

TABLE DES MATIERES

1	INTRODUCTION	1
2	LA SUPERFAMILLE DES RELAXINES ET RECEPTEURS	2
2.1	HISTORIQUE	2
2.2	LES HORMONES DE LA SUPERFAMILLE DES INSULINES/RELAXINES.....	4
2.2.1	<i>Caractérisation génomique</i>	4
2.2.2	<i>Structure moléculaire</i>	6
2.2.2.1	Relaxine-1 humaine.....	7
2.2.2.2	Relaxine-2 humaine et relaxine-1 des autres mammifères	7
2.2.2.3	Relaxine-3.....	8
2.2.2.4	Relations entre les différentes formes de relaxine.....	8
2.2.2.5	Similitudes Relaxine et INSL3.....	9
2.2.3	<i>Expression et sécrétion au sein des mammifères.....</i>	9
2.2.3.1	Relaxine-2.....	9
2.2.3.1.1	Tissus reproducteurs	9
2.2.3.1.2	Cerveau	10
2.2.3.1.3	Autres tissus.....	10
2.2.3.2	INSL3	10
2.2.3.3	Relaxine-3.....	11
2.2.3.4	INSL4	11
2.2.3.5	INSL5	11
2.2.3.6	INSL6	12
2.2.3.7	Résumé	12
2.3	LES RECEPTEURS AUX RELAXINES ET APPARENTES	13
2.3.1	<i>Introduction aux Différents récepteurs</i>	13
2.3.1.1	RXFP1 et RXFP2	13
2.3.1.1.1	Caractérisation génomique	13
2.3.1.1.2	Structure	14
2.3.1.2	RXFP3 et RXFP4	16
2.3.1.2.1	Introduction.....	16
2.3.1.2.2	Structure et caractérisation génomique	17
2.3.2	<i>Relations entre la structure des relaxines et l'activation de leurs récepteurs</i>	17
2.3.2.1	Relaxine-2 humaine.....	17
2.3.2.2	Relaxine-3 humaine.....	18
2.3.2.3	INSL3	19
2.3.3	<i>Localisation des RXFP</i>	19
2.3.3.1	RXFP1	19
2.3.3.1.1	Tissus reproducteurs	19
2.3.3.1.2	Système nerveux central.....	20
2.3.3.1.3	Système rénal et cardiovasculaire	21
2.3.3.2	RXFP2	21
2.3.3.2.1	Tissus reproducteurs.....	21
2.3.3.2.2	Autres tissus	21
2.3.3.3	RXFP3	21
2.3.3.4	RXFP4	22
2.3.4	<i>Voies de signalisation des RXFP</i>	22
2.3.4.1	Grande diversité des voies activées par RXFP1	22
2.3.4.1.1	Augmentation de concentration en AMPc	22
2.3.4.1.2	Phosphorylation des MAPK.....	24
2.3.4.1.3	Rôle de l'oxyde nitrique (NO) dans les réponses médiées par RXFP1	25
2.3.4.1.4	Influence sur le métabolisme des tissus conjonctifs.....	28
2.3.4.2	Voies de signalisation activées par RXFP2	30
2.3.4.3	Voies de signalisation activées par RXFP3	30
2.3.4.3.1	Couplage aux protéines G et seconds messagers	31
2.3.4.3.2	Activation du complexe protéine activatrice 1 (AP-1)	32

