



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"**

**PARTICIPACION FISIOLÓGICA DE LA HORMONA
RELAXINA EN LA REPRODUCCION ANIMAL
(REVISION BIBLIOGRAFICA)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

MARIA DEL ROSARIO SANTIAGO RODRIGUEZ

Directora de Tesis:
M. V. Z. Maricela Ortega Villalobos

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx. 1990



V. N. A. M.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	Págs.
I.- INTRODUCCION	3
II.- OBJETIVOS	4
III.- DESCUBRIMIENTO DE LA HORMONA RELAXINA	5
IV.- TECNICAS UTILIZADAS PARA LA DETECCION DE LA HORMONA	7
A) Radioinmunoanálisis	
B) Pruebas inmunohistoquímicas	
a) Inmunofluorescencia	
b) Peroxidasa	
c) Antiperoxidasa	
d) Avidín-biotín-inmunoperoxidasa	
C) Cromatografía por intercambio iónico	
V.- NATURALEZA QUIMICA DE LA RELAXINA	12
- Peso molecular	
- Precursores de la hormona	
- Comparación estructural entre las cadenas A y B de la relaxina	
- Diferencias estructurales entre relaxina e insulina	
- Secuencia de aminoácidos de la relaxina de algunas especies	
VI.- MECANISMO DE ACCION	18
- Receptores	
- Sitios de acción	

- Influencia del calcio y AMP cíclico	
VII.- SITIOS DE PRODUCCION DE LA RELAXINA	21
- En la mujer	
- En las hembras domésticas	
- En el macho	
VIII.- VARIACION DE LAS CONCENTRACIONES DE LA HORMONA	28
- Ciclo menstrual	
- Ciclo estrol	
- Gestación, parto y lactación	
IX.- EFECTOS DE LA RELAXINA EN LAS DIFERENTES ESPECIES	41
- Gestación	
- Parto	
- Lactancia	
- En el macho	
X.- RELACION CON OTRAS HORMONAS	51
- Estrógenos	
- Progesterona	
- Relaxina	
- Prostaglandinas	
- Oxitocina	
XI.- PERSPECTIVAS CLINICAS	54
XII.- CONCLUSIONES	56
XIII.- BIBLIOGRAFIA	59

1.- INTRODUCCION.

Aun cuando la relaxina se descubrió hace 62 años, a la fecha se sabe muy poco sobre ella, a pesar de reconocerse su importancia en la reproducción. En algunos de los pocos aspectos que se conocen sobre la hormona, hay confusiones y contradicciones, por ello es necesario realizar estudios más completos para conocer la participación de esta hormona en la fisiología ani--mal y poder vislumbrar su posible aplicación en la Medicina Ve--terinaria.

Aunque no muy numerosos, existen artículos publicados recientemente en los que se publica información sobre la hormona relaxina. En revistas científicas internacionales se encuen--tran trabajos sobr^e las características y funciones de esta horumona, sin embargo esta información es poco accesible para los -estudiantes de nuestras Universidades, quienes tienen que limi--tarse a consultar datos obsoletos e incluso contradictorios en cuanto a libros se refiere.

II.- OBJETIVOS

Presentar de manera ordenada y resumida la información -
con que se cuenta hasta el momento sobre la hormona relaxina.

Hacer accesible esta información para todas las personas
interesadas en el estudio de esta hormona.

III.- DESCUBRIMIENTO DE LA HORMONA.

En 1812 Legallois observó que el canal pélvico de las cu yas se ensanchaba para permitir el paso de los productos al nacimiento. Este fenómeno fue descrito posteriormente por Tood, quien en 1923 midió el crecimiento progresivo de la separación interpública durante la gestación de la cuya, detectando por pal pación una separación de la sínfisis de 4 a 8 mm. durante las - primeras 8 semanas de la preñez y un abrupto incremento de 23 - mm. en los días previos al parto. (34,61).

En 1926 Hisaw encontró que la administración de extractos acuosos de ovario a cuyas castradas y sensibilizadas previamente con estrógenos, provocaba la separación de la sínfisis pu biana, de manera similar a lo que ocurre durante la preñez (14, 50, 77). Este autor atribuyó los efectos observados a la presencia, dentro de los extractos, de algún principio o sustancia que denominó con el término de relaxina (34,35,61).

Pocos investigadores dieron continuidad a los estudios - realizados por Hisaw, quedando así el desarrollo de las investi gaciones sobre la relaxina un tanto rezagado. Entre 1950 y - - 1960 se publicaron algunos trabajos sobre la participación de - la hormona en la gestación de algunas especies además de la cu ya. Al rededor de los años 70 el estudio de la hormona fue - retomado con mayor interés y comenzó a investigarse sobre su -- participación en la etapa de lactación tanto de la mujer como - de las diferentes hembras domésticas. Incluso se publicaron --

trabajos sobre el papel de esta hormona antes de la gestación.

En la actualidad, a pesar de que ha habido un significativo avance en el estudio de la relaxina y se habla ya de su importancia incluso en el macho, queda mucho por esclarecer acerca de esta hormona.

IV.- TECNICAS UTILIZADAS PARA LA DETECCION DE LA HORMONA.

A.- Radioinmunoanálisis (RIA). Esta prueba fue introducida en 1960 por Berson y Yalow, quienes la utilizaron primero para determinar cuantitativamente los niveles de insulina plasmática; desde entonces su uso se ha generalizado desempeñando un papel importante en la endocrinología y en la farmacología - debido a su alta sensibilidad y especificidad (74, 81). Sin embargo con el desarrollo de nuevas técnicas para la detección de hormonas se ha puesto en entredicho su grado de especificidad - para la relaxina.

El radioinmunoanálisis consiste en:

- 1.- Obtener un antisuero para la hormona "X", que será producido en especies heterólogas (conejo o cobayo).
- 2.- Si la hormona en estudio no es en sí inmunógena debe acoplársele una alfa globulina bovina que actúa como transportador macromolecular. Esta unión hormona-globulina es usada para producir un antisuero.
- 3.- La unión hormona-globulina es marcada con una sustancia - - reactiva; generalmente se usa el Iodo 125 (I 125), la globulina y el I 125 actúan como antígeno.
- 4.- El antisuero marcado reacciona con el anticuerpo para formar complejos inmunes que puedan ser precipitados con sulfato de amonio.
- 5.- Cantidades conocidas de hormona no marcada, se añaden a la mezcla de antígeno marcado y anticuerpo, la hormona competi

rá con los sitios de combinación del anticuerpo.

- 6.- Después de un período de incubación el antígeno marcado no puede fijarse al anticuerpo.
- 7.- Con lo anterior aumenta la radiactividad del líquido sobrenadante.
- 8.- La cantidad de complejo marcado comparado con el no marcado dará una curva que permitirá medir las concentraciones obtenidas (74).

B.- Pruebas inmunohistoquímicas.

- a) La inmunofluorescencia es considerada como una de las más importantes de pruebas inmunohistoquímicas, fue introducida en -- 1941 por Coons y es utilizada para la identificación de antigenos a través del siguiente mecanismo: un anticuerpo específico es conjugado con compuestos fluorescentes (colorantes) resultando un trazador sensible con actividad inmunitaria inalterada. El antisuero conjugado es añadido a las células o a los tejidos y se fija a los antígenos presentes en ellas formando por lo tanto un complejo inmunitario estable.

Las proteínas no anticuerpo son eliminadas por lavado y posteriormente la preparación se observa al microscopio de fluorescencia. Este tipo de microscopio contiene filtros de excitación para generar longitudes de onda capaces de producir fluorescencia por activación y filtros de barrera para eliminar las sombras luminosas que interfieran.

Cualquier antígeno puede ser descubierto en cortes de tejido fijado o en las suspensiones de células vivientes mediante la inmunofluorescencia. El antisuero para el antígeno que se desea localizar es obtenido en especies heterólogas y las tinciones pueden hacerse por tres métodos:

- Inmunofluorescencia directa. En esta técnica el antisuero conjugado es añadido directamente al corte de tejido o a la suspensión de células viables (74).
- Inmunofluorescencia indirecta. Esta técnica permite la identificación de anticuerpos en el suero, antígenos en los tejidos o en los cultivos de células (81).

b) Técnica de la peroxidasa e inmunoperoxidasa. Ambas son también pruebas histoquímicas en donde el mecanismo básico consiste en la conjugación de anticuerpo con enzimas; este anticuerpo está dirigido a un antígeno celular específico. El conjugado resultante tiene una actividad enzimática e inmunitaria igual a la de la inmunofluorescencia directa e indirecta.

La enzima peroxidasa del rábano es habitualmente la elegida para el acoplamiento con el anticuerpo; primero se tiñen los tejidos directamente con un conjugado de anticuerpo-enzima o directamente con un reactivo antiglobulina ligado a la enzima y se incuban en un suero inmune no marcado. Después el tejido es incubado con un sustrato para la enzima; la enzima en este caso es identificada visualmente por la formación de

un color negro después de la incubación con peróxido de hidrógeno y diaminobencidina. Los microscopios ópticos pueden servir para el análisis de estos cortes de tejido (74).

- c) Prueba de la peroxidasa antiperoxidasa (PAP). Es otra técnica inmunohistoquímica que permite localizar antígenos celulares y consiste en tener preparaciones fijadas con antígeno celular de conejo a las que se les aplica un reactivo de inmunoglobulina anticonejo, la cual reacciona con el primer anticuerpo. Por último se fija un complejo inmune de peroxidasa-antiperoxidasa de conejo a un puente de anticuerpo anticonejo (74, 81).
- d) Sistema biotina-avidina. La avidina es una glucoproteína derivada de la albúmina del huevo con un PM de 6,000 daltones y con una afinidad muy alta para la vitamina biotina. Fácilmente la biotina puede acoplarse por enlaces covalentes a una proteína (anticuerpo) y luego reaccionar con la avidina a su vez a fluoresceína. Después de la reacción del antígeno con un anticuerpo sin marcar, se añade un segundo anticuerpo marcada con biotina. Dado que muchas moléculas de biotina pueden acoplarse a un mismo anticuerpo, la adición subsiguiente de avidina marcada con fluoresceína produce un enlace firme con esta última, produciéndose así la fluorescencia (71, 81).

En la actualidad se utilizan pruebas inmunohistoquímicas combinadas, tal es el caso de la técnica de la avidín-biotín-in

munoperoxidasa que combina las características de ambas pruebas constituyéndose en una mucho más específica (74, 81).

C.- Cromatografía por intercambio iónico. Las técnicas cromatográficas son en la actualidad los métodos más ampliamente usados para fraccionar proteínas, se ha utilizado también en el aislamiento de inmunoglobulinas. En esta técnica una muestra es separada sobre la parte superior de un cilindro o de una columna de vidrio con un gel sintético y se permite que fluya a través del mismo. Las características físicas de las moléculas proteicas dan por resultado su retención en el gel en diversos grados produciéndose así la separación de las proteínas. La cromatografía por intercambio iónico separa las proteínas considerando las diferencias en sus cargas eléctricas. La unidad funcional del gel es un grupo cargado que absorbe sobre un soporte insoluble como celulosa, dextrán, agarosa o acrílicos. El dietilaminoetil (DEAE), grupo con carga positiva, es la unidad funcional de los intercambiadores aniónicos usados para fraccionar moléculas con carga negativa. El carboximetil, con carga negativa es usado para el fraccionamiento de pH del amortiguador que pasa a través de la columna y afecta a la carga de la molécula proteica. El aumento de la molaridad del amortiguador proporciona más iones para competir con la proteína para la fijación del gel. Mediante el aumento gradual de la molaridad o la disminución del pH del amortiguador, las proteínas son separadas en orden creciente del número de grupos con carga eléctrica fijados al gel (74).

