

# RELAKSİNİN KARDİYOVASKÜLER SİSTEM ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

**Melike Nur Akbaş**

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya

## ÖZET

İlk önce hamilelik hormonu olarak tanımlanan relaksin, günümüzde hem kadınlarda hem de erkeklerde çeşitli pleotropik etkilerinin varlığı ile bilinmektedir. Bu pleotropik etkiler; antienflamatuar, antifibrotik, anti-hipertrofik, antiapoptotik gibi kardiyovasküler ve renal sistemleri ilgilendiren fizyolojik rollerdir. Relaksinın TGF- $\beta$  (Dönüştürücü büyüme faktörü-beta) ve MMP (Matriks metalloproteinaz) gibi çeşitli gen ekspresyonlarını değiştirdiği ve cAMP (siklik adenosin monofosfat), cGMP (siklik guanozin monofosfat), MAPK (Mitojenle aktiflenen protein kinaz) gibi çeşitli sinyalizasyon yollarını aktive ettiği de bildirilmektedir. Böylece relaksin, vasküler fonksiyonlar üzerindeki koruyucu etkisinin yanında kardiyak

fibrozis üzerinde de baskılayıcı bir özelliğe sahip olarak kardiyak fonksiyonları iyileştirmektedir. Relaksin bu etkilerini RXFP1 (Relaxin/İnsulin-benzeri aile peptit reseptörü 1)'e bağlanarak gerçekleştirmektedir. RXFP1, G protein kenetli reseptör ailesindendir. Yapılan çalışmalar RXFP1'in farklı damar yataklarında farklı lokalizasyonlarda (vasküler düz kas hücresi veya endotel hücresinde) bulunduğunu göstermektedir. Bu derlemede relaksinın kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerinin hücresel mekanizmaları ve farklı damar yataklarındaki etkileri hayvan modelleriyle birlikte sunulmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Relaksin, serelaksin, kalp yetmezliği, fibrozis, vazodilatasyon. **Nobel Med 2019; 15(1): 5-14**

## THE EFFECTS OF RELAXIN ON CARDIOVASCULAR SYSTEM

### ABSTRACT

Relaxin, initially identified as a hormone of pregnancy, is now known to exert different pleiotropic effects in both males and females. These pleiotropic effects are physiological roles related to cardiovascular and renal systems such as antiinflammatory, antifibrotic, anti-hypertrophic, antiapoptotic. Relaxin has been reported to alter various gene expressions such as TGF- $\beta$  (Transforming growth factor- $\beta$ ), MMP (matrix metalloproteinase) and activate various signaling pathways such as cAMP (cyclic adenosine monophosphate), cGMP (cyclic guanosine

monophosphate), MAPK (mitogen-activated protein kinase). Thus, relaxin is known to have an inhibitory role on cardiac fibrosis as well as protective effect on vascular functions. Relaxin shows these effects by binding to RXFP1 receptor (Relaxin/insulin-like family peptide receptor 1). RXFP1 is in the G protein coupled receptor family. Studies show that RXFP1 is present at different localizations (vascular smooth muscle cells or endothelial cells) in different vessel beds. In this review, the cellular mechanisms of relaxin effects on cardiovascular system and the effects of different vascular beds are presented together with animal models.

**Keywords:** Relaxin, serelaxin, heart failure, fibrosis, vasodilatation. **Nobel Med 2019; 15(1): 5-14**

## GİRİŞ

1926 yılında Frederick Hisaw, gebe sıçanlardan ve kobaylardan aldığı serumu gebe olmayan kobaylara enjekte etmesiyle pubic ligament bölgesinde gevşeme yanıtını kaydetmiştir.<sup>1</sup> Daha sonra bu molekül relaksin peptidi olarak adlandırılmıştır. Relaksin kadınlarda menstrüel siklus ve hamilelik boyunca korpus luteumdan, erkeklerde ise prostattan doğal olarak üretilmektedir. Yapısal olarak insüline benzemektedir. C-peptidin çıkmasıyla iki zincir haline dönüşür ve disülfid bağlarıyla korunur. Bu benzerliğe rağmen, her ikisi de farklı reseptörlere etki etmektedir ve buna bağlı olarak biyolojik özellikleri birbirinden farklıdır.<sup>2</sup>

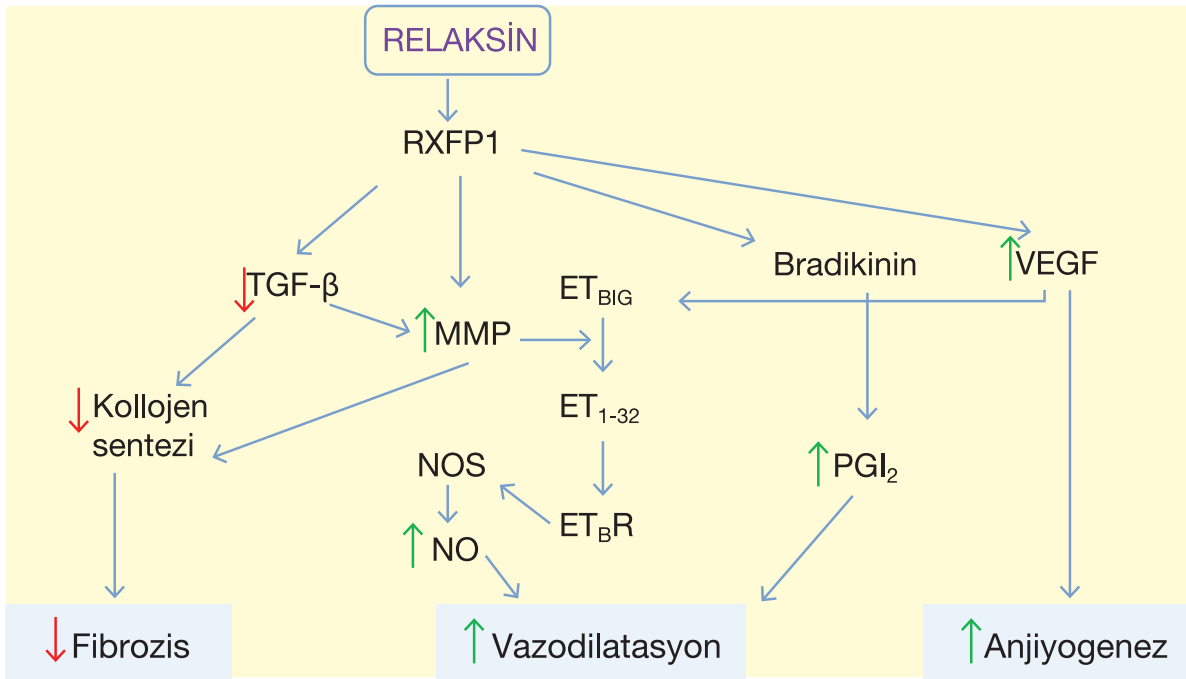
Hamileliğin ilk üç aylık döneminde kandaki relaksin miktarı artar ve vücut, metabolik atıkların renal klirens için artan gereksinimlerini karşılayabilmek ve büyüyen fetüsün artan besin ihtiyacını düzenleyebilmek için bazı renal ve kardiyovasküler adaptasyonları başlatır. Bunlar; kardiyak outputta %20 artış, sistemik damar direncinde %30 azalma, genel arteriyel kompliyansa %30 artış, renal kan akımında %45 artış şeklindedir.<sup>3</sup> Bu hemodinamik ve renovasküler adaptif değişikliklerin tetiklenmesi kalp yetmezliği tedavisi için faydalı bir etki olarak değerlendirilmektedir.