2.3.4.3.3 RXFP3 et NF-kB	32
2.3.4.3.4 Différentes voies de signalisation en fonction du ligand	32
2.3.4.4 Voies de signalisation activées par RXFP4	33
2.3.5 Synthèse.....	34
3 APPLICATIONS THERAPEUTIQUES ACTUELLES ET PERSPECTIVES	35
3.1 APPLICATIONS AU DOMAINE MEDICAL	35
3.1.1 <i>RXFP1 et Relaxine-2</i>	35
3.1.1.1 Reproduction chez la femme.....	35
3.1.1.2 Reproduction chez l'homme	38
3.1.1.3 Système nerveux central	38
3.1.1.4 Système cardiovasculaire.....	39
3.1.1.4.1 Chez la femme enceinte.....	39
3.1.1.4.2 Traitement de l'insuffisance cardiaque.	40
3.1.1.5 Tissus conjonctifs	42
3.1.1.5.1 Traitement de la sclérodermie	42
3.1.1.5.2 Traitement des tissus cicatriciels.....	43
3.1.1.6 Cancers.....	45
3.1.2 <i>INSL3 et RXFP2</i>	46
3.1.2.1 Reproduction chez l'homme	46
3.1.2.2 Reproduction chez la femme.....	46
3.1.2.3 Neurophysiologie	47
3.1.2.4 Autres tissus	47
3.1.3 <i>Relaxine-3 et RXFP3</i>	47
3.1.3.1 Stress.....	47
3.1.3.2 Alimentation et métabolisme.....	48
3.1.3.3 Contrôle de l'homéostase	48
3.1.4 <i>INSL5 et RXFP4</i>	48
3.2 APPLICATIONS AUX DOMAINES DENTAIRE ET ORTHODONTIQUE.....	49
3.2.1 <i>Relaxine et remodelage des tissus mous de la sphère oro-faciale</i>	49
3.2.1.1 Données actuelles.....	49
3.2.1.2 Perspectives	64
3.2.1.2.1 Évitement des cicatrices labiales concomitantes aux fentes labiales	64
3.2.1.2.2 Assistance à la technique de piézocision.....	71
3.2.1.2.3 Apports aux chirurgies parodontales.....	74
3.2.1.2.3.1 Chirurgies du frein lingual	74
3.2.1.2.3.2 Chirurgies plastiques parodontales de recouvrement radiculaire	75
3.2.1.2.3.3 Correction des fentes et fissures gingivales.....	75
3.2.2 <i>Relaxine et remodelage des tissus durs de la sphère oro-faciale</i>	76
3.2.2.1 Données actuelles.....	76
3.2.2.2 Perspectives	84
3.2.2.2.1 Apport aux fentes alvéolopalatines	84
3.2.2.2.2 Apport aux expansions transversales maxillaires	85
4 CONCLUSION	86

BIBLIOGRAPHIE

1 Introduction

La relaxine-2 humaine, ou plus communément dénommée relaxine, est une hormone appartenant à la superfamille des peptides apparentés aux insulines. Elle fut découverte en 1926 et longtemps réduite à sa capacité à faciliter la parturition et induire l'assouplissement et l'allongement de la symphyse pubienne pendant la période du péri-partum. Elle est fabriquée au sein du corps humain dans les organes reproducteurs.

Néanmoins, au fil des années et de son étude, les chercheurs ont pu réaliser toutes les richesses de ses interactions au sein de bon nombre de tissus. La plus importante de ces découvertes fut celle de quatre récepteurs dans les années 2000, capables de se lier à la relaxine mais également à d'autres peptides de sa famille tels que INSL-3, INSL-5, la relaxine-3 et la relaxine-1 humaine avec plus ou moins d'affinité. La compréhension du fonctionnement de ces récepteurs, ainsi que de leurs interactions et des voies de signalisation qu'ils peuvent déclencher au sein des différents types cellulaires après activation est capitale afin de déchiffrer le champ d'action potentiel de la relaxine.

On lui a découvert dès lors de nombreux rôles physiologiques menant jusqu'à des essais cliniques pour le traitement de l'insuffisance cardiaque ou de la sclérodermie.

Au niveau orthodontique, on a tenté de l'utiliser pour accélérer nos traitements ou limiter les risques de récidive avec plus ou moins de réussite, mais l'intérêt que pourrait avoir la relaxine dans notre pratique semble bien être ailleurs.

2 La superfamille des relaxines et récepteurs

2.1 Historique

La relaxine fut découverte en 1926 par Frederick L. Hisaw lorsqu'il réalisa que l'injection de sérum provenant de cochons d'Inde femelles enceintes chez des cochons d'Inde femelles vierges entraînait une relaxation du ligament pubien (1). La relaxine est produite dans l'appareil génital de nombreux mammifères pendant la grossesse mais l'origine précise de la production dépend de l'espèce. En effet, chez le rat, la souris et les cochons, elle provient du corps jaune, tandis que chez les lapins et les hamsters du placenta et de l'utérus pour les cochons d'Inde.