V.- NATURALEZA QUIMICA DE LA HORMONA RELAXINA.

Dada la dificultad para aislar a la relaxina no se ha podido determinar con exactitud su estructura química (30, 77), - se han descrito algunas de sus propiedades y otras más continúan aún investigándose.

La relaxina es una hormona hidrosoluble constituida por una proteína con un punto isoeléctrico de 4.4. Se ha especificado que se trata de una estructura polipeptídica con dos cadenas no idénticas (44, 50), pero con una estructura primaria estable; la hormona ha sido obtenida de coneja, rata, cerda, y la hembra del tiburón, a través de pruebas de intercambio iónico - por cromatografía (22, 50, 68).

Existe discrepancia en cuanto al peso molecular de la -- hormona y se le han atribuido diferentes pesos que varían mucho entre sí y que van desde 900 (29, 37), 1,200 (15, 41), hasta -- 10,000 daltones (30). Sin embargo las investigaciones más recientes, coinciden en un peso molecular (P.M.) de 6,000 a 6,500 daltones (12, 14, 22, 44, 50, 61). Específicamente para la relaxina de coneja, Eldrige menciona un peso molecular de 7,200 y un punto isoeléctrico de 7.2 y para la cerda 6,400 y 10.4 respectivamente (22); así pues pudiera pensarse que las diferencias observadas se deben a que el peso molecular varía con la especie, o bien que en algunos casos se hayan reportado pesos moleculares de precursores y no específicamente de la relaxina -- (44).

Con referencia a precursores, Fields, en 1982 obtuvo, a partir de extractos acuosos de cuerpo lúteo de vacas en la fase final de la gestación, un compuesto que tenía un P.M. menor a 1,400 daltones y una actividad inmunológica y biológica similar a la relaxina. Por otro lado Green encontró en vacas una forma de precursores de relaxina humana con un peso molecular de 10,000 daltones, por último Kwok demostró en extractos ováricos de cerdas gestantes la presencia de moléculas con inmunoreactividad semejante a la de la relaxina, pero con pesos moleculares de 19,000, 13,000 o 10,000 daltones, considerando que se trataba de precursores de la hormona (44,61). Se ha señalado que la relaxina porcina es muy parecida a la insulina humana, ya que ambas poseen 2 cadenas polipeptídicas entrelazadas por 2 ó 3 puentes disulfuro (27).

Kwok y colaboradores en 1977 purificaron la relaxina porcina y la compararon con la insulina. Para el análisis ambas hormonas fueron separadas a bajas velocidades de centrifugación con una preparación de carboximetilaldehído, y en el caso de la relaxina se observó la presencia de una cadena larga que contienen 30 aminoácidos, la cual fue designada como cadena "B" y resultó insoluble a un pH entre 4 y 7, mientras que la cadena corta de 22 aminoácidos llamada "A" se solubilizó al someterla al mismo pH (Figura 1).

Al comparar a la relaxina con la insulina, fue evidente la similitud en las dos cadenas peptídicas, en el número y la --

distribución de los residuos de cisteína. Se demostró la presencia de 3 puentes disulfuro con colocación idéntica a los de la insulina, (dos de ellos uniendo ambas cadenas y uno más dentro de la cadena "A"). La secuencia de aminoácidos homólogos entre insulina y relaxina es más marcada en la cadena "B" que en la cadena "A" (44) (Figura 2).

A la fecha, ya ha sido posible determinar la secuencia de aminoácidos para la relaxina de tiburón, rata, cerda y mujer (22, 44, 68) y se han encontrado poca homología entre ellas; -- así que las diferencias en sus secuencias constituyen la base para suponer que las relaxinas de estas tres especies tienen actividades biológicas diferentes (22, 48) (Figura 3).

CADENA A

**H-Arg-Met-Thr-Leu-Ser-Glu-Lis-Cis-Cis-Gln-Val-Gli-Cis-
Ile-Arg-Lis-Asp-Ile-Ala-Arg-Leu-Cis-OH.**

CADENA B

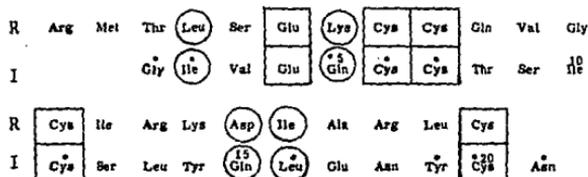
**PCA-Ser-Thr-Asn-Asp-Fen-Ile-Lis-Ala-Cis-Gli-Arg-Glu-
Leu-Val-Arg-Leu-Trp-Val-Glu-Ile-Cis-Gli-Ser-Val-Ser-
Thr-Trp-Gli-Arg-OH.**

Figura 1. Secuencia de aminoácidos de las cadenas A y B de relaxina de la cerda. (44).

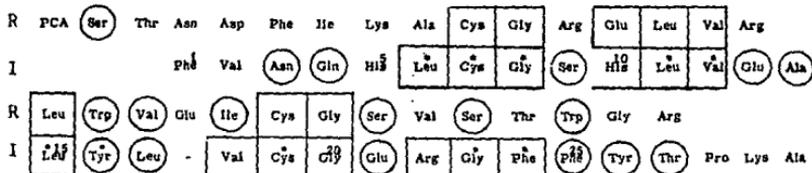
SECUENCIA DE AMINOACIDOS DE LAS CADENAS A Y B DE RELAXINA E INSULINA DE LA CERDA.

R = Relaxina.

I = Insulina.



Cadenas A de relaxina e insulina.



Cadena B de relaxina e insulina.

Figura 2. Aminoácidos idénticos para ambas hormonas.

Aminoácidos que pueden ser sustituidos.

* Aminoácidos invariables en la insulina de diferentes especies. (44).

CADENAS A

Humano Gln-Leu-Tir-Ser-Ala-Leu-Ala-Asn-Lis-Cis-Cis-His-Val-Gli-Cis-Thr-Lis-Arg-Ser-Leu-Ala-Arg-Fen-Cis
 Cerdo Arg-Met-Thr-Leu-Ser-Glu-Cis-Cis-Cis-Gln-Val-Gli-Cis-Ile-Arg-Lis-Asp-Ile-Ala-Arg-Leu-Cis
 Rata Pca-Ser-Gli-Ala-Leu-Leu-Ser-Glu-Gln-Cis-Cis-His-Ile-Gli-Cis-Thr-Arg-Arg-Ser-Ile-Ala-Lis-Leu-Cis
 Tiburón Ala-Thr-Ser-Pro-Ala-Met-Ser-Ile-Lis-Cis-Cis-Ile-Tir-Gli-Cis-Thr-Lis-Lis-Asp-Ile-Ser-Val-Leu-Cis

CADENAS B

Humano Asp-Ser-Trp-Met-Glu-Glu-Val-Ile-Lis-Leu-Cis-Gli-Arg-Glu-Leu-Val-Arg-Ala-Gln-Ile-Ala-Ile-Cis-Gli Met-Ser-Thr-Trp-Ser-Lis-Arg-Ser-Leu.
 Cerdo Pca-Ser-Thr-Asn-Asp-Fen-Ile-Lis-Ala-Cis-Gli-Arg-Glu-Leu-Val-Arg-Leu-Trp-Val-Glu-Ile-Cis-Gli Ser-Val-Ser-Trp-Gli-Arg-Thr-Ala-Leu.
 Rata Arg-Val-Ser-Glu-Glu-Trp-Met-Asp-Gln-Val-Ile-Gln-Val-Cis-Gli-Arg-Gli-Tir-Ala-Arg-Ala-Trp-Ile-Glu-Val-Cis-Gli Ala-Ser-Val-Gli-Arg-Leu-Ala-Leu.
 Riburón Pca-Ser-Leu-Ser-Asn-Ala-Glu-Ser-Gli-Ile-Lis-Leu-Cis-Gli-Arg-Glu-Fen-Ile-Arg-Ala-Ile-Ile-Fen-Ala-Cis-Gli Gli-Ser-Arg-Trp.

Figura 3. Secuencia de Aminoácidos de las Cadenas A y B de relaxina de las especies en que ha sido aislada. La zona sombreada muestra los aminoácidos que son similares. (68).

VI.- MECANISMO DE ACCION.

Los estudios concernientes al mecanismo de acción de la relaxina se han limitado por falta de información, principalmente la que se refiere a los receptores de la hormona. Se ha supuesto que dichos receptores se encuentran en pocos tipos de células, en contraste con la amplia distribución de los receptores a la insulina. La presencia de estrógenos parece ser un factor determinante para que en los órganos blanco existan receptores para la relaxina (43,68). Se ha sugerido también que la relaxina puede trabajar a través de AMP cíclico y que el efecto inmediato sobre la sínfisis púbica se deba a la producción de enzimas proteolíticas (68, 83).

A pesar de que han practicado ya algunos estudios acerca del mecanismo de acción de esta hormona, es realmente poco lo que se sabe, más aún los resultados obtenidos indican que se requieren estudios más profundos y podría decirse que hasta el momento sólo se pueden dar pautas a seguir para dilucidar de manera más estructurada el mecanismo de acción de la relaxina.

Estudios realizados en ratas en diferentes estados fisiológicos (ciclo estral, gestación) y animales ovariectomizados tratados algunos con estrógenos 5 μ g. y otros con relaxina 5-20 μ g., permitieron observar que los estrógenos juegan un papel importante en el aumento de receptores miometriales para la relaxina, aunque también se detectó que la relaxina misma puede

promover la producción de dichos receptores. Se desconocen los mecanismos por los cuales se observa aumento del número de receptores, pero se sugiere que la modulación de ellos por estrógenos podría explicar el hecho de que estas hormonas aumenten la sensibilidad de los órganos blanco a la relaxina (18, 53).

Ginsburg en 1988 obtuvo resultados que se consideran fundamentales para definir el mecanismo de acción de esta hormona; demostró que la inhibición de la contracción uterina en ratas - está relacionada con una disminución en el calcio intracelular libre y que la variación de los niveles de calcio asociado a la liberación de AMP cíclico celular son el factor desencadenante para la liberación y por consecuencia la acción de la relaxina a nivel de músculo liso (28).

Se ha sugerido además que el mecanismo de acción de la - relaxina está relacionado con receptores alfa inhibidores (y no con mecanismos beta adrenérgicos) que actúan como moduladores de frecuencias capaces incluso de antagonizar estímulos miométriales exógenos. Sin embargo, esto aún es poco claro y al igual - que la intervención del calcio y del AMP cíclico requiere de estudios más profundos (62).