Relaksinın üç izoformu bulunmaktadır. Literatüre relaksin olarak geçen izoformu relaksin-2'dir. İnsan relaksininin, yani relaksin-2'nin rekombinant türevi olan serelaksin (RLX030), relaksin reseptörünü hedef almaktadır.<sup>4</sup> Geçtiğimiz on yıl boyunca hayvan modellerine relaksin uygulanmasının çok büyük bir ilgi uyandırdığı görülmektedir.<sup>4</sup> Bu çalışmaların arasında relaksinın vasküler tonüsü modüle etmesi, kardiyak outputu ve arteriyel kompliyansı artırması, sistemik vasküler direnci düşürmesi, iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu aktivite göstermesi gibi kardiyovasküler sistemi içeren çok çeşitli prelinik çalışmalar yer almaktadır.<sup>4</sup> Şu anda serelaksin akut kalp yetmezliğinin tedavisi için geliştirilmiş faz çalışmaları içerisinde. İlacın güvenliğinin ve tolere edilebilirliğinin değerlendirildiği Faz I çalışmalarında ilacın iyi tolere edilebilir olduğu, Japon ve Kafkas ırkında gözlemlenen farmakokinetik verilerinin benzer olduğu ve karaciğer yetmezlikli hastalarda doz ayarlamasına ihtiyaç duyulmadığı vurgulanmıştır. Ayrıca takip süresinde herhangi bir ciddi advers etki raporlanmamıştır.<sup>5,6</sup> Ponikowski ve ark.'nın akut kalp yetmezlikli 71 hastada yaptığı çok merkezli randomize bir Faz II çalışmasında ise 20 saatten daha fazla süre ile 30 µg/kg/gün dozunda

serelaksin uygulamasının pulmoner kapiller uç basıncında ve pulmoner arter basıncında anlamlı bir azalış meydana getirdiği rapor edilmiştir. Bunu kalp yetmezliği tanısında kullanılan NT-proBNP (B-tipi natriüretik peptid (BNP)'in N-terminal prohormonunu) seviyelerinde anlamlı bir azalma ve kreatinin klirensinde ise anlamlı bir artış izlemiştir.<sup>7</sup> Diğer bir Faz II çalışması olan PRE-RELAX AHF çalışmasında 60 gün içerisinde kalp yetmezliği veya renal yetmezlik sonucu hastaneye yatışın serelaksin uygulanan grupta anlamlı olarak düştüğü rapor edilmiştir.<sup>8</sup> Serelaksin şu anda genişletilmiş Faz III klinik çalışmaları içerisinde. RELAX-AHF Faz III mortalite çalışmasındaki en önemli bulgu 48 saatlik serelaksin infüzyonunun 180 günlük mortalitede anlamlı bir azalışa sebep olmasıdır. Bu durum klinik açıdan önemli bir bulgudur. Çünkü akut kalp yetmezliğinde asıl hedef hastane dışı ölümlerin ve tekrar hastaneye yatışın azaltılmasıdır. Ayrıca Troponin T ve NT-proBNP düzeylerinde de anlamlı bir azalış saptanmıştır.<sup>9</sup> RELAX-AHF'nin klinik hedefleri yeniden düzenlenerek oluşturulan ve 6600 hastanın dahil olduğu RELAX-AHF-2 Faz III çalışması son zamanlarda tamamlanmış ve sonuçları yayınlanmıştır. Ancak bu çalışmada 48 saatlik serelaksin infüzyonunun diğer umut vaadeden klinik çalışmalardan farklı olarak kardiyovasküler ölümleri ve kalp yetmezliğinde kötüleşmeyi anlamlı olarak azaltmadığı ortaya çıkmıştır.<sup>10</sup> Bu sonuçlar klinik bakımdan anlamlı bulunmakla beraber, akut kalp yetmezliğinin patofizyoloisindeki karmaşıklığı tam olarak karşılayamamaktadır.<sup>10</sup> Son zamanlarda yayınlanan bir makalede de bu hastalığın, 48 saatlik bir hastalık değil, daha derin sonuçları olan kronik bir sendrom olarak değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır.<sup>10</sup> Yayınlanan bu makalede, kalp yetmezliği ile ilgilenen klinik araştırma uzmanlarına, akut kalp yetmezliğinin tedavisini sadece 48 saatlik bir protokolle değil akut ve uzun süreli olarak (haftalar ve aylar) paranteral veya oral uygulanabilecek şekillerde düzenlemeleri gerektiği önerilmiştir.<sup>10</sup>

## Relaksinın Pleotropik Etkileri

Relaksin başlangıçta üreme hormonu olarak kabul edilse de günümüzde kardiyovasküler ve renal sistemlerin de dahil olduğu birçok fizyolojik yanıtta görev aldığı bilinmektedir. Hamileliğin kardiyovasküler adaptasyonlarında endojen relaksinın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada gebeliğin erken dönemlerindeki sıçanlara overektomi uygulanmış veya monoklonal antikorlar (relaksin nötralize edici antikorlar) vasıtasıyla dolaşımdaki relaksinın nötralleştirilmesi sağlanmıştır. Bu



**Şekil 1.** Relaksinin pleotropik etkileri.

**ET<sub>BIG</sub>**: Büyük endotelin, **ET<sub>B</sub>R**: endotelin B reseptörü, **MMP**: matriks metalloproteinaz, **PGI<sub>2</sub>**: prostasiklin, **RXFP1**: relaxin/insulin benzeri aile peptid reseptörü  
**1: TGF-β**: dönüştürücü büyüme faktörü-β, **VEGF**: vasküler endotel büyüme faktörü.

işlemlerin uygulanmasından sonra relaksin tarafından sağlanan kardiyak output ve arteriyel kompliyanstaki artmanın ve sistemik vasküler dirençteki düşmenin engellendiği bildirilmiştir. Bununla birlikte gebelik süresince normal olarak gözlenen renal vazodilatasyonun da inhibe olduğu gösterilmiştir.<sup>11</sup>

Relaksinin diğer kronik etkileri ise uyarılmış ekstraselüler matriks (ECM) birikimini inhibe etmesidir. Rat kardiyak, renal, hepatik ve insan pulmoner dokuları üzerindeki çalışmalarda fibroblastların miyofibroblastlara (miyofibroblastlar aktifleşmiş fibroblastlardır ve ECM/kollajen birikimine ve fibrozise sebep olur) aktivasyonu ve dönüşümünün relaksin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir.<sup>12-15</sup> Bu dönüşüm engellenerek antifibrotik etkiye katkı sağlanmaktadır.

Matriks metalloproteinaz (MMP)'lar; ECM/kollajen yıkımından sorumludur. TIMP (MMP'lerin doku inhibitörü) ise MMP'lerin doku inhibisyonunda görev almaktadır.<sup>16</sup> Relaksinin MMP aktivitesini artırdığı ve TIMP aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir.<sup>17</sup> Bu sayede relaksin antifibrotik aktivite göstermektedir. Ayrıca relaksinin insan trofoblastlarında antiapoptotik ve antihipertrofik etkinlikte olduğu gösterilmiştir.<sup>18</sup> Relaksinin bu antiapoptotik etkileri RXFP1 reseptörü bağımlıdır. Çünkü RXFP1<sup>-/-</sup> farelerde bu etki görülmemiştir.<sup>19</sup>

Relaksin hayvanlarda ve insanlarda antienflamatuvar etkinliğe sahiptir. Relaksin bu etkiyi TNF-α (Tümör nekroz faktörü-alfa) kaynaklı vasküler hücre adhezyon molekülünü, platelet endotelial hücre adhezyon molekülünü ve kemokin CCL2 (C-C motif ligand 2)'nin ekspresyonunu inhibe ederek göstermektedir.<sup>20</sup>

Nitrik oksit (NO) sinyalizasyonu relaksinin vazodilatör etkisinin hiç şüphesiz ki kaynağıdır. Relaksinin bu etkisi çeşitli vasküler yatlarda ve dokularda farklılık göstermektedir. Bu derlemede relaksinin klasik NO yollarına ek olarak tüm vazodilatör ve vazoprotektif mekanizmaları ve kalp yetmezliği tedavisinde önemli bir parametre olan antifibrotik etkisi güncel mekanizmaları ile birlikte anlatılmıştır (Şekil 1).

