logit	Conc	Conc	Prom	STD
1,0,IXBUT,7	3894	3981	1.56	69.84	72.39	0.840	0.964	12.48	11.08	11.78	1.00
1,15,IXBUT,7	3859	3908	0.90	68.82	70.27	0.792	0.860	13.08	12.24	12.66	0.59
1,30,IXBUT,7	4103	4239	2.31	75.96	79.94	1.150	1.382	9.26	7.40	8.33	1.31
1,60,IXBUT,7	3906	3980	1.34	70.19	72.38	0.856	0.963	12.28	11.08	11.68	0.85
1,90,IXBUT,7	4220	3977	4.21	79.40	72.27	1.349	0.958	7.84	11.14	9.39	2.48
2,0,METO,7	4057	3734	5.88	74.63	65.15	1.079	0.626	9.92	15.34	12.63	3.64
2,15,METO,7	2817	2856	0.98	38.32	39.47	-0.476	-0.427	44.34	42.32	43.33	1.43
2,30,METO,7	4208	4215	0.12	79.03	79.24	1.327	1.339	7.81	7.72	7.76	0.07
2,60,METO,7	3955	3779	3.21	71.62	66.48	0.926	0.685	11.49	14.49	12.99	2.12
1,0,METO,10	4220	4132	1.50	79.39	76.80	1.349	1.197	7.65	8.85	8.25	0.85
1,15,METO,10	3384	3429	0.94	54.92	56.24	0.197	0.251	23.18	22.01	22.60	0.33
1,30,METO,10	3647	3640	0.13	62.62	62.41	0.516	0.507	17.06	17.20	17.13	0.10
1,60,METO,10	4017	3991	0.46	73.44	72.68	1.017	0.979	10.52	10.92	10.72	0.28
2,0,SALINO,10	3928	4061	2.40	70.77	74.74	0.884	1.085	11.96	9.86	10.91	1.49
2,15,SALINO,10	3946	3627	5.97	71.37	62.02	0.914	0.491	11.63	17.48	14.55	4.14
2,30,SALINO,10	4303	4059	4.13	81.81	74.67	1.503	1.081	6.59	9.89	8.24	2.34
2,60,SALINO,10	4108	3658	8.20	76.12	62.95	1.159	0.530	9.17	16.82	13.00	5.41
1,0,SALINO,14	3757	3861	1.94	65.84	68.90	0.656	0.795	14.90	13.03	13.96	1.32
1,15,SALINO,14	4072	3901	3.05	75.07	70.04	1.102	0.849	9.69	12.37	11.03	1.89
1,30,SALINO,14	3963	3968	0.10	71.86	72.01	0.937	0.945	11.36	11.28	11.32	0.06
1,60,SALINO,14	3696	3954	4.76	64.06	71.59	0.578	0.924	16.06	11.51	13.79	3.22
2,0,IXBUT,14	3877	4051	3.10	69.36	74.45	0.817	1.069	12.76	10.01	11.38	1.95
2,15,IXBUT,14	4208	4197	0.19	79.04	78.72	1.328	1.308	7.80	7.95	7.88	0.10
1,0,IXBUT,20	4015	4181	2.87	73.39	78.25	1.014	1.280	10.55	8.17	9.36	1.69
1,15,IXBUT,20	3995	4087	1.60	72.82	75.50	0.985	1.125	10.85	9.48	10.17	0.97
1,30,IXBUT,20	4322	4041	4.75	82.37	74.15	1.542	1.054	6.35	10.18	8.25	2.69
1,60,IXBUT,20	3686	3942	4.75	63.76	71.25	0.565	0.908	16.27	11.69	13.98	3.23
2,0,METO,20	4095	3873	3.95	75.74	69.23	1.138	0.811	9.36	12.84	11.10	2.46
2,15,METO,20	3368	3279	1.90	54.47	51.85	0.179	0.074	23.59	26.11	24.85	1.78
2,30,METO,20	4294	4300	0.09	81.57	81.73	1.487	1.498	6.69	6.62	6.65	0.05
2,60,METO,20	3919	3729	3.52	70.57	65.01	0.875	0.619	12.07	15.44	13.75	2.38