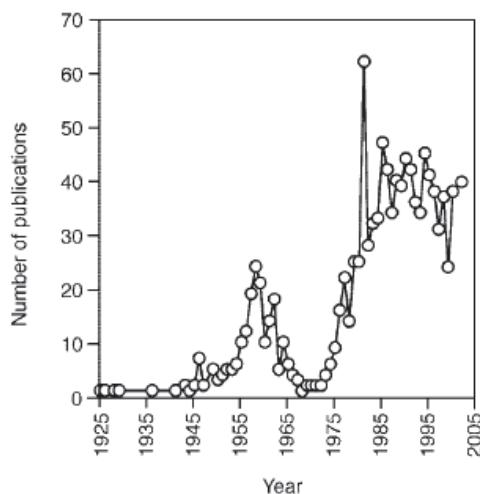


Figure 1 : Nombre de publications apparaissant dans OLDMEDLINE et PubMed par an comportant le mot relaxine dans le titre (2).

Les recherches sur la relaxine depuis 1926 ont fluctué. Entre les années 50 et 60, les laboratoires Warner-Chilcott ont su fournir une préparation impure de relaxine bovine permettant ainsi la réalisation d'études sur les humains. A partir de ces études, on a supposé que la relaxine :

- * Augmentait l'élasticité de la peau et donc pourrait avoir un bénéfice dans les problèmes de sclérose ;
- * Inhibait la contraction utérine et donc permettrait de limiter le risque d'accouchement prématuré ;
- * Détendait le col de l'utérus et diminuerait le temps de travail.

Mais ces recherches piétinèrent au milieu des années 60 pour des raisons de manque d'efficacité réelle. Ce n'est que dans les années 80 que l'intérêt pour cette molécule réapparut suite à l'amélioration des techniques d'isolation, de caractérisation et de séquençage des protéines. En 1984, l'équipe de Robert J. Crawford localisa deux gènes codant pour la relaxine sur le chromosome 9 (3).

Néanmoins, ces nouvelles avancées sur la molécule n'apportèrent rien de réellement concret pour trois raisons (2) :

- * Des essais cliniques en phase II/III réalisés dans les années 90 cherchant à démontrer l'intérêt de la relaxine pour la relaxation du col de l'utérus au terme de la grossesse ainsi que la diminution de la progression de sclérose systémique ne se sont pas montrés concluants (4). Ainsi, les recherches privées financées par des laboratoires ont été stoppées et les financements pour la recherche publique demeurent très faibles et ne permettent pas d'avancées majeures ;
- * La relaxine présente une grande diversité au sein des différentes espèces au niveau de sa structure, de son origine tissulaire, de sa production, sa régulation ainsi qu'au niveau de ses effets physiologiques, ce qui rend son étude très compliquée ;
- * Et enfin, le manque de savoir sur les différents récepteurs de la relaxine a entravé tous les efforts des chercheurs de l'époque pour déchiffrer totalement tous les effets de la relaxine au niveau moléculaire et cellulaire.

Au début des années 2000, de nombreuses découvertes ont relancé l'intérêt que l'on doit porter à cette molécule :

- * Il est maintenant établi qu'elle a un rôle vital durant la grossesse chez le rat, la souris et le cochon (5). Les découvertes chez ces trois espèces nous poussent à croire que cette molécule a un rôle aussi déterminant chez d'autres espèces ;
- * D'autres recherches ont montré que la relaxine était présente en quantité importante au niveau du cerveau. Le gène H3 codant pour le relaxine-3 fut découvert par l'équipe de Liu en 2003 (6) ;
- * En 2002, l'équipe de Hsu découvrit un récepteur endogène appelé LGR7 pouvant se lier à la relaxine (7). En 2006, l'équipe de Bathgate décrivit la famille des récepteurs interagissant avec les relaxines (Relaxin family peptide receptors RXFPs) (8) ;

- * Enfin, la découverte d'actions de la relaxine sur des tissus non reproducteurs tels que le rein (9), le cerveau (10) ou le cœur (11) a ouvert des portes sur son hypothétique potentiel thérapeutique.

2.2 Les hormones de la superfamille des insulines/relaxines

2.2.1 Caractérisation génomique

Name (alternative names)	Abbreviations (alternative abbreviations)	Gene name
Insulin*	INS	<i>INS</i>
Insulin-like growth factor I	IGF-1	<i>IGF1</i>
Insulin-like growth factor II	IGF-2	<i>IGF2</i>
Relaxin H1**	RLX (REL, RLN)	<i>RLN1</i>
Relaxin H2	do.	<i>RLN2</i>
Relaxin 3	RLN3	<i>RLN3</i>
Relaxin-like factor (Leydig-insulin-like peptide)	RLF (Ley-I-L)	<i>INSL3</i>
Placentin (early placental insulin-like factor)	(EPIL)	<i>INSL4</i>
INSL5 (relaxin/insulin-like factor 2)	(RIF2)	<i>INSL5</i>
INSL6 (relaxin/insulin-like factor 1)	(RIF1)	<i>INSL6</i>

* There are two insulin genes in rat genome (not shown).