### Relaksinin Kardiyak Fibrozis Üzerindeki Etkileri

Miyokardda fibrotik dokunun aşırı birikimi kardiyak "remodelling" in (yeniden şekillenme) ana bileşenidir. Bağ doku liflerinin oluşumu ve dağılımı kalbin yeni patofizyolojik durumuna karşı adaptasyonunu düzenlemektedir.<sup>21</sup>

Fibrozis doku hasarında başarısız yara iyileşmesi olarak tanımlanabilir ve aşırı ECM birikiminden kaynaklanmaktadır. Bu aşırı ECM birikimi yetişkinlerde çoğunlukla kardiyovasküler

hastalıkların patogenezi ile ilişkilidir ve bu tablo kalp kasılma ve gevşeme bozuklukları ile birlikte kalp yetmezliği ile sonuçlanmaktadır. ECM sentezi her zaman olumsuz bir durumu çağrıştırmamalıdır. Sağlıklı koşullarda kollajen birikimi kalbin yapısını korumak için sınırlandırılrsa da çeşitli kalp hastalıkları sırasında kollajen ağı kantitatif ve kalitatif çeşitli değişikliklere uğramaktadır.<sup>21</sup> Yani ECM sentezi ve birikimi sürekli ve kontrolsüz olduğunda sorun ortaya çıkmaktadır.

Fibrozisteki temel olay fibroblastların miyofibroblastlara aktivasyonu ve farklılaşmasıdır. Miyofibroblastlar kardiyak fibroziste önemli rol oynamaktadır. Kardiyak fibroblastlar ile karşılaştırıldığında, miyofibroblastların iki kat daha fazla kollajen sentezleme kapasiteleri vardır ve miyofibroblastlar sağlıklı miyokardda görülmezler. Ayrıca, proinflamatuvar ve profibrotik uyarılara karşı daha duyarlı olup, kemokin ve sitokinleri büyük bir oranda sentezleme yeteneğine sahiptir. Diğer bir önemli nokta da miyofibroblastların alfa düz kas aktini ve adhezyon kompleksini taşımalarıdır. Çeşitli büyüme hormonları, sitokinler, hormonlar ve bunun yanında mekanik gerilim ve hipoksi gibi faktörler ECM yapımını ve yıkımını düzenlemektedir.<sup>21</sup>

Relaksin ile çeşitli organlar ve deneysel modeller üzerinde hızlı antifibrotik etkinin meydana geldiği gösterilmiştir. İskemi/reperfüzyon hasarı, miyokard infarktüsü, hipertansif kalp hastalığı ve kardiyomiyopati gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıkların dahil olduğu hayvan modellerinde fibrozisi durdurduğu veya geriye çevirdiği tespit edilmiştir.<sup>22</sup>

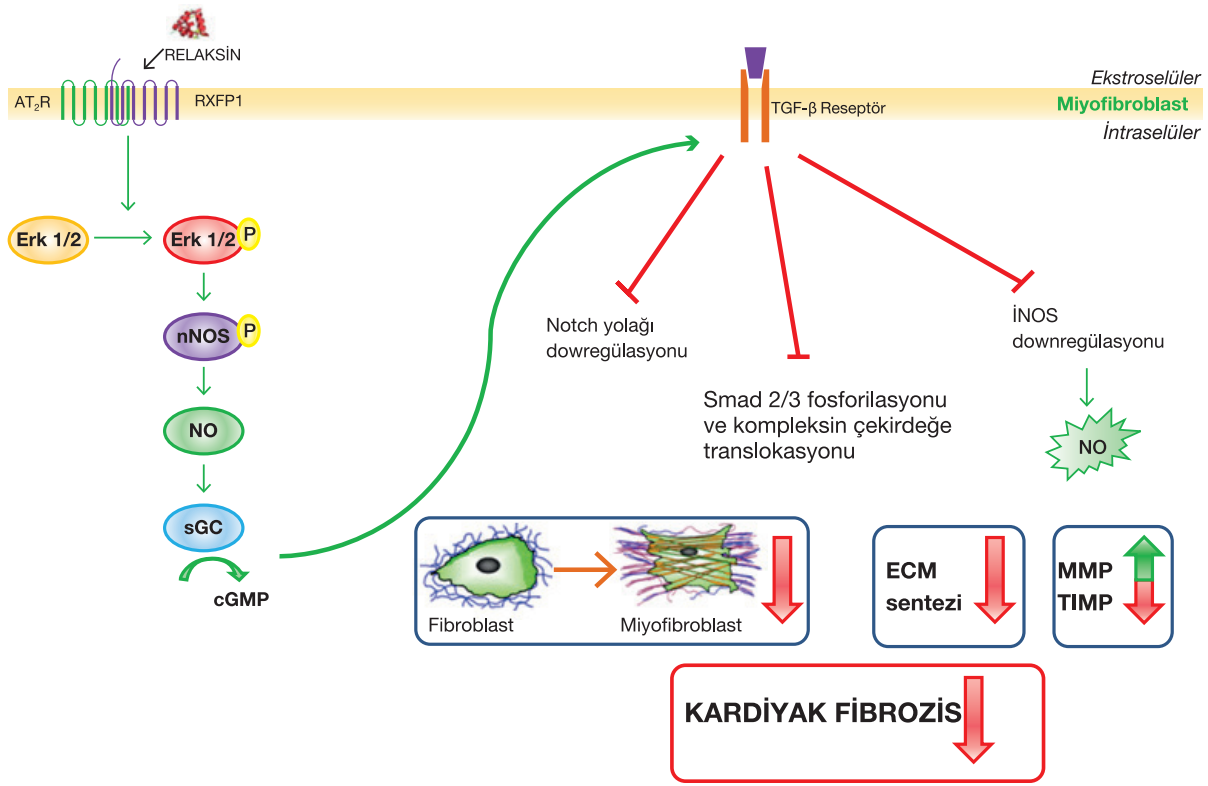
### **Relaksinin Antifibrötik Etkisinin Sinyal İletim Mekanizması**

Dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ) izoformları, yara iyileşmesinde ve doku onarımında merkezi bir rol oynayan çok fonksiyonlu sitokinlerdir. Genel olarak, TGF- $\beta$ 'nin aktivasyonu, çeşitli ECM proteinlerinin üretimini uyarır ve bu matriks proteinlerinin degregasyonunu engeller. İdeal koşullar altında TGF- $\beta$ 'nin bu etkileri, doku yapısının yenilenmesine sebep olmaktadır ve fibrozis doku oluşumunun doğal olarak bir parçası olarak değerlendirilen doku onarımına katkıda bulunmaktadır. İdeal şartların yaşanmadığı kalp yetmezliği, diyabet gibi hastalıklarda ise TGF- $\beta$  sinyalizasyonu normal organ fonksiyonunu tehlikeye atan aşırı derecede patolojik doku fibrozuna katkı sağlamaktadır.<sup>23</sup> TGF- $\beta$ 'nin reseptörüne bağlanarak aktifleşmesi ile sitozoldeki RSmad

olarak adlandırılan Smad 2/3 proteinleri fosforile olmaktadır (Smad proteinleri transkripsiyonda görev alan proteinlerdir). Smad 4 proteini de RS Smad'ın etkisi ile fosforillenmektedir.<sup>24</sup> Smad 2, 3 ve 4'ten oluşan bu Smad kompleksi daha sonra, fibrojenizde yer alan genlerin ekspresyonunu düzenlediği çekirdeğine geçerek ECM ve kollojen miktarını artırmaktadır. Eğer patolojik bir durum mevcut ise anormal fibrozis doku oluşumu meydana gelecektir.<sup>25</sup>

Hücre tipine bağlı olarak relaksin endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS)'ı, nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS)'ı aktive edebilmekte veya indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS)'ın ekspresyonunu artırabilmektedir. İnsan kardiyak fibroblastlarında ve rat renal miyofibroblastlarında (eNOS bulunmamaktadır) relaksin antifibrotik etkiye aracılık eden nNOS ve cGMP'yi upregüle etmektedir. Çünkü relaksinın sağladığı TGF- $\beta$  inhibisyonunun nNOS ve cGMP inhibitörleri ile inhibe edildiği bulunmuştur. Bunun yanında renal miyofibroblastlarda nNOS ekspresyonunun ve aktivitesinin relaksin aracılığı artışı, erk sinyal yolağını inhibe eden ajanlarla bloke edildiği bildirilmiştir. Bunun sonucu olarak erk1/2'nin nNOS'un upstreamında yer aldığı ve relaksin tarafından sağlanan TGF- $\beta$  kaynaklı aşırı fibrotik yolağın inhibisyonunda "pERK1/2-nNOS-NO-sGC-cGMP" yolağının dahil olduğu sonucuna varılmıştır.<sup>26,27</sup> Böylelikle aktifleşen "pERK1/2-nNOS-NO-sGC-cGMP" yolağının TGF- $\beta$  kaynaklı Smad fosforilasyonunu engelleyip antifibrotik etki yararına katkı sağlayacağı düşünülmektedir (Şekil 2).