I.D. = Identificación de coneja (#coneja, Tiempo de lectura, Fármaco, Dias post parto)

Apéndice B.6		Valores de Hormona del Crecimiento Grupo 3										
		Conejas 8,9,10										
	CPM-1	CPM-2	C.V.	AVG CPM								
CT	13456.8	12948	2.73	13202.20								
ENE	1146.4	1210.1	3.82	1178.25	ne/tc	8.925						
MAX	4237.2	4455.6	3.55	4346.40	B/tc	23.997						
6.25 ng/ml	3860.8	3881.2	0.37	3871.00	85.01			6.250	0.80	1.74	5.82	
12.50 ng/ml	3315.3	3286.3	0.62	3300.80	67.01			12.500	1.10	0.71	14.59	
25.00 ng/ml	2948	3020	1.71	2984.00	57.01			25.000	1.40	0.28	21.37	
50.00 ng/ml	2180.5	2140.1	1.32	2160.30	31.01			50.000	1.70	-0.80	56.35	
100.00 ng/ml	1830.5	1793.1	1.46	1811.80	20.01			100.000	2.00	-1.39	95.27	
I.D.	CPM	CPM	CV	% B/Bo	% B/Bo	Logit	Logit	Conc	Conc	Prom	STD	
8,0,IXBUT,8	3140.9	3489.8	7.44	61.95	72.96	0.487	0.993	17.78	11.31	14.55	4.58	
8,15,IXBUT,8	3364	3476.8	2.33	68.99	72.55	0.800	0.972	13.44	11.52	12.48	1.36	
8,30,IXBUT,8	3508	3672.9	3.25	73.54	78.74	1.022	1.309	11.02	8.52	9.77	1.77	
8,60,IXBUT,8	3614.6	3678.8	1.24	76.90	78.92	1.203	1.320	9.37	8.43	8.90	0.86	
9,0,METO,8	3624.7	3550.1	1.47	77.22	74.87	1.221	1.091	9.22	10.35	9.79	0.80	
9,15,METO,8	2102	2110.8	0.30	29.16	29.44	-0.888	-0.874	60.97	60.24	60.61	0.51	
9,30,METO,8	2378.6	2456.3	2.27	37.89	40.34	-0.494	-0.391	42.86	39.08	40.97	2.67	
9,60,METO,8	3276.9	3370.8	2.00	66.24	69.21	0.674	0.810	15.04	13.32	14.18	1.22	
10,0,SALINO,8	3568.7	3655.9	1.71	75.45	78.20	1.123	1.278	10.08	8.76	9.41	0.92	
10,15,SALINO,8	2861.5	2650.7	5.41	53.13	46.48	0.125	-0.141	24.60	31.23	27.92	4.69	
10,30,SALINO,8	3421	3512.8	1.87	70.79	73.69	0.885	1.030	12.45	10.94	11.70	1.07	
10,60,SALINO,8	3383.4	3302	1.72	69.60	67.03	0.828	0.710	13.10	14.57	13.84	1.04	
8,0,METO,11	3349.4	3342	0.16	68.53	68.30	0.778	0.767	13.70	13.84	13.77	0.09	
8,15,METO,11	2765.8	2747	0.48	50.11	49.52	0.004	-0.019	27.41	28.00	27.71	0.42	
8,30,METO,11	3380	3112.9	5.82	69.50	61.07	0.823	0.450	13.16	18.39	15.78	3.70	
8,60,METO,11	3460	3513	1.07	72.02	73.69	0.946	1.030	11.80	10.94	11.37	0.61	
9,0,SALINO,11	3473.9	3296.5	3.71	72.46	66.86	0.967	0.702	11.57	14.67	13.12	2.20	
9,15,SALINO,11	2088	1972.1	4.04	28.72	25.06	-0.909	-1.096	62.16	73.45	67.80	7.98	
9,30,SALINO,11	3395.7	3546.8	3.08	69.99	74.76	0.847	1.066	12.89	10.40	11.64	1.76	
60,9SALINO,11	3449.7	3287.4	3.41	71.70	66.57	0.929	0.669	11.97	14.85	13.41	2.03	
10,0,IXBUT,11	3426.2	3213.4	4.57	71.02	64.24	0.896	0.586	12.33	16.29	14.31	2.80	
10,15,IXBUT,11	3361.6	3676.6	6.33	68.92	78.86	0.796	1.316	13.49	8.46	10.97	3.55	
10,30,IXBUT,11	3464.5	3295.1	3.54	72.16	66.82	0.953	0.700	11.72	14.70	13.21	2.11	
10,60,IXBUT,11	3115.1	3378.7	5.74	61.14	69.46	0.453	0.621	18.34	13.18	15.76	3.65	
8,0,SALINO,15	3569.8	3662	1.60	75.49	78.40	1.125	1.289	10.05	8.67	9.36	0.97	
8,15,SALINO,15	3169.2	3026.2	3.22	62.84	58.39	0.525	0.339	17.19	20.32	18.75	2.21	
8,30,SALINO,15	3186.7	3405.2	4.69	63.40	70.29	0.549	0.861	16.83	12.72	14.77	2.90	
8,60,SALINO,15	3441.5	3379.6	1.28	71.44	69.48	0.917	0.823	12.11	13.17	12.64	0.75	
10,30,METO,15	3092.6	3013.6	1.83	60.42	57.93	0.423	0.320	18.84	20.66	19.75	1.29	
10,15,METO,15	1915.8	1779.8	5.20	23.28	18.99	-1.193	-1.451	80.12	100.97	90.55	14.75	
9,30,IXBUT,15	3419.9	3383.7	0.75	70.76	69.61	0.884	0.829	12.47	13.10	12.78	0.44	
9,15,IXBUT,15	2014.6	1967	1.70	26.40	24.90	-1.025	-1.104	68.95	74.02	71.48	3.58	
10,0,METO,15	3431	3535	2.11	71.11	74.39	0.901	1.066	12.28	10.59	11.43	1.20	
10,60,METO,15	3318.5	3258	1.30	67.56	65.65	0.733	0.648	14.27	15.41	14.84	0.81	
9,60,IXBUT,15	3219.6	3759.8	10.9	64.43	81.48	0.594	1.482	16.16	7.30	11.73	6.27	
9,0,IXBUT,15	3354.3	3401.2	0.98	68.69	70.17	0.785	0.855	13.62	12.79	13.20	0.58	
I.D. = Identificación de coneja ( # coneja, Tiempo de lectura, Fármaco, Días post parto)												