Por otro lado se ha trabajado en la búsqueda del sitio - sobre el cual actúa la relaxina para inhibir el reflejo de eyec ción láctea y se ha sugerido que es a nivel de diencéfalo o mesencéfalo, o ambos, esto ha sido observado en estudios recientes realizados en ratas en las que se administró comparativamen

te relaxina; en un grupo a nivel de ventrículos laterales a dosis de 10-1000 ng y en otro grupo a dosis de 500 ng a nivel de tercer ventrículo. Los resultados demostraron que incluso a dosis de 10 ng, la relaxina puede inhibir la acción de la oxitocina sobre la eyección láctea de manera reversible. Esto sugiere que la relaxina ejerce una acción inhibitoria sobre la libera- -ción de oxitocina (62), lo cual explicaría la inhibición del reflejo de eyección láctea (76). Se desconoce la duración del - -efecto inhibitorio sobre las neuronas oxitocinérgicas; ya que - estudios realizados utilizando naloxona (péptido opioide) en lugar de relaxina revelan que con éste el efecto inhibitorio no - es reversible y por otro lado se ha supuesto que este sistema - esté regulado por péptidos opioides endógenos presentes en la - neurohipófisis, sin embargo los estudios sobre dichos péptidos están en curso (57), así pues la naloxona podría funcionar como un opioide antagonista capaz de revertir los efectos de la relaxina sobre el aprto (38).

VII.-SITIOS DE PRODUCCION.

La relaxina se ha extraído de diversos sitios del organismo, pero ha sido difícil determinar con exactitud el o los lugares de secreción de la hormona, debido entre otras causas a la probabilidad de que la hormona esté presente en algunos otros tejidos como prohormona indetectable por radioinmunoensayo, ya que tal situación ha sido reportada para la insulina, homólogo estructural de la relaxina (23,50).

La mayoría de los investigadores reportan haber extraído relaxina del ovario de casi todas las especies domésticas (27, 28, 30, 40, 41). Algunos la han encontrado específicamente en el cuerpo amarillo en el caso de la mujer y la cerda (20, 31, 50). La presencia de la hormona ha sido detectada también en conejas en los sincitiotrofoblastos, entre los 23 y 30 días de gestación usando técnicas de inmunohistoquímica con relaxina ant ticuye (22).

En el caso de la cerda se propone como sitio de producción a las células intersticiales del ovario y las luteínicas de la granulosa pues se ha observado en estas células la aparición y acumulación de gránulos citoplásmicos al principio y mitad de la preñez, los cuales desaparecen al final de la mis ma; el incremento de los gránulos se ha correlacionado con la elevación y caída de los niveles plasmáticos de la relaxina (3).

En estudios recientes, basados en la influencia de la edad gestacional sobre la secreción de relaxina, se demostró la

existencia de 3 tipos de células en ovarios de cerdas gestantes; un primer grupo de células dispersas que corresponde a células lúteas grandes, productoras tanto de relaxina como de esteroides; un segundo grupo de células con una sola función, ya sea productoras de relaxina o progesterona y por último un tercer grupo de células sin capacidad endócrina.

Se observó además que en la primera mitad de la gestación estos tres tipos celulares se hallaban en las mismas proporciones, sin embargo en el período preparto se detectó una disminución de las células productoras de relaxina (79).

Por otro lado se ha encontrado que el endometrio y la placenta pueden constituirse en fuentes de relaxina en la mujer, la yegua y la cuya, ya que éstas especies no requieren la permanencia del cuerpo lúteo hasta el final de la gestación (22, 25, 27, 29, 31, 50, 67, 69, 72). No así en especies como la cabra, cerda y vaca en las que la presencia del cuerpo lúteo es indispensable para la continuidad de la preñez, (51). Circunstancia que se asocia a que en ellas el ovario es el sitio más importante de síntesis de relaxina (3). Por otro lado la oveja no requiere de cuerpo lúteo para la testación y en esta especie la relaxina no parece ser importante para mantenerla ya que ni cuerpo lúteo ni cotiledones fetales ni la placenta pueden producirla (65).

En la mujer el cuerpo lúteo menstrual secreta relaxina y también oxitocina y progesterona que actúan como moduladores de la función de esta estructura (42).

Se ha reportado que no en todas las porciones de la placenta humana se secreta relaxina y que la producción de la hormona se restringe a la porción materna de la membrana fetal humana: *decidua capsularis*. Para estos estudios se obtuvieron placentas humanas a través de operaciones cesáreas y se hicieron cultivos de los siguientes tejidos: *decidua capsularis*, amnios y vellosidades fetales (9,11).

La relaxina se obtuvo a partir de los cultivos por 3 métodos: por extracción con acetona pura, utilizando acetona con solución buffer fosfatada; y por cromatografía. Solamente pudo obtenerse relaxina a partir de los cultivos de *decidua*, en los cuales la hormona estuvo liberándose al medio por un lapso de 24 horas.

La actividad biológica de la hormona extraída se valoró de dos maneras:

- a) In vivo; cuando la relaxina obtenida se inyectó por vía intravenosa en cuyes, se observó inhibición gradual de la actividad contractil normal del útero y relajación de la sínfisis púbica, en cambio los extractos de amnios y de vellosidades fetales no mostraron tales efectos.
- b) In vitro; se extrajeron úteros de ratas vírgenes a los cuales se les inyectó directamente en el miometrio la relaxina obtenida de *decidua*, observándose disminución de la amplitud y frecuencia de las contracciones y en algunos casos completa atonía (9).

Asimismo en un estudio más reciente se determinó la pre-

sencia de relaxina por el metodo de la avidin-biotin-inmunoperoxidasa, en amnios, corion y decidua humana. Se obtuvieron muestras de placentas de partos normales y se observó que la relaxina se encontraba en mayores cantidades en las células del citotrofoblasto coriónico en comparación con las células de la decidua parietal de las membranas fetales, lo cual indica que incluso en la placenta misma existen células que son mucho más específicas para la producción de relaxina (11).

En mujeres no gestantes se ha encontrado relaxina en - - cuerpo lúteo y endometrio glandular; se ha supuesto que nunca antes se había localizado en mujeres no gestantes debido al uso de un método poco específico para su detección: radioinmunoensayo, que al igual que el de la peroxidasa antiporcina resulta poco sensible para la detección de la relaxina a bajas concentraciones (86). Lo anterior destruye teorías como la de Vaupel -- quien había trabajado con los métodos de la peroxidasa e inmunoperoxidasa reportando ausencia de la hormona en plasma de mujeres no gestantes (58, 59).

- En algunas hembras domésticas. Se ha sugerido que en la yegua la principal fuente de relaxina es la placenta, ya que en animales grávidos, la ovariectomía practicada a los 50 ó 100 días de gestación no mostró alteraciones significativas de -- los niveles de dicha hormona durante la gestación e incluso - en los 50 días posteriores al parto, al ser comparado con el grupo control (72).

En las yeguas ovariectomizadas en el día 50 el inicio de la secreción de relaxina fue temporalmente similar al del grupo control, aunque en cantidad ligeramente mayor, al mismo tiempo la progesterona plasmática no se vio alterada. En las yeguas ovariectomizadas en el día 100 el perfil de secreción de la relaxina fue similar al perfil de los controles. Finalmente se colectaron muestras de tejido en los días 50-100 postparto, tales tejidos fueron: gónadas del producto, endometrio, placenta y amnios, determinándose en ellos la presencia de relaxina por el método de radioinmunoensayo, se observó que las más altas -- concentraciones estaban en el tejido placentario (72).

Se ha detectado en la lactación de la cerda que la fuente de relaxina son los cuerpos lúteos de la gestación precedente, que además elevan los niveles tanto de relaxina como de progesterona en este período (4,85).

En borregas se han observado bajos niveles de relaxina al principio y final de la gestación; algunos autores han supuesto al ovario y al útero como fuentes de esta hormona; algunos otros destacan la presencia de células con gránulos citoplásmicos en ovarios similares a los de la cerda y rata (65,79). Sin embargo estudios recientes sostienen que la gestación y parto normal de la borrega no requieren la presencia de ovario y que el cuerpo lúteo deja de ser indispensable para la gestación alrededor del día 60; así pues no existe ningún órgano que sea fuente importante de esta hormona y por tanto sus niveles son siempre bajos o nulos (50, 65).

- En machos. La hormona ha sido identificada por radioinmunoanálisis a partir de sangre de machos de diversas especies: tiburón (73), mono rhesus (58), cerdo, caballo, gato, perro (34), carnero (84), pollo (35) y además de testículos de gallo (22) testículos de armadillo (61) y particularmente de las células intersticiales y células de Sertoli del verraco (61). También se ha encontrado relaxina en plasma seminal humano, específicamente en próstata (12, 51) y por técnicas de inmunocitología y cromatografía se han hallado pequeñas cantidades en la rete testis y en fluido de la cola del epididimo en humano (47,51). En el hombre también se ha señalado que probablemente es la próstata la fuente más importante de relaxina. Se realizó un estudio en dos hombres con ausencia congénita de vasos deferentes y vesículas seminales en quienes las muestras de semen contenían sólo componentes de la próstata, en estos individuos la concentración de relaxina no tuvo variaciones al ser comparada con las muestras de hombres normales (23).

Loumagne en 1980 determinó los niveles de relaxina de 7 - hombres sanos y 28 pacientes estériles y observó un amplio rango de variación en las concentraciones de la hormona, que osciló entre 1,230 y 7,300 pg/ml de plasma seminal, no encontrando diferencia significativa entre individuos sanos y estériles, lo cual demostró la presencia de la hormona sea cual fuere la calidad del semen (51).

El resumen podemos señalar que la relaxina ha sido encontrada en diferentes sitios que varían de una especie a otra, co

mo se enlista a continuación:

- Cerda: en ovario y cuerpo amarillo, células intersticiales y de la granulosa (3, 20, 31, 34, 50).
- Vaca: en cuerpo lúteo (22, 25, 61).
- Cabra: en cuerpo lúteo (31).
- Yegua: en placenta y endometrio (22, 72).
- Cuya: en glándulas endometriales, placenta, glándulas deciduales (23, 25, 27, 50, 67, 69, 72).
- Borrega: escasos contenidos en plasma periférico (65).
- Mujer: cuerpo amarillo, endometrio, placenta, específicamente glándulas deciduales y sincitiotrofoblasto coriónico - (11, 21, 25, 29, 69, 72).
- Gallo: testículos (23).
- Armadillo: testículos (61).
- Verraco: testículo: células intersticiales y de Sertoli (51).
- Hombre: próstata (12, 61); rete testis y fluido de la cola -- del epidídimo (51) y plasma seminal (12, 61).

En todas estas especies se ha detectado relaxina también en plasma periférico al igual que en las hembras de tiburón (73), mono rhesus (58), caballo (34), gato (34), perro (34), borrego (84), y pollo (35).

VIII.- VARIACION DE LAS CONCENTRACIONES DE LA HORMONA RELAXINA.

Inicialmente los niveles de la relaxina se reportaron en Unidades (GPU).

Una GPU es una unidad de cobaya o conejillo de indias -- (Guinea Pig Unity) y representa la cantidad de relaxina que se necesita para producir el relajamiento de la sínfisis del pubis en el 66% de un grupo de cobayas (30). En la actualidad con -- las técnicas de radioinmunoensayo, inmunoperoxidasa, inmunohistoquímica y avidínbiotín-inmunoperoxidasa es posible determinar los valores en ng/ml, g/ml o pg/ml. Sin embargo ocasionalmente se reportan aún en GPU (23, 58, 83).