Kardiyak fibroblast-miyofibroblast dönüşümü miyokardiyal fibrozisin başlamasında kritik bir olaydır. Notch sinyalizasyonunun miyofibroblast farklılaşmasında görev aldığı bilinmektedir.<sup>28</sup> Yapılan çalışmalarda TGF- $\beta$ 1 ile uyarılmış fibroblastlarda Notch1 reseptör ekspresyonunun daha az olduğu gösterilmiştir. TGF- $\beta$ 1 çeşitli uyarılarla aktive olduğu zaman Notch1 downregulasyonu meydana gelmektedir. Yani TGF- $\beta$ 1 kardiyak fibroblastları miyofibroblastlara dönüştürebilmek için, bir başka deyişle fibrozis olayını başlatabilmek için, Notch1'i downregule etmektedir.<sup>28</sup> Relaksin uygulaması ile TGF- $\beta$ 1'in neden olduğu bu Notch1 downregulasyonu ortadan kaldırılmaktadır. Böylece fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümü engellenmektedir.<sup>29</sup> Sonuç olarak relaksin, Notch1 sinyalizasyonunun up-regulasyonunu sağlayarak TGF $\beta$ 1/pSmad yolunu inhibe etmektedir ve TGF $\beta$ 1'in fibroblast-miyofibroblast dönüşümünü engellemektedir. Bu sayede relaksin antifibrotik aktivite göstermektedir (Şekil 2).



**Şekil 2.** Relaksinin miyofibroblastlarda antifibrotik etki için öngörülen sinyal transdüksiyon mekanizması.

**AT<sub>2</sub>R:** Anjiyotensin II reseptörü, **cGMP:** siklik guanozin monofosfat, **ECM:** ekstraselüler matris, **erk 1/2:** ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz 1/2, **iNOS:** indüklenbilir nitrik oksit sentaz, **MMP:** matris metalloproteinaz, **NO:** nitrik oksit, **nNOS:** nöronal nitrik oksit sentaz, **PGL<sub>2</sub>:** prostaglandin, **RXFP1:** relaxin/insulin benzeri Aile peptid reseptörü 1, **sGC:** çözümlü guanilat siklaz, **TIMP:** matris metalloproteinazların doku inhibitörü, **TGF-β:** dönüştürücü büyüme faktörü-β.

TGFβ1 miyofibroblastların da dahil olduğu çoksayıdaki hücrede iNOS ekspresyonunu baskılamaktadır. Relaksinin RXFP1 (Relaxin/İnsulin-benzeri aile peptid reseptörü 1)'e bağlanmasıyla pERK1/2–nNOS–NO–sGC–cGMP bağımlı yolağın aktive olması iNOS üzerindeki baskıyı ortadan kaldırmaktadır ve aşırı NO salınımına sebep olmaktadır. Bu artan NO miktarı MMP miktarını artırıp kardiyak fibrozisi azaltma yönünde katkı sağlamaktadır.<sup>27</sup>

Güncel çalışmalar RXFP1 reseptörü ile diğer G protein kenetli reseptörler arasında (özellikle anjiyotensin reseptörleri ile) bir heterodimer oluşumunu göstermektedir. Bu heterodimer kompleksi relaksinin antifibrotik etkisinde önemli bir parametredir. Relaksinin gösterdiği antifibrotik etkinin anjiyotensin tip 2 reseptör (AT<sub>2</sub>R) geni silinmiş farelerde ve AT<sub>2</sub>R antagonisti (PD123319) uygulanan farelerde ortadan kalktığı gösterilmiştir. Bu sebeple relaksinin antifibrotik etkisi için AT<sub>2</sub>R'e kesinlikle ihtiyaç duyduğu öngörülmüştür.<sup>30</sup>

Patolojik koşullar altında AT<sub>2</sub>R ekspresyonu ve RXFP1 ile olan heterodimer formu artmaktadır. Dolayısıyla relaksinin patolojik koşullar altında daha fazla antifibrotik etki göstermesinin temel sebebinin AT<sub>2</sub>R ile heterodimer oluşumundan kaynaklı olduğu belirtilmiştir.<sup>30</sup>

Relaksinin bir antifibrotik tedavi olarak sunduğu önemli potansiyel etkileri bilinmektedir. Ancak buna rağmen, diğer mevcut tedavilerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilen çalışmaları bulunmamaktadır. Güncel bir çalışmada bu bilgi boşluğu değerlendirilmeye çalışılmıştır.<sup>31</sup> Bu çalışmada serelaksininin (0,5 mg/kg/gün) ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü olan enalaprilin (48 mg/kg/gün) tek başlarına gösterdiği antifibrotik etki ile kombine tedavi (serelaksin+enalapril) sonucu ortaya çıkan antifibrotik etki karşılaştırılmıştır. Sekiz haftalık erkek farelerin kullanıldığı bu çalışmada isoprenalin ile kardiyak hasar modeli oluşturulup kardiyak fibrozis verileri tüm tedavi gruplarında karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucu olarak serelaksininin tek başına gösterdiği antifibrotik etkinin enalaprilinkinden daha fazla olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kombine tedavi ile ortaya çıkan antifibrotik etkinin enalaprilin tek başına gösterdiği antifibrotik etkinin iki katından daha fazla olduğu raporlanmıştır. Bu çalışmada kullanılan enalapril ile sistemik kan basıncında düşme görülürken, serelaksinde böyle bir etki görülmemiştir ve serelaksinin bu antifibrotik etkisinin kan basıncından bağımsız olarak gerçekleştiği belirtilmiştir. Böylece, serelaksin ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü kombinasyonunun hipertansiyon kaynaklı fibroze katkı sağlayacağı belirtilmiştir.<sup>31</sup>



## Relaksinin Vasküler Fonksiyonlar Üzerindeki Etkisi

Vasküler endotel, çeşitli endotel türevi kasıcı ve gevşetici maddelerin üretimini sağlayarak düz kas tonüsünü kontrol etmektedir. Farklı vasküler yataklar, tonüsün düzenlenmesi için farklı heterojenite sergilerler.<sup>32</sup> Örneğin aortta endotel bağımlı gevşeme tamamen NO aracılı olarak yürürken, daha küçük boyutlu rezistans damarlarında endojen türevi hiperpolarizan faktörün (EDHF) katkısı daha belirgindir.<sup>33</sup>

RXFPI endotelde veya vasküler düz kas hücrelerinde bulunmaktadır.<sup>34</sup> RFXPI'nin bu farklı lokalizasyon şekilleri, relaksin tedavisinin farklı damar yatakları arasındaki farklı yanıtları üretmesi hipotezini öne sürmektedir.

## Relaksinin Aort Üzerindeki Etkisi

Normal sağlıklı ratlarda, iki gün boyunca relaksinin intravenöz infüzyon ile uygulanması asetilkolin ile uyarılmış dilatasyonu artırmaktadır. Buna, artmış endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) fosforilasyonu ve aortta gelişmiş NO aracılı dilatasyon eşlik etmektedir.<sup>35</sup> Relaksin ayrıca agonist ile uyarılmış kontraksiyonu da inhibe etmektedir. Özellikle izole rat aortuna ex vivo altı saatlik relaksin uygulaması, endotelin 1 kaynaklı kontraksiyonu baskılamıştır. Bu etki endotel bağımlıdır ve endotelin B reseptörlerinin (ET<sub>B</sub>R) aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. Relaksin uygulaması ayrıca endotelin-3 (ET<sub>B</sub>R için selektif bir agonist) aracılı vasküler gevşemeyi de artırmaktadır. Bu etkinin ET<sub>B</sub> selektif antagonist A-192621 tarafından ortadan kaldırıldığı bildirilmiştir.<sup>36</sup> Rat aortunda yapılan bu çalışmayı ET<sub>B</sub> bağımlı renal vazodilatasyonun görüldüğü gebe sıçanlarda yapılan başka bir çalışma izlemiştir. Bu çalışmada da aorttaki güçlü mekanizmanın "ET<sub>B</sub>R aktivitesine bağlı vazodilatasyon" olduğu belirtilmiştir.<sup>11</sup>