**Apéndice C.1 Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de prolactina, tiempo de lectura 0 minutos. (Fármaco-Efecto)**

----- ONEWAY -----

Variable PROLAC

By Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	2597.4998	1298.7499	2.1017	.1425
Within Groups	26	16067.0310	617.9627		
Total	28	18664.5308			

----- ONEWAY -----

Variable PROLAC

By Variable FARM

Multiple Range Test

Scheffé-B Procedure  
 Critical Values for the .050 level -

3.21 3.51

Values above are table ranges.  
 Critical value actually compared with  $\text{Mean}(J) - \text{Mean}(I)$  is..  
 $17.5779 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

Two groups are significantly different at the .050 level

**Apéndice C.2 Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de prolactina, tiempo de lectura 15 minutos. (Fármaco-Efecto)**

----- O N E W A Y -----

Variable PROLAC

By Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	569659.3042	284829.6521	10.2743	.0005
Within Groups	26	720786.9055	27722.5733		
Total	28	1290446.210			

----- O N E W A Y -----

Variable PROLAC

By Variable FARM

LSD Procedure

ranges for the .050 level -

3.21 3.51

the ranges above are table ranges.

the value actually compared with  $\text{Mean}(J) - \text{Mean}(I)$  is..

$$117.7340 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$$

\* Denotes pairs of groups significantly different at the .050 level

----- O N E W A Y -----

Variable PROLAC

(Continued)