** The H1 relaxin gene is only present in anthropoid primates.

Figure 2 : Famille des gènes des relaxines/insulines (12).

La relaxine fait partie de la superfamille des insulines/relaxines regroupant un certain nombre d'hormones. Chez l'humain, elle inclut donc (12) :

- * Insuline ;
- * IGF-I ;
- * IGF-II ;
- * Relaxine-1 (présente seulement chez les primates) ;
- * Relaxine-2 ;
- * Relaxine-3 ;
- * INSL3 des cellules de Leydig (INSL3 ou Relaxine Like Factor) ;
- * INSL4 ;
- * INSL5 ;
- * INSL6 aussi dénommée relaxine/insuline facteur 1.

Les primates contrairement aux autres mammifères possèdent 3 gènes codant pour la relaxine.

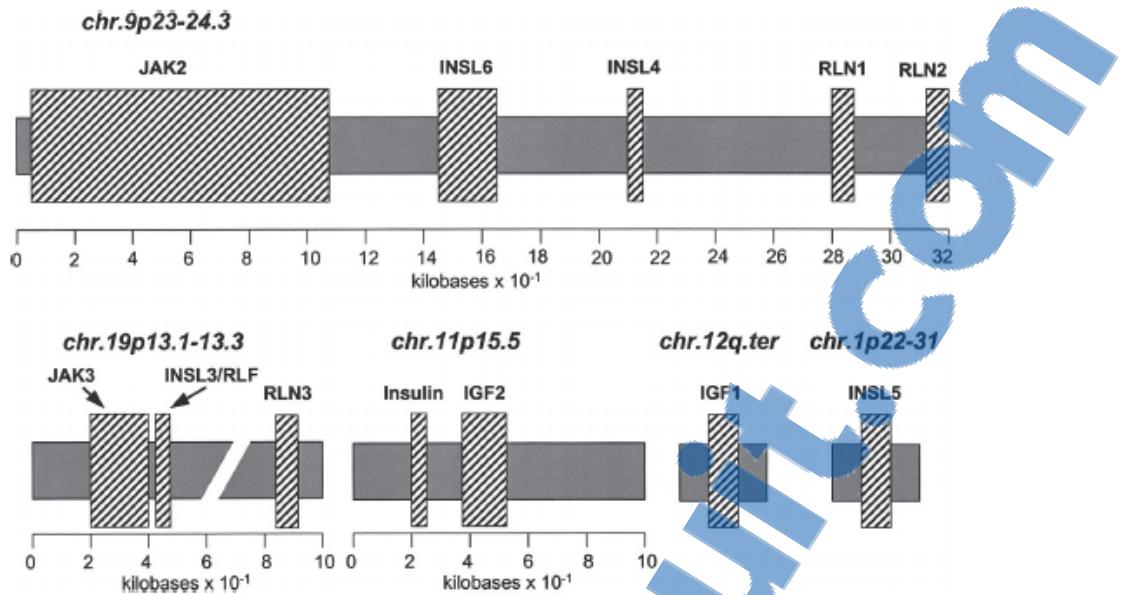


Figure 3 : Emplacement des différents gènes codant pour les hormones de la superfamille des relaxines chez l'humain (12).

Le gène humain de la relaxine-1 (RLN1) est présent uniquement chez les humains et d'autres primates mais le produit de son expression n'a pas encore été détecté *in vivo*.

Le gène humain de la relaxine-2 (RLN2) correspond au RLN1 des autres mammifères. Il code pour la relaxine-2. RLN1 et RLN2 se trouvent tous les deux sur le chromosome 9, semblant marquer une duplication du gène ayant eu lieu chez les primates après la divergence évolutionnaire avec les autres mammifères (12).