Aort üzerindeki diğer çalışmalar, relaksinin vasküler disfonksiyonda da etkili olduğunu göstermektedir: Bununla ilgili ilk çalışma rat aortunun iki gün boyunca TNF- $\alpha$  ile inkübasyonunu içermektedir.<sup>37</sup> TNF- $\alpha$  ile inkübasyon sonucu oksidatif stres artmakta ve asetilkoline verilen gevşeme yanıtları düşmektedir. Buna total eNOS miktarında düşme ve eNOS aktivitesinde azalma eşlik etmektedir. Bu şekilde in vitro ortamda TNF- $\alpha$  ile inkübasyon sonucunda endotel disfonksiyon modeli oluşturulabilmektedir. TNF- $\alpha$  ile endotel disfonksiyonunun modelinin oluşturulduğu bu çalışmada rat aort halkalarının relaksin ile eş zamanlı inkübasyonu eNOS fosforilasyonunda artışa ve zayıflamış arjinaz

II ekspresyonuna sebep olmaktadır.<sup>37</sup> eNOS aktivitesinde bu yükselme asetilkolin aracılı endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında artma ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca bu çalışmada relaksin uygulamasının TNF- $\alpha$  kaynaklı süperoksit ve nitrotirozin artışını azalttığı, süperoksit dismutaz ekspresyonunu düzelttiği rapor edilmiştir.<sup>37</sup>

İnsan umbilikal ven endotel hücrelerinde (HUVEC) ve insan aort vasküler düz kas hücrelerinde de TNF- $\alpha$  ile oluşturulan endotel hasarı çalışılmıştır. Hücrelerin TNF- $\alpha$  ile inkübasyonu vasküler inflamasyon markerları olan vasküler hücre adhezyon molekül-1 (VCAM-1), monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ekspresyonlarını artırmaktadır. TNF $\alpha$  uygulanan hücrelere eş zamanlı ve doz bağımlı olarak relaksin uygulanması ile VCAM-1 ve MCP-1 ekspresyonlarının düştüğü gözlemlenmiştir.<sup>38</sup>

Diğer bir ex vivo çalışma, fare aortunun yüksek glikozlu ortamda üç gün süreyle inkübasyonunu içermektedir. Bu çalışmada reaktif oksijen türlerinin ve vazokonstriktör prostanoidlerin artan katkısı ile endotel disfonksiyon modeli oluşturulmuştur. Siklooksijenaz inhibitörü indometazin varlığında ve antioksidan tempol varlığında endotel bağımlı gevşeme yanıtı artmıştır. Serelaksin uygulanan grupta bu etki görülmemiştir. Bu sonuçlar serelaksinin vazokonstriktör prostanoid yolağını baskıladığını ve endotel bağımlı PGI<sub>2</sub> (prostasiklin) üretimini artırdığını öne sürmektedir. Ayrıca akut hiperglisemili aortta gözlenen bu vazoprotektif etkinin, relaksinin serbest radikalleri düşürme veya antioksidan kapasitesini artırma yeteneklerinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir.<sup>39</sup>

Tyerili ve ark.'nın (2016) yaptığı bir çalışmada in vivo relaksin tedavisinin aterosklerotik plak boyutuna olan etkisi araştırılmıştır. Apolipoprotein geni silinmiş (ApoE<sup>-/-</sup>) farelerde ateroskleroz modeli oluşturulmuştur ve yüksek yağlı diyetle birlikte dört hafta boyunca relaksin uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda in vivo relaksinin ApoE<sup>-/-</sup> fare aortunda aterosklerotik plak boyutunu azalttığı ve endotel disfonksiyonunu geriye çevirdiği belirtilmiştir.<sup>40</sup> Başka bir in vivo çalışmada sekiz haftalık relaksin tedavisinin kobaylarda sigara dumanı kaynaklı endotel disfonksiyonunu engellediği bildirilmiştir. Buna reaktif oksijen türlerinde azalmanın ve NO üretiminde artışın eşlik etmiştir.<sup>41</sup> Sonuç olarak bu bulgular, relaksinin akut inflamasyon ve akut hiperglisemi gibi şartlar altında veya sigara kullanımı ve ateroskleroz gibi kronik olarak değişen durumlarda vasküler oksidatif stresi azaltarak vazoprotektif özelliğe sahip olduğunu göstermektedir.

## Relaksinin Femoral Arter ve Venler Üzerindeki Etkisi

Günümüzde sadece bir çalışmada relaksin uygulamasının femoral arterler ve venler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Relaksinin resöptörü olan RXFP1'in bu damarlarda bulunmasına rağmen relaksinin beş günlük subkutan infüzyonu sonucu endotelial vazodilatör vasküler fonksiyonlarında bir artma tespit edilememiştir. Buna göre RXFP1'in vasküler düz kasta endotel hücrelerine göre daha fazla bulunduğu sonucuna varılmıştır.<sup>34</sup> Bu yüzden relaksinin endotel bağımlı gevşemeyi artırıcı etkisi bu damarlarda bulunmamaktadır. Ancak bu çalışmada sadece endotel bağımlı gevşeme yanıtları çalışılmıştır. Relaksinin direkt düz kasa olan etkisine dair bir veri bulunamamıştır.

## Relaksinin Küçük Renal Arterler Üzerindeki Etkisi

Küçük rezistans arterler üzerindeki in vivo relaksin uygulaması ilk kez küçük renal arterler üzerinde gösterilmiştir.<sup>42</sup> Bu çalışmada beş gün boyunca relaksin infüzyonu uygulanmıştır ve miyojenik kontraksiyonda azalma saptanmıştır. Bu etkiler NOS inhibitörü L-NAME ile veya endotelin uzaklaştırılması işlemi ile ortadan kaldırılmıştır. Böylece relaksinin bu vasküler etkilerine endotel türevi NO'nin aracılık etmesi güçlü bir kanıt oluşturmaktadır.<sup>42</sup> Sonraki çalışmalarda relaksinin MMP aktivitesini artırdığı ve indirek olarak ET<sub>B</sub>R'yi aktive ettiği gösterilmiştir.<sup>43,44</sup> Bu in vivo çalışmalarla tutarlı olarak, rat ve fare küçük renal arterlerinde yapılan ex vivo bir çalışmada, damarların üç saatlik relaksin ile inkübasyonu sonucunda miyojenik reaktivitenin inhibe edildiği bildirilmiştir. Relaksin bu etkiyi ET<sub>B</sub>R, NO veya MMP aktivitesi üzerinden yapmaktadır.<sup>45</sup>

Relaksinin miyojenik konstrikasyonu inhibe ettiği mekanizma zaman bağımlıdır ve MMP aktiviteleri için farklı upregulasyonlar gerektirir. Ratlarda beş gün boyunca relaksinin kronik infüzyonu MMP2 aktivitesindeki artma ve miyojenik reaktivitede azalma ile sonuçlanırken,<sup>46</sup> bunun tersi olarak dört veya altı saat gibi kısa süreli, yani akut, relaksin uygulaması da yine miyojenik reaktiviteyi azaltmakta ancak kronik uygulamadan farklı olarak MMP9 aktivitesini artırmaktadır.<sup>43</sup> Relaksinin hangi MMP'yi aktive ettiğinden bağımsız olarak her iki MMP de büyük endotelini (ET<sub>BIG</sub>); ET<sub>1-32</sub>'e dönüştürmektedir. Bu dönüşüm ile ET<sub>B</sub>R aktive olarak NO üretiminde artma meydana gelmektedir (Şekil-3). ET<sub>B</sub>R'nin katkısı ET<sub>B</sub>R antagonistleri kullanılarak gösterilmiştir ve bu antagonistler küçük renal arterlerinde relaksinin miyojenik kontraksiyonu azaltma yeteneğini ortadan