Mean	Group	1	2	3
71.9351	Grp 1			
152.6225	Grp 2			
396.9326	Grp 3	*	*	

**Apéndice C.3 Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de prolactina, tiempo de lectura 30 minutos. (Fármaco-Efecto)**

----- ONEWAY -----

Variable PROLAC  
 BY Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	157300.7656	78650.3828	6.2859	.0064
Within Groups	24	300294.8069	12512.2836		
Total	26	457595.5725			

----- ONEWAY -----

Variable PROLAC  
 BY Variable FARM  
 Tukey-B Procedure  
 Tests for the .050 level -

3.22 3.52

ranges above are table ranges.  
 value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..  
 $79.0958 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

Denotes pairs of groups significantly different at the .050 level

----- ONEWAY -----

Variable PROLAC  
 (Continued)

Mean	Group	1	2	3
54.7408	Grp 1			
91.3676	Grp 2			
229.3109	Grp 3	*	*	

**Apéndice C.4 Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de prolactina, tiempo de lectura 60 minutos. (Fármaco-Efecto)**

----- O N E W A Y -----

Variable PROLAC

By Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	10869.8091	5434.9046	2.0898	.1457
Within Groups	24	62415.9844	2600.6660		
Total	26	73285.7935			

Multiple Range Test

Tukey-B Procedure

Ranges for the .050 level -

3.22 3.52

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..

$$36.0601 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$$

So two groups are significantly different at the .050 level

**Apéndice C.5 Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento, tiempo de lectura 0 minutos. (Fármaco-Efecto)**

----- O N E W A Y -----

Variable CONC

By Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	20.0066	10.0033	.2548	.7770
Within Groups	26	1020.8885	39.2649		
Total	28	1040.8951			

----- O N E W A Y -----

Variable CONC

By Variable FARM

Multiple Range Test

Key-B Procedure

ranges for the .050 level -

3.21 3.51

ranges above are table ranges.

value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..

$$4.4309 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$$

two groups are significantly different at the .050 level

**Apéndice C.6 Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento, tiempo de lectura 15 minutos. (Fármaco-Efecto)**

----- O N E W A Y -----

Variable CONC

By Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	8627.5223	4313.7611	7.9019	.0021
Within Groups	26	14193.7241	545.9125		
Total	28	22821.2464			

----- O N E W A Y -----

Variable CONC

By Variable FARM

Multiple Range Test

Scheffé-B Procedure  
 Critical values for the .050 level -

3.21 3.51

Values above are table ranges.  
 Critical value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..  
 $16.5214 * \text{Range} * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$

Denotes pairs of groups significantly different at the .050 level

----- O N E W A Y -----

Variable CONC  
 (Continued)

Mean	Group	1	2	3
20.2380	Grp 1			
33.6982	Grp 2			
61.0499	Grp 3	*	*	

**Apéndice C.7 Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento, tiempo de lectura 30 minutos. (Fármaco-Efecto)**

----- O N E W A Y -----

Variable CONC  
By Variable FARM

Analysis of Variance					
Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	151.8776	75.9388	1.0712	.3584
Within Groups	24	1701.3493	70.8896		
Total	26	1853.2269			

----- O N E W A Y -----

Variable CONC  
By Variable FARM

**Multiple Range Test**

**Scheffé-B Procedure**  
Ranges for the .050 level -

3.22 3.52

The ranges above are table ranges.  
The value actually compared with  $\text{Mean}(J) - \text{Mean}(I)$  is..  
 $5.9536 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

Two groups are significantly different at the .050 level

**Apéndice C.8 Análisis de varianza de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento, tiempo de lectura 60 minutos. (Fármaco-Efecto)**

----- O N E W A Y -----

Variable CONC  
By Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	42.0536	21.0268	.3313	.6870
Within Groups	24	1323.5193	55.1466		
Total	26	1365.5728			

----- O N E W A Y -----

Variable CONC  
By Variable FARM

Multiple Range Test

Scheffé-B Procedure  
Critical Values for the .050 level -

3.22 3.52

Values above are table ranges.  
Critical value actually compared with  $\text{Mean}(J) - \text{Mean}(I)$  is..  
 $5.2510 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