Los niveles de relaxina varían con el estado fisiológico del animal. El ciclo estrual o menstrual, la gestación, el parto o la lactancia son períodos que se acompañan de variaciones en los niveles circulantes de la hormona. Además existen variaciones dentro de estos períodos, relacionados con la especie -- animal que se trate.

Ciclo menstrual:

En trabajos publicados en 1978 e incluso en 1985 por -- Vaupel (83), se menciona que la relaxina está ausente del suero de mujeres no gestantes (59, 83). Para 1987 se publicó que la relaxina en mujeres está presente tanto en la ovulación como en la implantación (50). Actualmente se sabe que los niveles de -- relaxina en la fase folicular son bajos y a veces indetectables, tanto en plasma venoso como en plasma periférico, especialmente en este último, ya que el cuerpo lúteo se encuentra en forma --

ción y precisamente a esta estructura se le considera como la -
fuente principal de la hormona en el ciclo menstrual (42).

En la fase lútea los niveles de la hormona se elevan en promedio a un valor de 59.9 ng/ml en lo que correspondería a la segunda semana del ciclo menstrual (26), esta elevación de los niveles de relaxina se ha relacionado con la presencia de gonadotropina coriónica humana (HCG) hormona que es detectable hasta los 8 a 12 días posteriores a la ovulación cuando hay gestación. Sin embargo al inyectar(HCG)en mujeres no gestantes en los 8 a 12 días posteriores a la ovulación también pudo apreciarse aumento en los niveles de relaxina (61).

Ciclo estral:

En este período la presencia de relaxina se ha detectado también en ovarios de cerdas y ratas, sin embargo los niveles no han sido cuantificados.

Gestación, parto y lactación:

En la mayoría de las especies estudiadas (cerda, vaca, gata, yegua y mujer) se ha observado que los niveles de relaxina en plasma periférico aumenta notablemente durante la preñez. Sin embargo se aprecian variaciones de acuerdo a la especie y edad gestacional.

Se reconoce que la relaxina es de suma importancia en el momento del parto. Algunos autores citan que los niveles de la hormona en el plasma periférico desaparecen aproximadamente 24

horas antes del parto (15,64) o bien justo antes de que este -- inicie (31); sin embargo otros investigadores reportan que los niveles se elevan considerablemente alrededor del parto (3).

Tales contradicciones en los reportes sobre la variación de los niveles de la hormona parecen estar relacionados con la especie animal utilizada en los diferentes estudios. Además se ha postulado que en cada una de ellas puede tener diferente actividad biológica.

De ahí que a continuación se presenten los datos de las variaciones de la hormona que han sido reportados para cada especie animal durante la gestación, parto y lactancia.

En las vacas se han encontrado niveles de relaxina de 1 GPU/ml durante el primer mes de la preñez, elevándose las concentraciones a 4 GPU a los 6 meses y permaneciendo así hasta el día 107 a 112 de la gestación (55, 58, 61).

Cuando se aproxima el parto (en los 5 a 7 días previos) se ha observado una disminución de los niveles séricos de la -- hormona (menos de 200 pg/ml); seguidá de un aumento significativo en el día del parto (8,000 pg/ml) y nuevamente una disminu-- ción al iniciar la lactación (3, 78).

En la cerda las concentraciones plasmáticas permanecen - bajas (menos de 2 ng/ml) durante los primeros 100 días de la -- gestación, alrededor del día 101 la relaxina se eleva a 66 ng/ml (24) y posteriormente se incrementa aún más hasta valores muy -

altos a los 6 a 12 días antes del parto, los cuales se conservan elevados hasta las 44 a 26 hrs. previas al mismo, alcanzando niveles de más de 80 ng/ml, los cuales decrecen alrededor de las 16 horas antes del parto, recuperando valores cercanos a 1 ng/ml un día después del parto (3) (Figura 4).

Contrariamente a lo que se pensaba, durante la lactancia de la cerda los niveles de relaxina son elevados y éste está relacionado directamente con el estímulo del reflejo del amamantamiento que provocan los lechones, mediado por el efecto de la oxitocina en las células mioepiteliales de la glándula. Sin embargo en los primeros 2 a 3 días de lactación los niveles son siempre bajos (85) (Figura 5).

En otros estudios han sido registrados niveles de 53 ng/g de tejido lúteo a los 9 días y 3 ng/g a los 21 días de lactación, a la vez se encontró que la estimulación de la glándula mamaria por los lechones en la primera etapa de la lactación promueve la secreción de relaxina en la cerda (85). Alrededor del día 120 después del parto, los niveles registrados son de menos de 1 ng/ml en plasma periférico. Estos trabajos fueron presentados en 1985 y 1986 (24, 85) y contradicen lo expuesto por Sherwood (1981) y Kendal (1983) quienes habían concluido que el amamantamiento no constituía un estímulo para la secreción de relaxina (4).

En la gata los niveles de la hormona son detectables a partir del día 25 de la gestación, elevándose rápidamente hasta

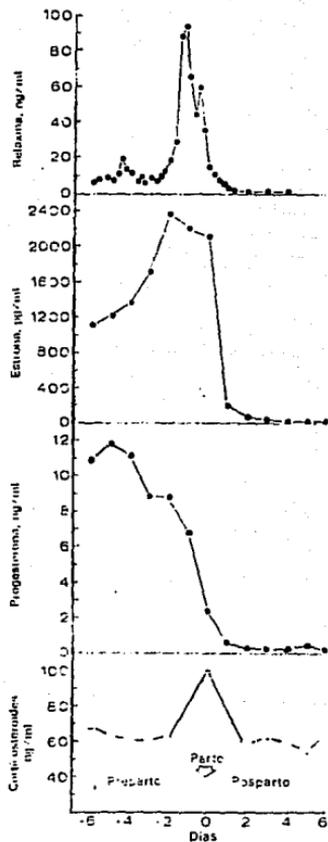


Figura 4. Concentraciones plasmáticas de corticosteroides, progesterona, estrona y relaxina durante el final de la gestación, parto e inicio de la lactación en la cerda (31).

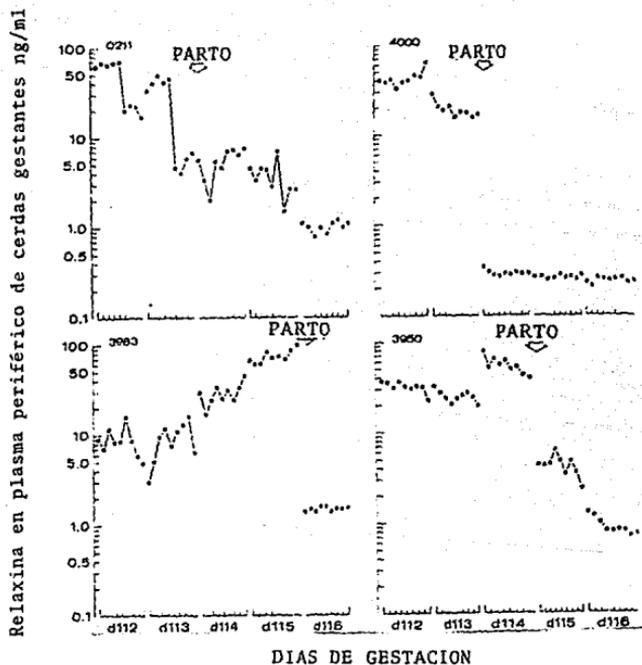


Figura 5. Concentraciones de relaxina en plasma periférico. Muestras colectadas cada 20 minutos por un periodo de 3 - horas durante los días 112 a 116, que incluyen gestación, parto y parte de la lactación de la cerda (24).

alcanzar un nivel máximo entre los días 30 y 35. Se ha reportado que la concentración de la hormona se mantiene alta en los días 10 y 15 antes del parto, posteriormente declinan gradualmente hasta el momento del mismo (71) (Figura 6).

En esta especie los niveles fueron medidos por pruebas de radioinmunoensayo (RIA) usando dos antisueros y se observó que la inmunoreactividad producida por el antisero denominado R6 fue notablemente mayor que la determinada con el antisero 5858 (78); sin embargo no fue posible detectar relaxina dentro de las 24 horas después del parto (71) (Figura 7).

En la yegua se han hecho pocos estudios sobre los valores de la concentración de relaxina, y sólo se han reportado sus niveles durante la gestación, quizá porque se sigue pensando que en esta especie la única fuente de relaxina es la placenta (72).

Se sabe que en el día 45 de la gestación los niveles son indetectables, mientras que en el día 65 se han observado valores de 1.8 ng/ml en el plasma venoso, de 5.8 ng/ml en fluido corioalantoideo y 14.2 ng/ml en líquido amniótico. En el día 100 de la gestación los niveles encontrados fueron de 2.5 mg/ml en el plasma periférico, 2.6 ng/ml en plasma ovárico y 22.2 ng/ml en fluido amniótico.

En un grupo de yeguas se realizó la ovariectomía en el día 52 de la gestación, posteriormente los niveles de relaxina fueron medidos en fluido amniótico en el día 125 de la preñez,

encontrándose concentraciones de 19.5 ng/ml. Esto parece indicar una escasa o nula participación de los ovarios en la producción de relaxina de la yegua (72).

En el día 150 de la gestación normal de la yegua, en el plasma ovárico los valores medidos fueron de 9.3 ng/ml a 11.3 ng/ml. Las concentraciones más altas en plasma periférico se alcanzaron entre los días 175 a 200 de la gestación con valores de 5.8 a 6 ng/ml y comenzaron a descender paulatinamente alrededor del día 205 de la preñez, encontrándose valores alrededor de 4 ng/ml en el día 250 de la misma (72) (Figura 8).

En el caso de borregas, trabajos publicados en 1985 sostienen que la gestación y el parto normal no requieren la presencia del ovario; esto puede relacionarse con el hecho de que el cuerpo lúteo deja de ser indispensable en el día 60 de la gestación (31). Lo anterior concuerda con otros datos que mencionan que, incluido el ovario, no se ha encontrado ningún órgano como fuente importante de relaxina en la borrega y que las concentraciones de esta hormona son generalmente bajas en tejidos tales como endometrio, cotiledones y cuerpo lúteo. Así mismo el RIA de la sangre de arterias y venas uterinas y ováricas de la borrega gestante difícilmente detecta presencia de relaxina (65).

Hasta 1978 se había reportado que la relaxina estaba ausente del suero de mujeres no gestantes y de hombres; que los niveles eran detectables a las 2 semanas de gestación y que su

elevación estaba asociada a la presencia de HCG (59, 63).

En 1983 se demostró por inmunohistoquímica, la presencia de relaxina en el cuerpo lúteo de mujeres no gestantes e incluso la inducción de su secreción inyectando HCG. Asimismo se ha señalado que la relaxina puede alcanzar valores de 0.2 GPU a los 2 meses de gestación (86).

El patrón de secreción de relaxina en las mujeres embarazadas es paralelo al de la HCG, ambos se elevan en el primer trimestre de la gestación y la concentración más alta en la mujer corresponde a este período. Durante el segundo y tercer trimestre los niveles son bajos y no hay ondas de elevación de relaxina previa al parto, como ocurre en otras especies como la rata y la cerda (15, 63). Las concentraciones de la hormona se han detectado también a través del método de la avidín-biotín - inmunoperoxidasa. Este método resulta ser mucho más específico y sensible que los métodos convencionales de radioinmunoensayo, peroxidasa y antiperoxidasa. En las mujeres gestantes, a través del método de avidín-biotín-inmunoperoxidasa, se ha encontrado relaxina también en el sincitio trofoblasto placental - (86).