Le gène de la relaxine-3 est, lui, retrouvé avec une grande homogénéité chez tous les mammifères et même une grande partie des vertébrés dont les poissons, les oiseaux et les amphibiens (13). Il serait donc apparu avant la divergence entre les mammifères et les poissons contrairement au RLN2 des primates ou au RLN1 des autres mammifères. Cela conduit à penser que RLN3 serait le gène ancestral de la relaxine et aurait subi un certain nombre de duplications pour engendrer les autres membres de la famille des relaxines (14). Chez l'humain, il se situe sur le chromosome 19 proche de celui codant pour le RLF/INSL3 (12). D'après Crawford, les gènes codant pour l'insuline et la relaxine proviendraient d'un même gène ancestral ayant subi une duplication, mais il est impossible d'assigner un ordre précis à la divergence entre l'insuline et les différents peptides de la relaxine (3). En revanche, il est établi que l'insuline, IGF-1 et IGF-2 font partie d'un même sous-groupe.

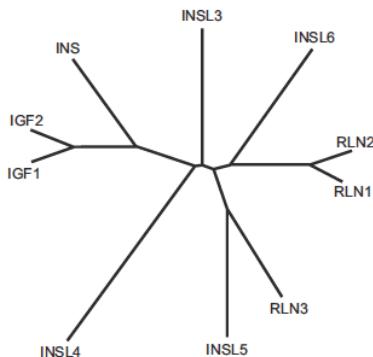


Figure 4 : Dérivé d'un arbre phylogénétique non raciné mettant en exergue les relations entre les différentes hormones de la superfamille des insulines/relaxines (13).

L'arbre présenté ci-dessus découle d'un séquençage de peptides humains et montre les similitudes entre RLN3 et INSL5 ainsi qu'entre RLN2 et RLN1 mais aussi la divergence entre l'insuline et IGF-1-2 et les autres peptides de la superfamille (14).

Néanmoins, d'après les analyses de CLUSTALW et BLASTP, il faut retenir que les relaxines humaines 1-2-3, INSL5, INSL6 et INSL3 font toutes partie d'un même sous-groupe où chaque membre possède au moins 47% de similarité avec les autres, mais qu'en revanche leur position exacte au niveau de ce sous-groupe n'est pas réellement significative (13).

2.2.2 Structure moléculaire

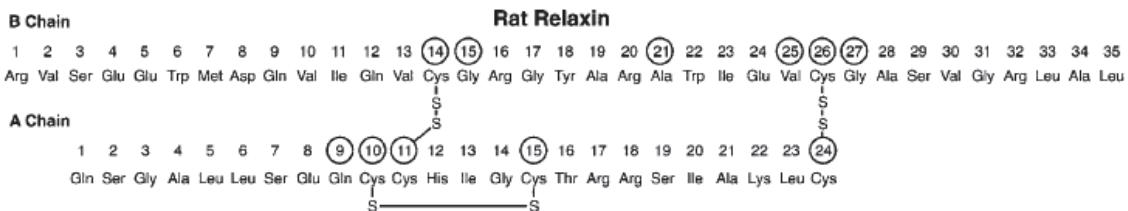


Figure 5 : Séquence des acides aminés des chaînes A et B de la relaxine-1 de rat et leurs liaisons covalentes (2).

Toutes ces hormones présentent des séquences nucléotidiques peu similaires mais une forte ressemblance structurelle.

Exceptées IGF-1 et 2, elles proviennent toutes d'une même préprohormone comprenant une association de 4 domaines distincts :

- * Un peptide signal ;
- * Une chaîne B ;
- * Une chaîne C ;
- * Une chaîne comprenant un COOH-terminal.

Les relaxines ainsi que INSL3 perdent leur peptide signal ainsi que le domaine C lors de la maturation du peptide (15).

Au sein des domaines A et B, on retrouve des résidus Cystéine hautement conservés qui permettent de lier les deux domaines par deux ponts disulfures. Ils permettent aussi la formation d'une chaîne intradomaine A par pont disulfure également.

2.2.2.1 Relaxine-1 humaine

Le gène RLN1 n'est donc exprimé que chez certains primates et dans certains tissus : la caduque, le placenta et la prostate. Il reste à démontrer que la relaxine-1 humaine est produite ou relâchée en quantité suffisante pour être détectée *in vivo* dans le sang ou le fluide prostatique. Elle possède un acide aminé de moins sur sa chaîne peptidique B que la relaxine-2 humaine. C'est donc une hormone polypeptidique comprenant 52 acides-aminés avec 75% de similitude avec la relaxine-2 humaine.