Two groups are significantly different at the .050 level

**Apéndice C.9 Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, tiempo de lectura 15 minutos. (Fármaco-Efecto)**

Independent samples of FARM

Group 1: FARM EQ IXBUT                      Group 2: FARM EQ SALINO

t-test for: PROLAC

		Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error			
Group 1		10	71.9351	37.922	11.992			
Group 2		9	152.6235	69.776	23.259			
		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate			
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	
3.39	.088	-3.18	17	.005	-3.08	12.06	.009	

**Apéndice C.10 Análisis de t-student para valores de concentración de hormona de crecimiento, tiempo de lectura 15 minutos (Fármaco-Efecto)**

Independent samples of FARM

Group 1: FARM EQ IXBUT                      Group 2: FARM EQ SALINO

t-test for: CONC

		Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error			
Group 1		10	20.2380	18.552	5.867			
Group 2		9	33.6982	18.639	6.213			
		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate			
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	
1.01	.979	-1.58	17	.134	-1.58	16.77	.134	

**Apéndice C.11 Análisis de varianza de una vía de una vía para valores de concentración de prolactina, de las distintas dosis de Ixbut (5, 20 y 200 mg/kg), tiempo de lectura 15 minutos. (Dosis Ixbut-Efecto)**

----- O N E W A Y -----

Variable PROLAC

By Variable DOSIS

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	1097.4019	548.7009	.3242	.7334
Within Groups	7	11845.7732	1692.2533		
Total	9	12943.1750			

ay-B Procedure  
 ranges for the .050 level -

4.12 4.60

the ranges above are table ranges.  
 the value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..  
 $36.1266 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

two groups are significantly different at the .050 level

Apéndice C.12 Análisis de varianza de una vía de una vía para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las distintas dosis de Ixbut (5, 20 y 200 mg/kg), tiempo de lectura 15 minutos. (Dosis Ixbut-Efecto)

----- O N E W A Y -----

Variable HCRECI

Variable DOSIS

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Groups	2	694.7391	347.3695	1.0121	.4111
Groups	7	2402.6230	343.2319		
	9	3097.3621			

MORE

----- O N E W A Y -----

Variable HCRECI

Variable DOSIS

Range Test

Procedure

the .050 level -

3.76 4.16

Values above are table ranges.

Values actually compared with  $\text{Mean}(J) - \text{Mean}(I)$  is..

$.1002 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

**Apéndice C.13** Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 0 minutos. (Dosis de Ixbut-efecto)

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ LX BUT (5 mg/kg)      Group 2: DOSIS EQ IX BUT (20 mg/kg)

t-test for: PROLAC

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	4	1.8400	1.159	.579
Group 2	3	26.2367	26.603	15.359

F Value	2-Tail Prob.	Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
		t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
527.14	.000	-1.90	5	.116	-1.59	2.01	.253

**Apéndice C.14** Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 15 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ LX BUT (5 mg/kg)      Group 2: DOSIS EQ IX BUT (20 mg/kg)

t-test for: PROLAC

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	14	55.9443	58.328	15.589
Group 2	10	47.1350	28.049	8.870

F Value	2-Tail Prob.	Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
		t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
4.32	.034	.44	22	.664	.49	19.78	.629

**Apéndice C.15 Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 30 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ IXBUT (5mg/kg) Group 2: DOSIS EQ IXBUT (20 mg/kg)

t-test for: PROLAC

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	3	56.2833	65.110	37.591
Group 2	2	53.3900	37.463	26.490

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
3.02	.754	.06	3	.959	.06	3.00	.954

**Apéndice C.16** Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 60 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ IXBUT (5 mg/kg)      Group 2: DOSIS EQ IXBUT (20mg/kg)

t-test for: PROLAC

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	3	89.3167	79.600	45.957
Group 2	2	48.1150	10.501	7.425

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
57.47	.186	.69	3	.539	.89	2.10	.466