Se sabe que la relaxina está presente durante la lactación de la mujer, ya que los niveles circulantes están relacionados con la aparición de la oxitocina y disminución de progesterona; sin embargo no se han publicado trabajos que indiquen los valores de la concentración plasmática de relaxina en esta etapa (3).

En el hombre a través del radioinmunoensayo se han determinado los niveles plasmáticos de relaxina, los cuales varían de 1,240 a 73,000 pg/ml (10, 51); el amplio margen de la variación de la concentración podría deberse al tipo de técnica empleada para medir la hormona, pero la importancia de estos estudios radica en el hecho mismo del hallazgo de relaxina en el plasma del hombre, dando lugar al inicio de investigaciones sobre los efectos que específicamente en este caso tendría la hormona.

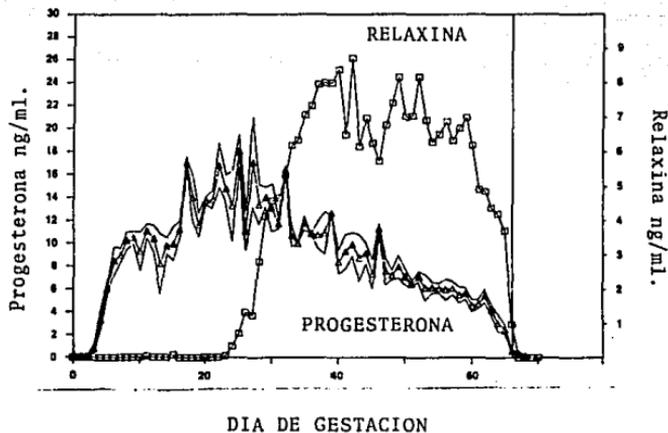


Figura 6. Niveles de relaxina y progesterona durante la gestación de la gata (71). El valor más alto de la concentración de relaxina se observa alrededor del día 35 de la gestación. En los últimos 15 a 10 días de preñez los niveles disminuyen paulatinamente hasta el momento del parto.

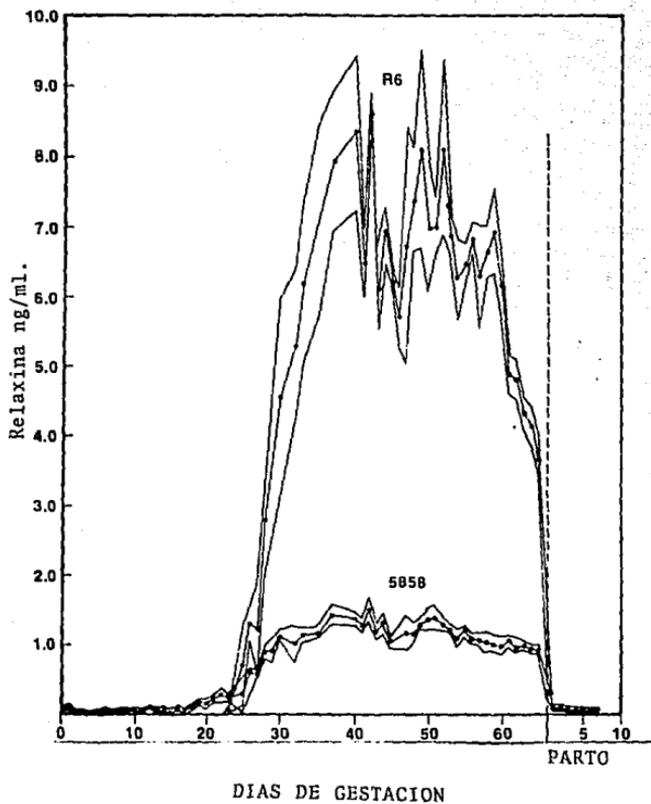


Figura 7. Comparación de la concentración de los niveles de relaxina en gatas, medidos con 2 antisueros: 5858 y R6 (71). Como puede observarse la variación es clara entre un método y otro, de aquí que la presencia de la hormona sea más fácil de detectar con el antisero R6.

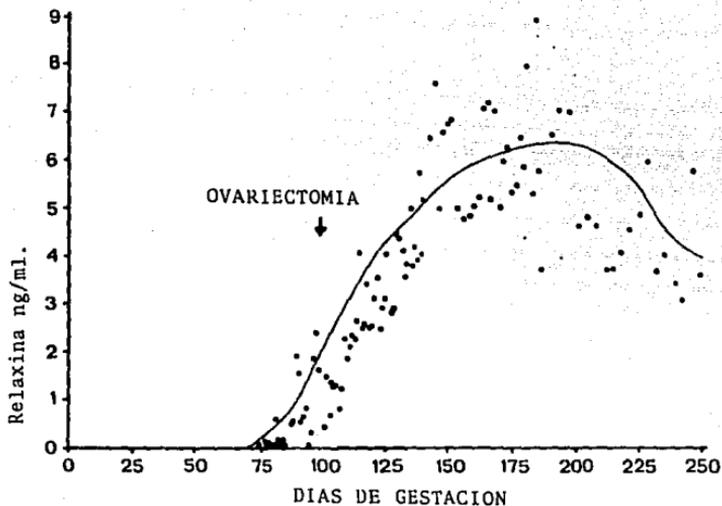


Figura 8. Niveles de relaxina plasmática durante la gestación - en yeguas ovariectomizadas en el día 100 (72). Se observa que aún después de la extracción de los ovarios los niveles de relaxina continúan elevándose hasta el final de la gestación. Lo que hace suponer que los ovarios no son una fuente indispensable de relaxina - en la yegua.

IX.- EFECTOS DE LA HORMONA.

La relaxina tiene efectos principalmente sobre gestación, parto y lactancia aunque recientemente se ha descubierto que -- también tiene influencia sobre órganos ajenos a la gestación e incluso sobre el macho.

Gestación. En esta etapa actúa básicamente permitiendo la continuidad de la gestación a través de:

a) Inhibición de la motilidad uterina. Aquí ejerce su acción al provocar elevación en las concentraciones de AMP cíclico a nivel de músculo liso 24 horas antes del parto. Esto ha sido observado en ratas, se ha supuesto que probablemente el AMP cíclico evite de alguna manera el desprendimiento prematuro de la placenta, aunque no se sabe aún bajo qué mecanismo (56, - 68), se ha señalado que probablemente sea por activación de las proteínasas que catalizan la transferencia de fosfato del -- ATP a diversas enzimas activándolas (27, 56). Se ha encontrado que la relaxina ejerce un efecto inhibitorio de las contracciones uterinas provocadas por oxitocina, este efecto ha sido demostrado tanto in vivo como in vitro. En un experimento realizado en humanos, donde se compararon las concentraciones tanto de relaxina como de oxitocina en plasma ovárico y periférico a través de radioinmunoensayo, se encontró que las inyecciones intravenosas de relaxina en la última fase de la gestación provocaban -- disminución de los niveles de oxitocina en plasma ovárico y periférico, provocando con esto inhibición de las contracciones -- del músculo uterino, dependientes de la acción de oxitocina - -

(13, 38, 42, 57, 77, 85). Conviene anticipar que este efecto - se revierte ante el súbito aumento de estrógenos que se da al - inicio del parto (34, 53).

La relaxina evita también desprendimientos placentarios prematuros. Este efecto se produce porque la relaxina inhibe - la actividad del miometrio durante la segunda mitad de la gesta - ción y antes de que inicie el trabajo de parto asegurando así - la retención del feto en el útero hasta el final de la gesta - ción (38, 54, 55).

b) Incremento de la vascularización y afluencia sangui - -
nea. Con ello se estimula el aumento de tamaño del útero, cer -
vix y vagina, aumentando el contenido de agua y masa tisular --
(50, 82).

c) Aumento de colágeno y glicosaminoglicanes presentes - -
en útero, cervix y vagina. Esto ha sido ampliamente estudiado
en ratas; Powning demostró que en ratas gestantes no grávidas -
el tratamiento con relaxina producía aumento tanto de colágeno
como de glicosaminoglicanes y propuso que dicho incremento está
relacionado con las propiedades de relajación que se le atribu -
yen a esta hormona (19).

d) Reblandecimiento del tejido conectivo y de los múscu - -
los uterinos. Considerando que la colágena es una proteína que
se localiza entre el tejido conectivo y que éste se reblandece
al incrementarse la presencia de agua, es posible explicar la

expansión uterina que permite el acomodo constante del feto en crecimiento (43, 50, 68, 82).

Parto. Durante este evento la relaxina actúa facilitando la expulsión del producto a través de los siguientes mecanismos:

a) Relajación del cuello uterino. Se ha observado, principalmente en ratas y cuyas, que la relajación cervical comienza en el día 12 de la gestación, con un incremento de la vascularización, y que tal relajación aumenta progresivamente durante el resto de la preñez. Se ha demostrado que esta relajación requiere de la acción previa de los estrógenos. Ello ha permitido postular que la secreción de relaxina no se inicie en el momento del parto como se había supuesto, sino que incluso en ausencia de gestación hay producción de dicha hormona (18). La relajación cervical provocada por la relaxina ha sido confirmada en cerda, rata (77) (Figura 9), vaca, mujer (61, 76) y en coneja (22, 49). La relajación y dilatación del cervix han sido explicadas por: 1) un sinergismo entre la progesterona y la relaxina (76, 2) un aumento de colágeno y agua en el útero o 3) por algún efecto fisiológico inducido por el feto a su paso por el canal cervical (87) (Figura 10).

b) Reblandecimiento óseo. Como resultado de la aplicación intravenosa de relaxina en ratas jóvenes no gestantes, se observó desmineralización parcial de la sínfisis púbica y de los huesos pélvicos, en la cual se observó disolución del tejido conectivo y descomposición de las fibras de colágena en fi-

bras más finas que favorecen la separación de la sínfisis en el momento del parto (15, 20, 27, 37, 56, 76).

c) Relajación de los ligamentos pélvicos. Aunque los estrógenos y la progesterona por sí solos también relajan los ligamentos pélvicos (10, 42, 43), el efecto se logra mucho más rápido con la relaxina, esto fue observado al comparar los efectos sobre hembras de ratón no gestante, las cuales se dividieron en tres grupos: el primero recibió dosis diarias de estrógenos durante 23 días, al cabo de los cuales se les administró una dosis única de relaxina (5 mg); en el segundo grupo se aplicaron estrógenos y progesterona durante 13 días. Y al tercero se le administró únicamente relaxina (5 mg); se observó que la relajación de los ligamentos fue detectable en tan sólo 6 horas (20).

La relajación de los ligamentos de la pelvis se ha observado también en rata, mujer (16, 59) cobaya (35), cerda (61) y coneja (22, 42).

d) Remodelación del tejido conjuntivo de las membranas fetales y ruptura de las mismas durante el parto. Esto fue estudiado en mujeres, demostrándose que la relaxina actúa sobre las células del amnios y corion y que junto con otras hormonas (estrógenos, progesterona y prostaglandinas) controla, debilita y rompe las membranas fetales en el momento del parto, lo cual depende de la acción de reblandecimiento que ejerce la relaxina sobre el colágeno; a partir de estos hallazgos se postuló que las membranas fetales son órganos blanco para la relaxina, pro-

Figura 9. Variación del diámetro cervical de ratas en las diferentes etapas: ciclo estral, gestación y parto (77, - 87).