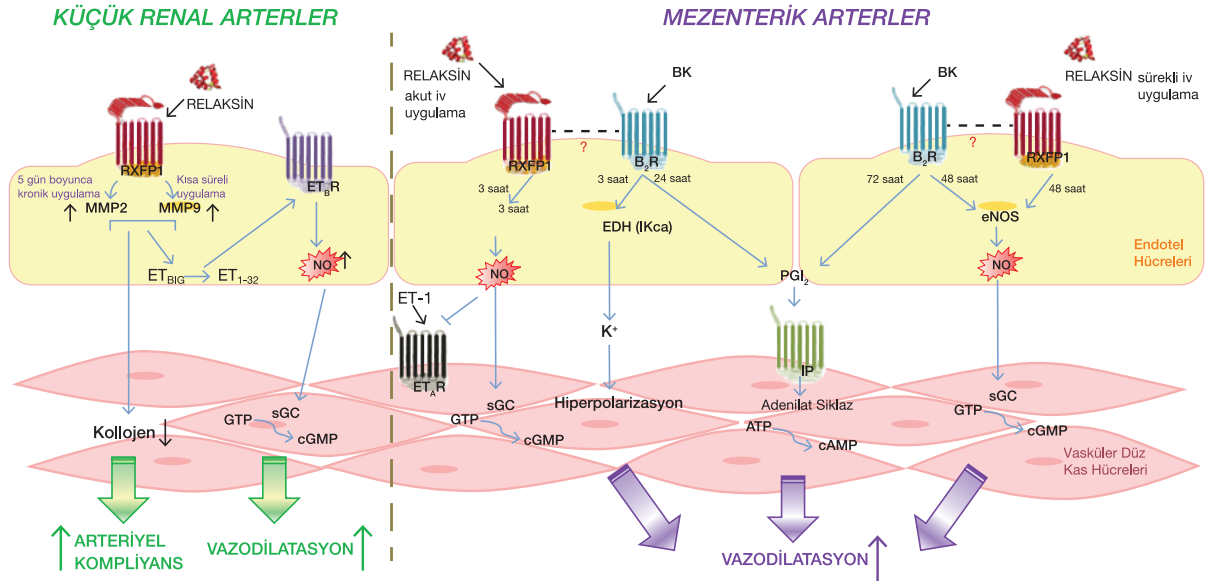
kaldırılmıştır.<sup>43,46</sup> Dschietzig ve arkadaşların (2003) yaptığı daha önceki bir çalışmada relaksinin HUVEC'de ET<sub>B</sub>R ekspresyonlarını direkt olarak artırdığı belirtilmiş ancak bu artışın vasküler düz kas hücrelerinde görülmediği belirtilmiştir.<sup>36</sup> Yapılan başka bir çalışmada ise in vivo relaksin uygulamasının rat küçük renal arterlerinde ET<sub>B</sub>R ekspresyonunu ve/veya aktivitesini etkilemediği de bildirilmiştir.<sup>47</sup> Relaksin kaynaklı vazodilatasyonun ET<sub>B</sub>R kaynaklı olduğunu gösteren güçlü kanıtlar var olsa da relaksinin arteriyal ET<sub>B</sub>R ekspresyonunu değiştirme kabiliyetinin daha çok çalışmayla onaylanması gerekmektedir.

Vasküler endotel büyüme faktörünün (VEGF) ve plasental büyüme faktörünün (PlGF) relaksinin renal vasküler etkilerine aracılık ettiği bildirilmiştir. Relaksinin rodent renal arterlerinde ex vivo ortamda miyojenik reaktiviteyi azaltma ve endotel bağımlı vazodilatasyon yapma kabiliyeti VEGF/PlGF-nötralizan antikorlar varlığında ortadan kalkmıştır.<sup>45</sup>

Bu çalışmalardaki en kesin vazodilatasyon mekanizması olan NO üzerinde hiç bir soru işareti bulunmamaktadır. Ancak küçük renal arterlerdeki VEGF, PlGF, MMP2/9 ve ET<sub>B</sub>R'nin vazodilatör yanıtı katkısında güçlü kanıtlar bulunmaktadır.

## Relaksinin Mezenterik Arter ve Venler Üzerindeki Etkisi

Daha önceki çalışmalar, küçük renal arterlerde olduğu gibi mezenterik arterlerde de relaksinin miyojenik reaktiviteyi azalttığını desteklemektedir.<sup>42,43</sup> Günümüzdeki çalışmalar eksojen relaksinin agonist spesifik olarak (asetil kolin veya bradikininine bağlı olarak) ve zaman bağımlı bir şekilde endotel bağımlı gevşemeyi artırdığını öne sürmektedir. Örneğin; ratlarda iki ile beş günlük intravenöz infüzyon şeklinde relaksin uygulanmasının ardından rat mezenterik arterlerde endotel kaynaklı gevşeme yanıtları değerlendirilmiş ve bradikininin aracılı gevşeme yanıtlarının tedavi gruplarında anlamlı oranda arttığı tespit edilmiştir. Ancak asetilkolin aracılı endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik tespit edilememiştir.<sup>34-35</sup> Benzer bir şekilde başka bir çalışmada da akut intravenöz relaksin uygulanması ile bradikinin kaynaklı vazodilatasyon yanıtının sağlandığı bildirilmiştir. Bu çalışmada bradikinin ile uyarılmış dilatasyondaki artışın bradikinin B<sub>2</sub> reseptörlerinin ekspresyonundaki artıştan kaynaklanmadığı belirtilmiştir.<sup>48</sup> Bradikininin B<sub>2</sub> reseptör ekspresyonunda bir değişiklik olmaması sebebiyle, endotel fonksiyonlarındaki bu iyileşmenin RXFP1 ile B<sub>2</sub> reseptörleri arasındaki heterodimerlikten kaynaklandığı düşünülmüştür.<sup>49</sup>



**Şekil 3.** Relaksinin mezenterik arterlerdeki ve küçük renal arterlerdeki etki mekanizmaları.<sup>54</sup>

**ATP:** Adenozin trifosfat, **B<sub>2</sub>R:** bradikinin B2 reseptörü, **BK:** bradikinin, **cAMP:** siklik adenozin monofosfat, **cGMP:** siklik guanozin monofosfat, **GTP:** guanozin trifosfat, **EDH:** endotel türevi hiperpolarizasyon, **eNOS:** endotelial nitrik oksit sentaz, **ET<sub>B</sub>R:** büyük endotelin, **ET<sub>B</sub>R<sub>1-32</sub>:** endotelin B reseptörü, **MMP:** matris metalloproteinaz, **NO:** nitrik oksit, **RXFP1:** PGI<sub>2</sub>, prostasiklin, **RXFP1:** relaksin/insulin benzeri alle peptit reseptörü 1.

Relaksinin tek seferlik intravenöz enjeksiyonu, Ser<sup>473</sup>'te Akt fosforilasyonunda ve iNOS ekspresyonunda artmayla birlikte üç saat sonra bazal NOS aktivitesinde artış meydana getirmiştir.<sup>48</sup> Buna ek olarak relaksin enjeksiyonuna verilen bu akut gevşeme yanıtının bradikinin aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmiş ve mekanizmasının ise NO veya PGI<sub>2</sub> üzerinden değil potasyum kanalları (IKCa-bağımlı)ile EDHF tarafından sağlandığı belirtilmiştir.<sup>48</sup> İlginç bir şekilde, 24 saat sonra dolaşımda relaksin tespit edilememesine rağmen bradikinin aracılı gevşeme yanıtlarında değişme meydana gelmemiştir. Uzun süreli bu vasküler yanıtın ana mediyatörünün PGI<sub>2</sub> olduğu belirtilmiştir.<sup>48</sup> Mezenterik arterlerde akut relaksin enjeksiyonu sonrası endotelin 1'e verilen vasküler yanıtlar karşılaştırıldığında üç saat sonra endotelin 1'e bağlı vazokonstriksiyon yanıtında düşme saptanırken 24 saat sonraki sonuçlarda anlamlı bir düşme görülmemiştir. Endotelin 1'e bağlı kontraksiyondaki antagonizma endotel türevi NO ile ilişkilendirilmiştir. Bunun yanında bazal NOS aktivitesi üç saat sonra relaksin enjeksiyonu sonrası artmıştır.<sup>48</sup>

İki veya üç gün boyunca relaksinin intravenöz sürekli infüzyonunu içeren sonraki bir çalışmada, relaksin yine endotelial vazodilatör fonksiyonlarını artırmıştır ancak bu etkinin farklı mekanizmaların aktivasyonu sonucu gerçekleştiği belirtilmiştir. Öncelikle iki gün boyunca relaksin infüzyonunun bazal NOS aktivitesini ve NO aracılı gevşeme yanıtını artırdığı gözlemlenmiştir. Bunun artmış eNOS aktivitesiyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ancak bu artmış NOS aktivitesi üç günlük relaksin infüzyonu sonrasında sürdürülemediği. Çünkü

eNOS fosforilasyonunda ve protein ekspresyonunda kompensatuar downregülasyonu meydana gelmiştir. Üç günlük relaksin infüzyonu bradikinin kaynaklı PGI<sub>2</sub> metaboliti olan 6-keto PGF1α'nın üretimini artırmaktadır.<sup>35</sup> Bu durum, eksojen relaksinin mezenterik arterlerde PGI<sub>2</sub> üretimini stimule ettiğini ve relaksin uygulanmasından sonra endotel türevi vazorelaksan faktörlerin aktivasyonun zamana bağlı değiştiğini güçlü bir şekilde desteklemektedir (Şekil-3).