**Apéndice C.17 Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 0 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ IXBUT (5 mg/kg) Group 2: DOSIS EQ IXBUT (200 mg/kg)

t-test for: PROLAC

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	4	1.8400	1.159	.579
Group 2	3	16.5067	25.683	14.828

Val	2-Tail Prob.	Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
		t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
491.32	.000	-1.18	5	.291	-.99	2.01	.427

**Apéndice C.18 Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 15 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ IXBUT (5mg/kg) Group 2: DOSIS EQ IXBUT (200 mg/kg)

t-test for: PROLAC

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	14	55.9443	58.328	15.589
Group 2	12	41.7758	37.445	10.809

F Value	2-Tail Prob.	Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
		t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
2.43	.149	.72	24	.477	.75	22.39	.463

**Apéndice C.19 Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 30 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ IXBUT (5mg/kg)      Group 2: DOSIS EQ IXBUT (200 mg/kg)

t-test for: PROLAC

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	3	56.2833	65.110	37.591
Group 2	3	54.1033	39.807	22.983

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
2.63	.544	.05	4	.963	.05	3.31	.963

**Apéndice C.20 Análisis de t-student para valores de concentración de prolactina, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 60 minutos (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ IXBUT (5mg/kg)      Group 2: DOSIS EQ IXBUT (200 mg/kg)

t-test for: PROLAC

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	3	89.3167	79.600	45.957
Group 2	3	32.9367	29.544	17.057

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
7.26	.242	1.15	4	.314	1.15	2.54	.347

**Apéndice C.21 Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 0 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ 1.0                      Group 2: DOSIS EQ 2.0

t-test for: HCRECI

		Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1		4	21.4275	10.973	5.486
Group 2		3	10.8400	1.297	.749

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
71.65	.028	1.62	5	.165	1.91	3.11	.149

**Apéndice C.22 Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 15 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ 1.0                      Group 2: DOSIS EQ 2.0

t-test for: HCRECI

		Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1		4	19.1875	1.790	.895
Group 2		3	10.2367	2.391	1.380

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
1.78	.617	5.71	5	.002	5.44	3.61	.007

**Apéndice C.23** Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 30 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS IXBUT (5mg/kg)

Group 2: DOSIS IXBUT (20 mg/kg)

-test for: HCRECI

		Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1		3	23.3433	8.545	4.934
Group 2		2	8.2900	.057	.040

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
*****	.009	2.36	3	.099	3.05	2.00	.093

**Apéndice C.24** Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 20 mg/kg, tiempo de lectura 60 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)

DOSIS

DOSIS IXBUT (5mg/kg)

Group 2: DOSIS IXBUT (20 mg/kg)

est for: HCRECI

		Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1		3	25.2933	7.286	4.207
Group 2		2	12.8300	1.626	1.150

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
0.07	.312	2.27	3	.108	2.86	2.28	.089

**Apéndice C.25 Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 0 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ Ixbut (5mg/kg)      Group 2: DOSIS EQ Ixbut (200 mg/kg)

t-test for: HCRECI

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	4	21.4275	10.973	5.486
Group 2	3	14.0200	.720	.416

F Value	2-Tail Prob.	Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
		t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
232.13	.009	1.14	5	.306	1.35	3.03	.270

**Apéndice C.26 Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 15 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ Ixbut (5mg/kg)

Group 2: DOSIS EQ Ixbut (200mg/kg)

test for: HCRECI

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	4	19.1875	1.790	.895
Group 2	3	31.6433	34.508	19.923

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
371.65	.001	-.75	5	.489	-.62	2.01	.596

**Apéndice C.27 Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 30 minutos. (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ Ixbut (5mg/kg)      Group 2: DOSIS EQ Ixbut (200mg/kg)

t-test for: HCRECI

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	3	23.3433	8.545	4.934
Group 2	3	11.9200	1.874	1.082

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
20.73	.092	2.26	4	.087	2.26	2.19	.141

**Apéndice C.28 Análisis de t-student para valores de concentración de hormona del crecimiento, de las dosis de Ixbut 5 y 200 mg/kg, tiempo de lectura 60 minutos (Dosis de Ixbut-Efecto)**