Estro 1.48 mm.

Diestro 1.78 mm.

Gestación 1.44 mm. día 12

Preparto 6.20 en el día 22

Durante el parto 14.18

12 horas postparto 3.12 mm.

36 horas postparto 3.12 mm.

48 horas postparto 3.12 mm.

Figura 10. El siguiente cuadro muestra los efectos de progesterona, estradiol y relaxina sobre algunos parámetros medidos en ratas gestantes 2 a 3 días antes del parto (87).

PARAMETRO	RATAS TRATADAS CON PROGESTERONA (2.0 mg)	RATAS TRATADAS CON ESTRADIOL (0.1 µg) Y PROGESTERONA (2.0 mg)	RATAS TRATADAS CON ESTRADIOL (0.1 µg), PROGESTERONA (2.0 mg) Y RELAXINA -- (500 GPU).
Dilatación cervical	1.82 mm	Se observó ligero aumento	7.80 mm y 12.32 mm en ratas de parto prematuro
Sobrevivencia fetal	72%	90%	99%
Contenido de agua del -- cervix	80.9%	Ligero aumento	87%
Peso del cervix	37.2 mg	Ligero aumento	100 mg
Fuerza tensora del cervix	Baja	Baja	Baja

gesterona, gonadotropina coriónica humana, prolactina y prostaglandina F₂ alfa. Todas estas hormonas podrían participar en la liberación o inhibición de enzimas involucradas con el reblandecimiento del colágeno y de esta manera desencadenarían la ruptura de la membrana fetal (43).

e) Facilita la expulsión de la placenta. Al parecer la acción de la relaxina sobre el colágeno provoca modificaciones en la estructura de los placentomas y favorece su desprendimiento (1, 52, 82). En un estudio experimental practicado en vacas, se observó que un grupo de animales tratados intracervicalmente con relaxina (5 μ g diarios durante los 3 a 5 últimos días de la gestación) manifestó un 20% menos de casos de retención placentaria, porcentaje que disminuyó aún más cuando el tratamiento se combinaba con clorprostenol o dexametasona (54). Sin embargo se sabe que esta última puede tener efectos detrimentales sobre la lactancia.

f) Involución uterina. En la rata la administración de relaxina, 2 veces al día (0.1 mg/kg de peso) durante toda la gestación incrementa el período requerido para la regresión uterina, extendiéndose hasta 4 días posteriores al parto; si a estos animales se les administran posteriormente dosis de 5 mg/kg de extracto de estradiol, se ve ampliamente favorecida la involución uterina, siendo suficiente en el 50% de los casos, una sola aplicación (1, 82).

Lactancia. Se ha demostrado que la relaxina estimula el desarrollo glandular mamario de ratones y ratas ovariectomizadas si se administra con estrógenos o con combinaciones de estrógenos y progesterona (15, 61, 66, 80).

La administración endovenosa de relaxina porcina en ratas lactantes anestesiadas suprime el reflejo de eyección láctea en forma dosis dependiente. El efecto tiene una duración de 10 a 60 minutos en los cuales la sensibilidad mamaria a la oxitocina endógena y exógena está disminuída; sin embargo aún la aplicación de 1 μ g. de relaxina en los ventrículos cerebrales altera notoriamente el reflejo de eyección sin afectar la respuesta miometrial mamaria a la oxitocina. Con estos resultados se ha sugerido que la relaxina tiene algún efecto dentro del sistema nervioso, aunque se desconoce incluso el lugar donde actúa (76).

En ratas y gatas la relaxina puede reducir la eyección láctea por inhibición de la liberación de oxitocina. Al aplicar a ratas lactantes 500 ng de relaxina en el tercer ventrículo, pudo observarse la supresión del reflejo de eyección láctea, mismo que solamente disminuyó cuando la administración de la hormona se efectuó en los ventrículos laterales o en la cisterna magna, lo que permite sospechar que el sitio de acción de la relaxina está localizado en el diencéfalo y mesencéfalo (57).

En las hembras de ratones se ha observado que la relaxina de origen porcino o decidua humano en dosis de 3 μ g/kg de -

peso promueve la formación de conductos en el estroma de la - - glándula mamaria, y que asociada con 17 β estradiol (5 μ g/kg) - provoca un aumento de tamaño y número de las células adiposas - de la glándula mamaria; la administración de relaxina mejora -- los cambios inducidos por los estrógenos y promueve la diferen- ciación celular. Pudo observarse que la relaxina decidual huma na tiene un efecto ligeramente más notable que la relaxina por- cina; con base en estos hallazgos es posible postular que la -- glándula mamaria es un órgano blanco para la relaxina en donde estimula la formación de ductos distales y de células mioepite- liales (5, 6).

En la mujer la administración experimental de relaxina y estrógenos en forma asociada, resulta en un importante aumento en la producción de prolactina en las células del estroma endo- metrial (39).

Macho. Estudios recientes han permitido establecer la - influencia positiva que ejercen por separado la relaxina y la - PGE₂ sobre la motilidad espermática en humanos; sin embargo se ha observado que la combinación de ambas hormonas no tiene efec- to alguno sobre la motilidad. La presencia de relaxina y PGE₂ en el plasma seminal sugiere que en él existen factores aún no estudiados que regulan el efecto de estas dos hormonas sobre la motilidad espermática (10, 12, 60).

Se ha demostrado que la relaxina porcina aumenta la moti- lidad de los espermatozoides humanos in vitro (60). Lessig ob-

servó que la cafeína mejora significativamente la motilidad de los espermatozoides por producir incremento en la concentración celular de AMP cíclico; comparó además el efecto de la relaxina sobre dicha motilidad, para lo cual adicionaba la hormona al semen antes y después de congelarlo y observó que la relaxina mejoraba la motilidad espermática solamente cuando era adicionada en el momento de la descongelación del semen, no antes ni después (47, 68).

Se han realizado estudios en humanos que indican que la relaxina porcina además de estimular la motilidad espermática, facilita la penetración en el moco cervical (33). Esto deja entrever el uso potencial de esta hormona en la inseminación artificial ya que podría mejorar parámetros reproductivos y también aumentar los porcentajes de preñez (47).

Otros efectos. Bianchi en 1987 observó que la aplicación intravenosa de relaxina mejora el suministro sanguíneo al buche de las palomas, incrementando el diámetro de los vasos sanguíneos hasta en un 67%; se desconoce el mecanismo por el cual se explicaría este efecto, aunque permite suponer que la relaxina influye sobre la nutrición de sus órganos blanco (8).

X.- RELACION CON OTRAS HORMONAS.

Es actualmente aceptado que la relaxina interactúa con otras hormonas de la reproducción para producir sus efectos; se sabe también que podría estar involucrada en la secreción de algunas otras, sin embargo, dada la relativamente escasa investigación al respecto, se puede suponer que existen relaciones interhormonales de la relaxina aún no descubiertas.

A continuación se citan algunas de las relaciones que han sido postuladas entre la relaxina y otras hormonas.

Oxitocina. La relaxina incrementa la respuesta miometrial a la oxitocina, siendo este efecto dependiente de la presencia de estrógenos (53).

Por otro lado, la relaxina inhibe la contracción de las células mioepiteliales mamarias, aparentemente a través de un mecanismo de retroalimentación negativo, ejercido sobre las células hipotalámicas productoras de oxitocina (57,76,85), ya que se sabe que la relaxina corporal no influye sobre los efectos que la oxitocina exógena ejerce sobre la glándula mamaria de la rata en la lactación (85).

Prostaglandinas. La prostaglandina F_2 alfa ejerce un potente efecto de estimulación sobre la secreción de la relaxina de células cultivadas in vitro (78).

La PGF_2 alfa, relaxina y estrógenos actúan también sobre las membranas fetales activando a las enzimas involucradas en

el trabajo de parto (43, 78). Se realizó un estudio en el que se observó que la aplicación intramuscular de PFG₂ alfa en el día 112 de la gestación en vacas podría incrementar hasta 8 veces la concentración de relaxina en el plasma periférico e incluso provocar parto prematuro, aunque después de 45 minutos dichas concentraciones recuperaban sus valores cercanos al basal (3).

Progesterona. Independientemente de que tanto progesterona como relaxina son secretadas por el cuerpo lúteo (31), se ha demostrado que sus perfiles de secreción son marcadamente diferentes, y que en los días previos al parto de la cerda, las elevadas concentraciones de relaxina coinciden con una disminución de los niveles de progesterona (24). Sin embargo la relaxina exógena administrada durante la gestación cuando los niveles de progesterona son elevados, no provoca alteraciones en los perfiles de secreción de progesterona endógena (3).

Se ha observado en ratas que la progesterona actúa junto con la relaxina al final de la gestación, cuando la primera se encuentra ya en bajas concentraciones, evitando que el parto sea prematuro (11, 17, 22, 48, 61, 62, 74).

Estradiol. En la mayoría de las especies domésticas es importante la acción previa del estradiol para que la relaxina produzca sus efectos; además se sabe que el estradiol y la progesterona inducen la producción de relaxina en útero (46,53) -- Más aún, el estradiol produce aumento en las concentraciones sé

ricas de relaxina y progesterona en ratas hipofisectomizadas y ovariectomizadas en los días 15 a 18 de la gestación (45).

Por otra parte el estadiol induce el aumento del número de receptores uterinos y cervicales para la relaxina, provocando así un incremento en la secreción de relaxina de las células endometriales, lo cual induce el reblandecimiento cervical (18, 46, 53).

Gonadotropina coriónica humana (HCG). Esta hormona induce la secreción de relaxina en el día 8 a 10 postovulación en mujeres no gestantes (86), la edad del cuerpo lúteo parece ser determinante para que haya secreción de relaxina ante el estímulo de la HCG. Es interesante hacer notar que ambas hormonas -- tienen una curva de secreción similar durante toda la gestación (63, 85).

XI.- PERSPECTIVAS SOBRE EL CONTROL DE LA REPRODUCCION.

Con base en lo descrito en los capítulos anteriores, es posible dilucidar algunas aplicaciones que en lo futuro pudieran llegar a darse a la hormona relaxina, principalmente en lo que a parámetros reproductivos se refiere, ya que su uso podría dar solución a algunos problemas reproductivos que son frecuentes en las explotaciones animales.

- 1.- Dado que la relaxina tiene importante influencia sobre la motilidad espermática, incluso dentro del cuello uterino (33), con la aplicación de relaxina probablemente pudieran mejorarse los porcentajes de gestación.
- 2.- En la sincronización de partos. Ya que está demostrado que esta hormona provoca relajamiento del cuello uterino (87). Probablemente administrándola algunos días antes del parto en grupos de hembras gestantes pudiera lograrse tener partos programados, logrando con esto un mejor manejo de los animales.
- 3.- Se ha reportado que la relaxina favorece el desprendimiento placentario (3, 61), este es un problema frecuente en ruminantes para el que se han descrito múltiples etiologías; por lo que sería interesante realizar estudios sobre el posible uso de esta hormona para el tratamiento y/o prevención en los casos de retención placentaria.