Mezenterik damarlarda relaksin tedavisinin etkisi arterlerle sınırlıdır çünkü hiçbir çalışmada mezenterik venöz fonksiyonları değiştirdiğine yönelik veri bulunmamaktadır. RXFP1 reseptörü bu damarlarda bulunmasına rağmen mezenterik venlerde miyojenik reaktivite veya endotel bağımlı gevşeme yanıtlarının relaksin uygulaması sonucu değişmediği gösterilmiştir.<sup>35,50</sup>

## SONUÇ

Relaksinin en önemli pleotropik etkisi vazodilatasyonu sağlamasıdır ve yüksek kan basıncına sahip hastalar için umut vaat eden yeni vazodilatör ajanlardandır. Relaksin gevşeme üzerindeki etkisini; NO üretimini ve VEGF'yi artırarak, endotelini ve anjiyotensin II'yi inhibe ederek yapmaktadır.

Relaksin ayrıca geniş bir aralıkta antioksidan ve antienflamatuar etkiler sağlamaktadır. Bu etkiler hastalıklarla birlikte gelen hasarlara karşı korunma sağlanabilir düşüncesini ortaya çıkarmaktadır. Bu yüzden relaksin birçok vasküler hastalıkta (diyabet, preeklampsi, hipertansiyon vb.) tek başına veya



kombine olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu için diğer vazodilatör ilaçlardan kolaylıkla ayırt edilebilmektedir.

Relaksinin fibroz doku üzerindeki çalışmaları da önemli sonuçlar içermektedir. Relaksin antifibrotik etkisini direkt olarak TGF- $\beta$ 'nin downstream yolaklarını baskılayarak göstermektedir. Ayrıca antienflamatuar, antihipertrofik, antiapoptotik, anjiyojenik ve vazodilatör etkileri sebebiyle indirekt olarak da antifibrotik etkiye katkıda bulunmaktadır ve yara iyileşmesini sağlayıp hücre fonksiyonlarını devam ettirmektedir.

RELAX-AHF çalışması serelaxinin ilk Faz III çalışmasıdır. Kalp yetmezliği tedavisinde serelaxinin potansiyeline yeni bir ışık tutmaktadır. Bu çalışmanın en önemli bulgusu 180 günlük mortalitede anlamlı bir düşüş meydana getirmesidir.<sup>9</sup> Diğer Faz III çalışması olan RELAX-AHF-2 çalışmasında ise serelaxinin kardiyovasküler ölümleri ve kalp yetmezliğinde kötüleşmeyi anlamlı olarak azaltmadığı ortaya

çıkıştır.<sup>10</sup> Şu anda RELAX-AHF-2'nin post-hoc analizleri beklenmektedir.<sup>51</sup> Güncel veriler de endojen relaksin-2 düzeylerinin kronik kalp yetmezliği hastalarında hastalığın gidişatı için biyobelirteç olarak değerlendirilebileceğini öne sürmektedir.<sup>52-53</sup> Kronik kalp yetmezliği hastalığı takibinde BNP nin relaksin-2 ile birlikte değerlendirilmesinin, tek başına BNP'ye göre tanı için daha belirleyici özellikte vurgulanmaktadır.<sup>52</sup>

Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde prelinik veriler ve bazı klinik verilerin üstünlüğü, miyokard infarktüsü ve kalp yetmezliğinde relaksinin terapötik bir rolü olduğunu düşündürmekte ve kardiyovasküler sistemde olumlu etki sağladığını desteklemektedir. Ancak reaksiyon mekanizmalarının tam olarak ele alınabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

\*Yazarlar herhangi bir çıkar ilişkisi içinde bulunmadıklarını bildirmiştir.



<b>C</b>	<b>İLETİŞİM İÇİN:</b> Melike Nur Akbaş Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD Dekanlık Binası B-Blok Konyaaltı, Antalya melike_akh@hotmail.com
<b>✓</b>	<b>GÖNDERİLDİĞİ TARİH:</b> 25 / 05 / 2018 • <b>KABUL TARİHİ:</b> 11 / 07 / 2018

#### KAYNAKLAR

1. Fevold H, Hisaw FL, Meyer R. The relaxative hormone of the corpus luteum. Its purification and concentration. J Am Chem Soc 1930; 52: 3340-3348.
2. Teichman SL, Unemori E, Dschietzig T, et al. Relaxin, a pleiotropic vasodilator for the treatment of heart failure. Heart Fail Rev 2009; 14: 321-329.
3. Jeyabalan A, Shroff SG, Novak J, et al. The vascular actions of relaxin. Adv Exp Med Biol 2007; 612: 65-87.
4. Ghosh RK, Banerjee K, Tummala R, et al. Serelaxin in acute heart failure: Most recent update on clinical and preclinical evidence. Cardiovasc Ther 2017; 35: 55-63.
5. Kobalava Z, Villevaude S, Kotovskaya Y, et al. Pharmacokinetics of serelaxin in patients with hepatic impairment: a single-dose, open-label, parallel group study. Br J Clin Pharmacol 2015; 79: 937-945.
6. Dahlke M, Ng D, Yamaguchi M, et al. Safety and tolerability of serelaxin, a recombinant human relaxin-2 in development for the treatment of acute heart failure, in healthy Japanese volunteers and a comparison of pharmacokinetics and pharmacodynamics in healthy Japanese and Caucasian populations. J Clin Pharmacol 2015; 55: 415-422.
7. Ponikowski P, Mitrovic V, Ruda M, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, multicentre study to assess haemodynamic effects of serelaxin in patients with acute heart failure. Eur Heart J 2014; 35: 431-441.
8. Teerlink JR, Metra M, Felker GM, et al. Relaxin for the treatment of patients with acute heart failure (Pre-RELAX-AHF): a multicentre, randomised, placebo-controlled, parallel-group, dose-finding phase IIb study. Lancet 2009; 373: 1429-1439.
9. Teerlink JR, Cotter G, Davison BA, et al. Serelaxin, recombinant human relaxin-2, for treatment of acute heart failure (RELAX-AHF): a randomised, placebo-controlled trial. Lancet 2013; 381: 29-39.
10. McCullough PA. How trialists and pharmaceutical sponsors have failed us by thinking that acute heart failure is a 48-hour illness. Am J Cardiol 2017; 120: 505-508.
11. Novak J, Danielson LA, Kerchner LJ, et al. Relaxin is essential for renal vasodilation during pregnancy in conscious rats. J Clin Invest 2001; 107: 1469-1475.
12. Samuel CS, Unemori EN, Mookerjee I, et al. Relaxin modulates cardiac fibroblast proliferation, differentiation, and collagen production and reverses cardiac fibrosis in vivo. Endocrinology 2004; 145: 4125-4133.
13. Masterson R, Hewitson TD, Kelynack K, et al. Relaxin down-regulates renal fibroblast function and promotes matrix remodelling in vitro. Nephrol Dial Transplant 2004; 19: 544-552.
14. Williams EJ, Benyon RC, Trim N, et al. Relaxin inhibits effective collagen deposition by cultured hepatic stellate cells and decreases rat liver fibrosis in vivo. Gut 2001; 49: 577-583.
15. Huang X, Cheng Z, Sunga J, et al. Systemic administration of recombinant human relaxin (RHRLX) ameliorates the acute cyclosporine nephrotoxicity in rats. J Heart Lung Transplant 2001; 20: 253.
16. Rohani MG, Parks WC. Matrix remodeling by MMPs during wound repair. Matrix Biol 2015; 44-46: 113-121.
17. Bennett RG. Relaxin and its role in the development and treatment of fibrosis. Transl Res 2009; 154:1-6.
18. Lodhi RS, Nakabayashi K, Suzuki K, et al. Relaxin has anti-apoptotic effects on human trophoblast-derived HTR-8/SV neo cells. Gynecol Endocrinol 2013; 29: 1051-1054.
19. Yao L, AgoulNIK AI, Cooke PS, et al. Relative roles of the epithelial and stromal tissue compartment (s) in mediating the actions of relaxin and estrogen on cell proliferation and apoptosis in the mouse lower reproductive tract. Ann NY Acad Sci 2009; 1160: 121-129.