Independent samples of DOSIS

Group 1: DOSIS EQ 1.0      Group 2: DOSIS EQ Ixbut (200 mg/kg)

t-test for: HCRECI

	Number of Cases	Mean	Standard Deviation	Standard Error
Group 1	3	25.2933	7.286	4.207
Group 2	3	12.1300	3.447	1.990

		Pooled Variance Estimate			Separate Variance Estimate		
F Value	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.	t Value	Degrees of Freedom	2-Tail Prob.
4.47	.366	2.83	4	.047	2.83	2.35	.070

**Apéndice C.29 Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías al tratar a las madres con los distintos fármacos, 7-8 días post-parto.**

----- O N E W A Y -----

Variable PESO  
By Variable FARM

Analysis of Variance					
Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	24.2904	12.1452	.1227	.8871
Within Groups	5	494.9783	98.9957		
Total	7	519.2688			

----- O N E W A Y -----

Variable PESO  
By Variable FARM

Multiple Range Test

Key-B Procedure  
Ranges for the .050 level -

4.12 4.60

The ranges above are table ranges.  
The value actually compared with  $\text{Mean}(J) - \text{Mean}(I)$  is..  
 $7.0355 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

**Apéndice C.30 Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías al tratar a las madres con los distintos fármacos, 10- 11 días post-parto**

----- O N E W A Y -----

Variable PESO

By Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	484.5417	242.2708	.8014	.4990
Within Groups	5	1511.5733	302.3147		
Total	7	1996.1150			

----- O N E W A Y -----

Variable PESO

By Variable FARM

Multiple Range Test

Tukey-B Procedure

Ranges for the .050 level -

4.12 4.60

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..

$$12.2946 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$$

Two groups are significantly different at the .050 level

**Apéndice C.31 Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías a las madres con los distintos fármacos, 14-15 días post-parto.**

----- O N E W A Y -----

Variable PESO

By Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	109.8483	54.9242	1.1643	.3845
Within Groups	5	235.8667	47.1733		
Total	7	345.7150			

----- O N E W A Y -----

Variable PESO

By Variable FARM

Multiple Range Test

Tukey-B Procedure

ranges for the .050 level -

4.12 4.60

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..

$$4.8566 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$$

**Apéndice C.32 Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso de las crías al tratar alas madres con los distintos fármacos, 18-20 días post-parto.**

----- O N E W A Y -----

Variable PESO  
By Variable FARM

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	92.1080	46.0540	8.1512	.1093
Within Groups	2	11.3000	5.6500		
Total	4	103.4080			

----- O N E W A Y -----

Variable PESO  
By Variable FARM

Multiple Range Test

Tukey-B Procedure

Ranges for the .050 level -

6.84 8.14

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with  $\text{Mean}(J) - \text{Mean}(I)$  is..

$$1.6808 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$$

so two groups are significantly different at the .050 level

**Apéndice C.33 Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso para los distintos días post-parto, al tratar a las madres con Ixbut**

----- O N E W A Y -----

Variable PESO

By Variable DPP

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob
Between Groups	3	137.8933	45.9644	.6701	.6008
Within Groups	6	411.5667	68.5944		
Total	9	549.4600			

----- O N E W A Y -----

Variable PESO

By Variable DPP

Multiple Range Test

Scheffé-B Procedure  
 Ranges for the .050 level -

4.18 4.62 4.89

ranges above are table ranges.  
 value actually compared with  $\text{Mean}(J) - \text{Mean}(I)$  is..  
 $5.8564 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

> two groups are significantly different at the .050 level

**Apéndice C.35 Análisis de varianza de una vía para valores de cambio en peso para los distintos días post-parto, al tratar a las madres con Metoclopramida**

----- O N E W A Y -----

Variable PESO

By Variable DPP

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob
Between Groups	3	253.0827	84.3609	1.3894	.3339
Within Groups	6	364.2933	60.7156		
Total	9	617.3760			