- 4.- Reduciendo la duración del parto. Se ha observado en cerdas que la aplicación de relaxina antes de la expulsión del primer producto y después de la salida de los subsiguientes, redujo el tiempo de expulsión de cada lechón y el tiempo total de parto (3,31).
- 5.- Aumentando el tiempo de producción láctea. Ya que existen estudios que han demostrado que la relaxina junto -- con la progesterona y estrógenos provocan aumentos en la producción de prolactina, hormona que estimula la producción láctea (39).

Es importante considerar como ya se mencionó antes, que la relaxina puede tener efectos diferentes en cada especie y -- que en cada caso se hace necesario realizar amplios estudios -- previos para discernir el efecto de la hormona en cada una de -- ellas, incluso es necesario experimentar sobre las dosis, fre-- cuencia de las mismas y vías de administración en cada caso.

No obstante lo señalado arriba no debe perderse de vista que aún no se dispone de la hormona natural ni de algún sustituto sintético que pudiera realmente ser utilizado dentro de la - farmacología o terapéutica veterinarias y que únicamente se han señalado los usos que podría llegar a tener la hormona.

XII. CONCLUSIONES.

1.- A la fecha se sabe muy poco sobre la hormona relaxina; sin embargo su importancia es innegable, por lo que se hacen necesarios estudios más profundos sobre ella.

2.- Su descubrimiento fue determinado por su participación en la separación interpública durante la gestación en la cuya.

3.- El aislamiento de esta hormona ha sido difícil. Los estudios sobre su naturaleza química, en un principio se vieron obstaculizados por la presencia de precursores de la misma; sobre los cuales es poco lo que se conoce. Actualmente se sabe que su peso molecular varía de 6,000 a 7,200 daltones dependiendo de la especie de la que se haya aislado. Es aceptado también que existe cierta homología entre la relaxina y la insulina.

4.- Se ha supuesto que el mecanismo de acción de la relaxina está determinado por disminuciones en las concentraciones de calcio intracelular y por variaciones en las concentraciones del AMP cíclico, aunque ésto aún requiere de estudios más exhaustivos.

5.- Han sido numerosas las técnicas que se han utilizado para detectar los niveles de la hormona, dada la baja especificidad de la mayoría de ellas; los investigadores coinciden en que entre las pruebas más sensibles para detección de relaxina está la técnica de la avidín-biotín-inmunoperoxidasa.

6.- Los sitios de producción de la hormona varían de acuerdo a la especie y esto está directamente relacionado con la importancia del cuerpo lúteo durante la preñez. A la fecha se sabe que incluso las hembras no grávidas y el macho poseen órganos productores de relaxina.

7.- Se ha demostrado que las concentraciones de la hormona varían con la especie y con el estado fisiológico del animal. Existen ya datos que registran los niveles en las hembras de algunas especies, pero no han sido aún reportados para el caso de los machos.

8.- Los efectos de esta hormona han sido estudiados básicamente en cuanto a su participación durante la gestación, el parto y la lactación; sin embargo aunque no numerosos, existen ya reportes que indican que esta hormona favorece la motilidad espermática. No obstante se ha sugerido que existen efectos aún desconocidos, por lo que las investigaciones sobre la relaxina continúan.

9.- Para poder producir sus efectos la relaxina interactúa con otras hormonas; hasta el momento sólo se ha estudiado su relación con las que intervienen en los aspectos reproductivos. Aunque se cree que seguramente esté relacionada con hormonas no involucradas en la reproducción dada la amplitud de efectos que se están descubriendo de la relaxina.

10.- Debido a la importancia de los efectos que produce esta hormona valdría la pena considerar usos clínicos que pudie

ran dársele. Aunque esto requeriría de profundos estudios, ya que como se ha visto sus efectos y niveles varían de acuerdo a la especie, sexo y estado fisiológico del animal.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

XIII.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Adams, Walter C. y Frieden, Edward H., 1985 Inhibition of postpartum uterine involution in the rat by relaxin. Biology of reproduction. 33:1668-1175.
- 2.- Ali, Shujath M., Mc Murtry, J. P., Bagnel, C.A. y Bryant Greenwood, G.D., 1986. Immunocytochemical localization of relaxin in corpora lutea of sows throughout the estrous cycle. Biology of reproduction. 34;139-143.
- 3.- Anderson, L. L. y Pérez-Grovaz R., 1982. Biological Actions of relaxin pigs and beef cattle. Annals of New York Academic of Sciences. Vol. 380: 131-150.
- 4.- Bagnel, Carol., Mc Murtry, J.P. y Ali, S., 1987. Detection of relaxin by immunohistochemistry in the corpus luteum during lactation. Biology of reproduction. 37 (5): 1317-1326.
- 5.- Bani-Sacchi, T., Bainchi, S., Bani, G. y Bigazzi, M., 1987. Ultra structural studies on white adipocyte differentiation in the mouse mammary gland following estrogen and relaxin. Acta Anat. 129: 1-9.
- 6.- Bani, Gastone y Bigazzi, M., 1984. Morphological changes induced in mouse mammary gland by porcine and human relaxin. Acta anat. 119:149-154.

- 7.- Beraden, H. J. y Fuquay, J. 1982. Gestación en: Reproducción animal aplicada. El manual moderno. México, D.F. págs. 95, 96, 102. 358 pp.
- 8.- Bianchi, S. y Petrucci, F., 1988. The effect of relaxin on the blood capilars of the pigeon. Biological reproduction. 37 (5): 1317-1326.
- 9.- Bigazzi, M., Bruni, P., Nardi, E., Petrucci, F., Pollicino, G., Franchini, M., Scarselli, G., y Farnararo, M., 1982. Human decidual relaxin. Annals New York Academi of Science. 87-96.
- 10.- Brenner, H. S., Lesing, B.J., Schoenfeld, C., Goldsmith, T. L., Amelar, R., Dubin, L. y Weiss, G., 1987. Human semen relaxin and its correlation with the parameters of semen analysis. Fertility and Sterility. Vol. 47, No. 4, 714-716.
- 11.- Bryant-Greenwood, G. D., Rees, M. C. P. y Turnbull, C.A., 1987. Immunohistochemical localization of relaxin, prolectin and prostaglandin synthase in human amnion chorion and decidua. Journal of endocrinology Ltd. 114, -- 491-496.
- 12.- Colon, J. M., Ginsburg, F., Lesig, J. B., Schoenfeld, C., Goldsmith, T.L. Amelar, D.R., Dubin, L. y Weiss, G., 1986. The effect of relaxin and Prostaglandin E₂ on the motility of human spermatozoa, 1986, Fertility and Sterility. Vol. 46: 1113-1139.

- 13.- Chamley, W.A. y Parkington, H.C., 1984. Relaxin inhibits the Plateau component of the action potential in the circular myometrium of the rat. Journal Physiol. 353, 51-65.
- 14.- De Alba, Jorge. 1985. Funciones del Sistema Reproductor en la Hembra en: Reproducción animal. La Prensa Médica - Mexicana. México, D.F. Pág. 37, 99-102, 538 pp.
- 15.- De Gandarias, J. J. 1975. Fisiología especial aplicada. Científico Médica. Barcelona, España. 1233 pp.
- 16.- Downing, S. J. Sherwood, O. D. 1985. The physiological role of relaxin in the pregnant rat, I. The influence of relaxin parturition. Endocrinology. Vol. 116, No. 3, 1200-1205.
- 17.- Downing, S.J. y Sherwood, O. D., 1985. The physiological role of relaxin in the Pregnant rat, II. The influence of relaxin on uterine contractile activity. Endocrinology. Vol. 116, No. 3, 1206-1214.
- 18.- Downing, S.J. y Sherwood, O. D., 1985. The physiological role of relaxin in the pregnant rat, III. The influence of relaxin on cervical extensibility. Endocrinology. Vol. 116, No. 3, 1215-1220.
- 19.- Downing, S.J. y Sherwood, O.D. 1986. The physiological role of relaxin in the pregnant rat, IV. The influence on cervical collagen and glycosaminoglycans. Endocrinology. Vol. 118 No. 2, 471-479.

- 20.- Duckson, M. W., 1981. Glándulas endócrinas en: Fisiología de los animales domésticos. Dukes H. H. y Swanson, J. M. (Ed.) Aguilar Tomo II. México, D.F. pág. 1582, - - 1595, 1574, 1634. 1864 pp.
- 21.- Edwards, J.R.C. y Newall, D.F., 1988. Relaxin as an aetiological factor in diabetic embryopathy. The Lancet. 1428-1430.
- 22.- Eldridge, R. K. y Fields, P.A., 1985. Rabbit placental relaxin: purification and immunohistochemical localization. Endocrinology. Vol. 117, No. 6, 2512-2519.
- 23.- Essig, M., Schoenfeld, C., D'Eletto, R., Amelar, R., Dugin L., Steinetz, G.B., O'Byrne, M. O. y Weiss, G., 1982. Relaxin in human seminal plasma. Annals New York academic of Science, 224-228.
- 24.- Felder, K.J., Molina, R.J., Benoit, M.A. y Anderson, L. L. 1986. Precise timing for peak relaxin and decreased progesterone secretion after hysterectomy in the pig. Endocrinology. Vol. 119 No. 4, 1502-1509.
- 25.- Frandson, J., 1985. Fisiología y Anatomía de los animales domésticos. Interamericana. México, D.F. 23a. ed. pág. 308. 461 pp.
- 26.- Fush, V. Seeger, W. y Lippert T. H., 1988. Relaxin immunoreactive in the secretion cervic-vaginal in human. Arch ginecol. Obstet. 243 (1): 37-40.

- 27.- Ganong, William F., 1986. Las gónadas desarrollo y función en: Fisiología Médica. El manual moderno. 11a. ed. pág. 353, 381. 711 pp.
- 28.- Ginsburg, Frances W. y Amelar, R., 1988. The effect of relaxin on calcium fluxes in the rat uterus. Am. J. Obstet. ginecol. 159 (6). 1395-1401.
- 29.- Guyton, H., 1985. Embarazo y lactancia en: Tratado de Fisiología Médica. Interamericana. 6a. ed. México, D.F. pág. 1213, 1214, 1263 pp.
- 30.- Hafez, E.S., 1978. Adaptación de los animales de granja. Herrero. 2a. ed. México, D.F. 665 pp.
- 31.- Hafez, E. S. 1984. Reproducción e Inseminación Artificial en animales. Interamericana. 4a. ed. México, D.F. pág. 382-383. 599 pp.
- 32.- Hall, R., 1960. Modification by relaxin on the responses of the reproductive tract of mice to estradiol and progesterone. Journal of endocrinology. 20:355-364.
- 33.- Harris, M. A., Ewing, K., Park, J. M., 1980. An evaluation of the relaxin in the penetration of cervical mucus spermatozoa. Human reprod. 3(7): 856-860.
- 34.- Hisaw, F.L., 1927. Experimental relaxation of the sinfisis pubis of the Guinea pigs. Anat record: 126 abstract 121.