20. Brecht A, Bartsch C, Baumann G, et al. Relaxin inhibits early steps in vascular inflammation. *Regul Pept* 2011; 166: 76-82.
21. Oka T, Komuro I. [Molecular and cellular mechanisms of organ fibrosis]. *Nihon Rinsho* 2012; 70: 1510-1516.
22. Du XJ, Bathgate RA, Samuel CS, et al. Cardiovascular effects of relaxin: from basic science to clinical therapy. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7: 48-58.
23. Branton MH, Kopp JB. TGF-beta and fibrosis. *Microbes Infect* 1999; 1: 1349-1365.
24. Vural P. The suppressing role of transforming growth factor- $\beta$  in cancer. *Turk J Biochem*, 2010.
25. Dzeshka MS, Lip GY, Snezhitskiy V, et al. cardiac fibrosis in patients with atrial fibrillation: mechanisms and clinical implications. *J Am Coll Cardiol* 2015; 66: 943-959.
26. Samuel CS, Summers RJ, Hewitson TD. Antifibrotic Actions of Serelaxin - New Roles for an Old Player. *Trends Pharmacol Sci* 2016; 37: 485-497.
27. Chow BS, Chew EG, Zhao C, et al. Relaxin signals through a RXFP1-pERK-nNOS-NO-cGMP-dependent pathway to up-regulate matrix metalloproteinases: the additional involvement of iNOS. *PLoS One* 2012; 7: e42714.
28. Fan YH, Dong H, Pan Q, et al. Notch signaling may negatively regulate neonatal rat cardiac fibroblast-myofibroblast transformation. *Physiol Res* 2011; 60: 739-748.
29. Sassoli C, Chellini F, Pini A, et al. Relaxin prevents cardiac fibroblast-myofibroblast transition via notch-1-mediated inhibition of TGF-beta/Smad3 signaling. *PLoS One* 2013; 8: e63896.
30. Chow BS, Kocan M, Bosnyak S, et al. Relaxin requires the angiotensin II type 2 receptor to abrogate renal interstitial fibrosis. *Kidney Int* 2014; 86: 75-85.
31. Samuel CS, Bodaragama H, Chew JY, et al. Serelaxin is a more efficacious antifibrotic than enalapril in an experimental model of heart disease. *Hypertension* 2014; 64: 315-322.
32. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *J Pharmacol Sci* 2015; 129: 83-94.
33. Luksha L, Agewall S, Kublickiene K. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in vascular physiology and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2009; 202: 330-344.
34. Jelinic M, Leo CH, Post Uiterweer ED, et al. Localization of relaxin receptors in arteries and veins, and region-specific increases in compliance and bradykinin-mediated relaxation after in vivo serelaxin treatment. *FASEB J* 2014; 28: 275-287.
35. Leo CH, Jelinic M, Ng HH, et al. Time-dependent activation of prostacyclin and nitric oxide pathways during continuous i.v. infusion of serelaxin (recombinant human H2 relaxin). *Br J Pharmacol* 2016; 173: 1005-1017.
36. Dschietzig T, Bartsch C, Richter C, et al. Relaxin, a pregnancy hormone, is a functional endothelin-1 antagonist: attenuation of endothelin-1-mediated vasoconstriction by stimulation of endothelin type-B receptor expression via ERK-1/2 and nuclear factor-kappaB. *Circ Res* 2003; 92: 32-40.
37. Dschietzig T, Brecht A, Bartsch C, et al. Relaxin improves TNF-alpha-induced endothelial dysfunction: the role of glucocorticoid receptor and phosphatidylinositol 3-kinase signalling. *Cardiovasc Res* 2012; 95: 97-107.
38. Brecht A, Bartsch C, Baumann G, et al. Relaxin inhibits early steps in vascular inflammation. *Regul Pept* 2011; 166: 76-82.
39. Ng HH, Leo CH, Parry LJ. Serelaxin [recombinant human relaxin-2] prevents high glucose-induced endothelial dysfunction by ameliorating prostacyclin production in the mouse aorta. *Pharmacol Res* 2016; 107: 220-228.
40. Tiyerili V, Beiert T, Schatten H, et al. Anti-atherosclerotic effects of serelaxin in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 2016; 251: 430-437.
41. Pini A, Boccalini G, Baccari MC, et al. Protection from cigarette smoke-induced vascular injury by recombinant human relaxin-2 [serelaxin]. *J Cell Mol Med* 2016; 20: 891-902.
42. Novak J, Ramirez RJ, Gandley RE, et al. Myogenic reactivity is reduced in small renal arteries isolated from relaxin-treated rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 283: R349-355.
43. Jeyabalan A, Novak J, Doty KD, et al. Vascular matrix metalloproteinase-9 mediates the inhibition of myogenic reactivity in small arteries isolated from rats after short-term administration of relaxin. *Endocrinology* 2007; 148: 189-197.
44. Jeyabalan D, Arul N, Thangamathi P. Studies on effects of *Pelargonium citrosa* leaf extracts on malarial vector, *Anopheles stephensi* Liston. *Bioresour Technol* 2003; 89: 185-189.
45. McGuane JT, Danielson LA, Debrah JE, et al. Angiogenic growth factors are new and essential players in the sustained relaxin vasodilatory pathway in rodents and humans. *Hypertension* 2011; 57: 1151-1160.
46. Jeyabalan A, Novak J, Danielson LA, et al. Essential role for vascular gelatinase activity in relaxin-induced renal vasodilation, hyperfiltration, and reduced myogenic reactivity of small arteries. *Circ Res* 2003; 93: 1249-1257.
47. Kerchner LJ, Novak J, Hanley-Yanez K, et al. Evidence against the hypothesis that endothelial endothelin B receptor expression is regulated by relaxin and pregnancy. *Endocrinology* 2005; 146: 2791-2797.
48. Leo CH, Jelinic M, Parkington HC, et al. Acute intravenous injection of serelaxin (recombinant human relaxin-2) causes rapid and sustained bradykinin-mediated vasorelaxation. *J Am Heart Assoc* 2014; 3: e000493.
49. Leo CH, Jelinic M, Ng HH, et al. Vascular actions of relaxin: nitric oxide and beyond. *Br J Pharmacol* 2017; 174: 1002-1014.
50. Li Y, Brookes ZL, Kaufman S. Acute and chronic effects of relaxin on vasoactivity, myogenic reactivity and compliance of the rat mesenteric arterial and venous vasculature. *Regul Pept* 2005; 132: 41-46.
51. Devarakonda T, Salloum FN. Heart disease and relaxin: new actions for an old hormone. *Trends Endocrinol Metab* 2018; 29: 338-348.
52. Han L, Luo J, Bai S, et al. Combined assessment of relaxin and B-Type natriuretic peptide improves diagnostic value in patients with congestive heart failure. *Am J Med Sci* 2017; 354: 480-485.
53. Xie J, Chen Y, Li L, et al. H2 relaxin expression and its effect on clinical outcomes in patients with chronic heart failure. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 4420-4424.
54. Leo CH, Jelinic M, Ng HH, et al. Serelaxin: A novel therapeutic for vascular diseases. *Trends Pharmacol Sci* 2016; 37: 498-507.