----- O N E W A Y -----

Variable PESO

By Variable DPP

Multiple Range Test

Tukey-B Procedure

Ranges for the .050 level -

4.18 4.62 4.89

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..

$$5.5098 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$$

No two groups are significantly different at the .050 level

AMINO ACID SEQUENCES OF PROTEINS (continued)

Genetic and Lactogenic Hormones (continued)

Protein <sup>a</sup>	Sequence
Sheep <sup>10</sup>	H-Thr-Pro-Val-Cys-Pro-Asn-Gly-Phe-Gly-Asp-Cys-Gln-Val-Ser-Leu-Arg-Arg-Leu-Phe
Pig <sup>11</sup>	H-Leu-Ile-Ser-Ala-Val-Ile
Man <sup>12,13</sup>	H-Leu-Ile-Gly-Ala-Ala-Asp-Thr
Cow <sup>14</sup>	Asn
Sheep	<sup>20</sup> Asp-Arg-Ala-Val-Met-Val-Ser-Ile-Tyr-Ile-His-Asn-Leu-Ser-Ser-Gln-Met-Phe-Asn
Pig	Ile-Leu
Man	Val-Leu
Cow	
Sheep	<sup>40</sup> Gln-Phe-Asp-Lys-Arg-Tyr-Ala-Gln-Gly-Lys-Gly-Phe-Ile-Thr-Met-Ala-Leu-Asn-Ser
Pig	Arg-Lys-Ile
Man	
Cow	
Sheep	<sup>60</sup> Cys-His-Thr-Ser-Ser-Leu-Pro-Thr-Pro-Gln-Asp-Lys-Gln-Gln-Ala-Gln-Gln-Thr-His
Pig	Ser
Cow <sup>1</sup>	Gln-Gln-Gln-Gln
Sheep	<sup>80</sup> His-Gln-Val-Leu-Met-Ser-Leu-Ile-Leu-Gly-Leu-Arg-Ser-Tip-Asn-Asp-Pro-Leu-Tyr
Pig	Ile-Leu-Leu-Arg-Val
Cow	Gln-Gln-Gln-Asn-Asn

<sup>1</sup>Disulfide bonds link half-cystines 4-11, 58-173, and 190-198 in the ovine sequence.  
<sup>2</sup>Partial sequence.  
<sup>3</sup>Asn occurs instead of leucine may follow position 87 in the cow sequence.

AMINO ACID SEQUENCES OF PROTEINS (continued)

Genetic and Lactogenic Hormones (continued)

Protein (continued)	Sequence
Sheep	<sup>100</sup> Phe-Leu-Val-Thr-Gln-Val-Arg-Gly-Met-Lys-Gly-Val-Pro-Asp-Ala-Ile-Leu-Ser-Arg
Pig	Gln-Gln-Ala
Cow	Ala
Sheep	<sup>120</sup> Ala-Ile-Gln-Ile-Gln-Glu-Gln-Asn-Lys-Arg-Leu-Leu-Gln-Gly-Met-Gln-Met-Ile-Phe
Pig	
Cow	Gln-Gln-Gln-Asn
Sheep	<sup>140</sup> Gly-Gln-Val-Ile-Pro-Gly-Ala-Lys-Gln-Thr-Gln-Pro-Tyr-Pro-Val-Tip-Ser-Gly-Leu
Pig	His-Ile
Cow	Gln-Gln
Sheep	<sup>160</sup> Pro-Ser-Leu-Gln-Thr-Lys-Asp-Gln-Asp-Ala-Arg-His-Ser-Ala-Phe-Tyr-Asn-Leu-Leu
Pig	Met-Ala-Thr-Leu-Phe
Cow	Tyr
Sheep	<sup>180</sup> His-Cys-Leu-Arg-Arg-Ser-Ser-Lys-Ile-Asp-Thr-Tyr-Leu-Lys-Leu-Leu-Asn-Cys
Pig	His
Cow	Asn
Sheep	Arg-Ile-Ile-Tyr-Asn-Asn-Asn-Cys-OH
Pig	Ser
Cow	