- 35.- Hisaw, F. L. y Zarrow, M.X., 1950. The physiology of the relaxin. Vitam. Hormon. 8151-178.
- 36.- Hollingsworth, N., I. Sherwood, N. M. y Foster, W. 1979. The effects of oestradiol benzoate, progesterone, relaxin and ovariectomy on cervical extensibility in the late pregnant rat. J. Reprod. Fertil. 56: 471-477.
- 37.- Houssay, Bernard., 1980 Fisiología humana. Ateneo. Buenos Aires, Argentina. Pág. 632. 972 pp.
- 38.- Jones, S.A. y Summerlee, A. J. S. 1986. Relaxin acts centrally to inhibit oxytocin release during parturition: an effect that is reversed by naloxone. Journal endocrinology. 111, 92-102.
- 39.- Jun Huang, L., Tseng, L., Bischof, P. y Jänne, A. 1987. Regulation of prolactin production by progestin, estrogen, and relaxin in human endometrial stromal cell. Endocrinology, Vol. 101. No. 6, 2011-2017.
- 40.- Katzung, Bertram G., 1984. Farmacología básica y clínica. El manual moderno. México, D.F., 866 pp.
- 41.- Keidal, Wolf., 1973. Fisiología Salvat. Hispanoamericana. Barcelona, España. 574 pp.
- 42.- Khan - Dawood, F., Goldsmith, T. L., Weiss, G. y Dawood, M., 1989. Human corpus luteum secretion of relaxin, oxytocin and progesterone. Journal of clinical endocrinology and metabolism. Vol. 68, No. 3, 627-631.

- 43.- Koay, Evelyn S., Bryant-Greenwood, D.G., Yamamoto, Y. S. y Greenwood, C.F. 1986. The human fetal membranes: A target tissue for relaxin. Journal of clinical endocrinology and metabolism. Vol. 62, No. 3, 513-521.
- 44.- Kwok, Simon. y Bryant-Greenwood., 1977. Primary structure of porcine relaxin: homology with insulin and related -- growth factors. Nature. Vol. 267, 544-546.
- 45.- Lao, Guico M. S. y Sherwood, D. O., 1985. Effect of oestradiol-17 β on ovarian and serum concentrations of relaxin during the second half of pregnancy in the rat. J. - reprod. Fertil. 74, 65-70.
- 46.- Larkin, N. L., Ogilvie, S., Wubbel, L. y Welch, E. D., 1987. Effects of estradiol and progesterone on accumulation of relaxin and-carbohydrate- containing granules in endometrial gland cells of the Guinea pig. The american journal of anatomy. 179: 333-341.
- 47.- Lessing, B. J., Brenner, H. S., Schoenfeld, C., Amelar, D. R., Dubin, L. y Weiss, G., 1985. The effect of relaxin on the motility of sperm in freshly tawed human semen. Fertility and sterility. Vol. 44. No. 3, 406-409.
- 48.- Lippert, T. H., Steinetz, B. y Goldsmith, L. T. 1987. The action of relaxin, fenoterol and epinetrine on the uterine motility of the rat. International Journal of -- clinical pharmacology and toxicology. Vol. 25. No. 10. - 565-567.

- 49.- López, Bernal A., Guillian, D. y Bryant-Greenwood., 1987. Effect of relaxin on prostaglandin E production by human amnion: changes in relation to the onset of labour. British journal of obstetrics and gynecology. Vol. 94, - - 1045-1051.
- 50.- Loumage, E., De Cooman, S. y Thomas, K., 1987. Relaxin a parahormone of the ovary. Fertil sex. 15(6): 585-587.
- 51.- Loumage, E., De Cooman, S. y Thomas, K., 1980. Immuno- - reactive relaxin-like substance in human seminal plasma. Journal of clinical endocrinology and metabolism. Vol. 50, No. 6, 1142-1143.
- 52.- Mc Donald, L. E. 1983. Reproducción y endocrinología veterinarias. Interamericana, 2a. ed. México, D.F. pág. 410-411. 466 pp.
- 53.- Mercado-Simmen, R., Bryant-Greenwood, D. G. y Greenwood, F., 1982. Relaxin receptor in the rat myometrium: regulation by estrogen and relaxin. Endocrinology, Vol. 5, - - 220-226.
- 54.- Musah, J. P. y Anderson L. L., 1987. Induction of parturition, progesterone secretion and delivery of placenta in beef heifers given relaxin with clorprostenol or dexametasone. Biology of reproduction. 37, 797-803.

- 55.- Musah, A.I., Schwabe, C. y Anderson, L. L. 1987. Acute - decrease in progesterone and increase in estrogen secretion caused by relaxin during late pregnancy in beef - - heifers. Endocrinology. Vol. 120 No. 1. 317-324.
- 56.- Nishikori, W., Wiesbrodt, S.N., Sherwood, D. y Sanborn, M. Bárbara., 1982. Relaxin alters rat uterine myosin - - light chain phosphorylation and related enzymatic activities. Endocrinology. Vol. III, No. 5, 1743-1745.
- 57.- O' Byrne, K. T., Eltringham, L. y Summerlee, A. J. S. 1987. Central inhibition effects of relaxin on the milk ejection reflex of the rat depends upon the site of injection into the cerebroventricular system. Brain Research. 405, 80-83.
- 58.- O' Byrne, E. M. y Steinetz, B. G. 1976. Radioimmunoassay (RIA) of relaxin in sera of various species using an antiserum to porcine relaxin. Proc. soc. exp. biol. med. 152: 272-276.
- 59.- O' Byrne, E. M. 1978. Plasma immunoreactive relaxin levels in pregnant and non-pregnant women. J. clin. endocrinol. metab. 47:1106-1110.
- 60.- Park, J., Ewing, K., Mille, F. y Friedman, Ch. 1988. - - Effect of the relaxin, on the capacity of fertility of the human spermatozoa. Am. J. obstet. gynecol. 158(4): 974-979.

- 61.- Pérez-Grovas, Raúl., 1981. Effect of porcine relaxin - - upon cervical dilatation and pelvic area during late - - pregnancy in beef heifers. Thesis requeriment for the -- degree of master of science. Iowa State University, Ames Iowa, 152 pp.
- 62.- Porter, D.G., Downing S. J. y Bradshaw, M. C. 1979. Relaxin inhibits spontaneous and prostaglandin driven myometrial activity in anaesthetized rats. Journal of Endocrinology. 83, 183-192.
- 63.- Quagliarello, J., Goldsmith, L., Steinetz, B., Lustig, Dinah S. y Weiss, Gerson., 1980. Induction of relaxin secretion in nonpregnant women by human chorionic gonadotropin. Journal of clinical endocrinology and metabolism. Vol. 51, No. 1, 74-77.
- 64.- Quagliarello, J., Lustig, D. S. y Weiss, G., 1980. Absence of a prelabor relaxin surge in women. Biol. reprod. - 22; 202-204.
- 65.- Renegar, R. H. y Larking, L. H., 1985. Relaxin concentrations in endometrial, placental, and ovarian tissues and in sera from ewes during midle and late pregnancy. Biology of reproduction. 32, 840-847.
- 66.- Schmidt, N. G., 1971. Biología de la lactación. Acribia. Zaragoza, España. pág. 90. 307 pp.

- 67.- Schmidt, C. L., Goldsmith, T. L. Carr., B. R., Weiss, G., Parker, C. R. y Illingworth, R., 1988. Peripheral relaxin levels during pregnancy in a woman with homozygous familial hypobetalipoproteinemia. Fertil and steril. Vol. 50, No. 5, 815-817.
- 68.- Schwabe, Christian. y Bullesbach, E., 1988. Chemistry -- and physiology of mammalian relaxins. Atlas of Science, Biochemistry, 0894, 37-53.
- 69.- Smidt, Dietrich., 1982. Regulación endócrina de la reproducción en: Endocrinología y Fisiología de la reproducción de los animales 200 técnicos. Acribia. Zaragoza, España. Pág. 76. 375 pp.
- 70.- Sorensen, A. M. Jr., 1982. Parto y período post parto en: Reproducción animal: principios y prácticas. Mc. Graw -- Hill. México, D.F. pág. 452. 539 pp.
- 71.- Stewart, Denis R. y Staben, Feldt George., 1985. Relaxin activity in the pregnant cat. Biology of reproduction. - 848-854.
- 72.- Stewart, D. y Staben Feldt, H. G., Nughes, P. J. y Meagher, D.M. 1982. Determination of the source of equine relaxin. Biology of reproduction. 27, 17-24.
- 73.- Steinetz, B. G., 1959. The physiology of relaxin in a laboratory animal. C. W. Llyd academic press, New York. -- 389-427.

- 74.- Stites, Daniel P., 1985. Inmunología básica y clínica. - El manual moderno. 5a. ed. México, D.F. pág. 342-349. -- 842 pp.
- 75.- Strand, Fleur L., 1983. Physiology a regulation systems approach. Mc Millan. 2a. ed. E.U.A. 1983. 796 pp.
- 76.- Summerlee, A. J. S., O' Byrne, K. T., Paisley, A. C., -- Breeze, M. F. y Porter, D.g. 1984. Relaxin affects the - central control of oxitocin release. Nature. Vol. 309; - 372-374.
- 77.- Swenson, W. J., 1981. Funciones de la integración y re- producción. Aguilar. 4a. ed. México, D.F. 1864 pp.
- 78.- Taylor, M. J., Clark, L. Ch. y Frawley, L. S., 1987. Ana- lysis of relaxin release from cultured porcine luteal -- cells by reverse hemolytic plaque assay: Influence of -- gestational age and prostaglandin F₂ . Endocrinology. - Vol. 120, No. 5, 2085-2091.
- 79.- Taylor, M. J. y Clark, Ch., 1989. Evidence of the exis- tence of one tape of cells luteal esteroidogenic and li- berty of relaxin. Clinical endocrinology and metabolism. Vol. 68. No. 3, 627-631.
- 80.- Tepperman, Jay., 1973. Fisiología metabólica y endócrina. Interamericana, 3a. ed. México, D.F. 225 pp.
- 81.- Tizard, J. R., 1973. Inmunología veterinaria. Interameri- cana. México, D.F. 404 pp.

- 82.- Vasilenko, P. y Mead, J. P., 1987. Growth-Promoting - -- effects of relaxin and related compositional changes in the uterus, cervix, and vagina of the rat. Endocrinology. Vol. 120, No. 4. 1370-1376.
- 83.- Vaupel, M. R., Sherwood, O.D.F y Anderson, B. M., 1985. Immunocytochemical studies of relaxin in ovaries of pregnant and cycling mice. The journal of histochemistry and cytochemistry. Vol. 33, No. 4, 303-308.
- 84.- Wada, N. y Yahura, M., 1956. Studies on relaxin in ruminants (2) relaxin content in the uterine of pregnant -- and postpartum cross. Sci. Repts. Fac. Agr. Okayama Univ. Japan, 8: 39-44.
- 85.- Whitely, J., Willcox, D. L., Hartmann, P.E., Yamamoto, Y. S. y Bryant-Greenwood, D.G., 1985. Plasma relaxin levels during suckling and oxytocin stimulation in the lactating sow. Biology of reproduction. 33:705-714.
- 86.- Yki-Järvinen, T., Wahlström, T. y Seppälä, M., 1983. Immunohistochemical demonstration of relaxin in the genital tract of pregnant and non pregnant women. Journal of clinical endocrinology and metabolism. Vol. 57, No. 3, - 451-454.
- 87.- Zarrow, M. X. y Yochim, J., 1960. Dilation of the uterine cervix of the rat and accompanying changes during the estrus cycle, pregnancy and following treatment with estradiol, progesterone and relaxin. Biological Sciences.

Dpto. Purdue Univ. Lafayette, Indiana, Vol. 69, 292-304.