2.2.2.2 Relaxine-2 humaine et relaxine-1 des autres mammifères

Elles correspondent aux formes connues de relaxine circulant dans la circulation sanguine. Chez l'humain, elle correspond à une hormone polypeptidique comprenant 29 acides-aminés sur sa chaîne B et 24 sur sa chaîne A.

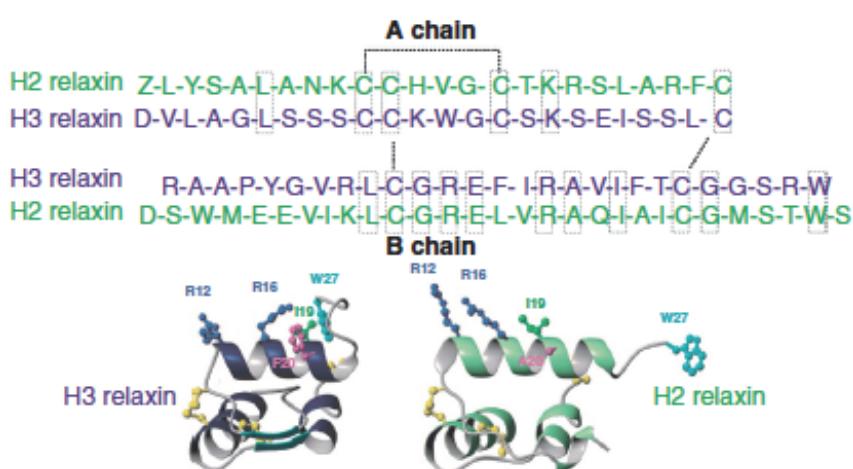


Figure 6 : Structures primaires des relaxines humaines 2 et 3 en haut et leurs structures tertiaires en bas (16).

2.2.2.3 Relaxine-3

Le gène RLN3 a été récemment identifié, présent également chez le rat (R3), le cochon (P3) et la souris (M3) (17). Il est notamment très exprimé dans certaines aires du cerveau des mammifères où il a été postulé qu'il agissait comme un neuromédiateur.

2.2.2.4 Relations entre les différentes formes de relaxine

Relaxin B Chains																																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Rat 1	Arg	Val	Ser	Glu	Glu	Trp	Met	Asp	Gln	Val	Ile	Gln	Val	Cys	Gly	Arg	Gly	Tyr	Ala	Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Val	Cys	Gly	Ala	Ser	Val	Gly	Arg	Leu	Ala	Leu	
Mouse 1	Arg	Val	Ser	Glu	Glu	Trp	Met	Asp	Gly	Phe	Ile	Arg	Met	Cys	Gly	Arg	Glu	Tyr	Ala	Arg	Ala	Glu	Ile	Lys	Ile	Cys	Gly	Ala	Ser	Val	Gly	Arg	Leu	Ala	Leu	
Pig 1																																				
Human 2																																				
	Asp	Ser	Trp	Met	Glu	Glu	Val	Ile	Lys	Leu	Cys	Gly	Arg	Glu	Leu	Leu	Val	Arg	Ala	Gln	Ile	Ala	Ile	Cys	Gly	Ser	Val	Ser	Trp	Gly	Arg	Thr	Ala	Leu		
Human 1																																				
	Lys	Trp	Lys	Asp	Asp	Val	Ile	Lys	Leu	Cys	Gly	Arg	Glu	Leu	Val	Arg	Ala	Gln	Ile	Ala	Ile	Cys	Gly	Met	Ser	Thr	Trp	Ser	Lys	Arg	Ser	Leu				
Rat 3																																				
Mouse 3																																				
Pig 3																																				
Human 3																																				

Relaxin A Chains																																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25											
Rat 1	Gin	Ser	Gly	Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Gln	Cys	Cys	His	Ile	Gly	Cys	Thr	Arg	Arg	Ser	Ile	Ala	Lys	Leu	Cys												
Mouse 1	Glu	Ser	Gly	Gly	Leu	Met	Ser	Gln	Gln	Cys	Cys	His	Ile	Gly	Cys	Ser	Arg	Arg	Ser	Ile	Ala	Lys	Leu	Cys	Gly											
Pig 1																																				
Human 2																																				
	Gin	Leu	Tyr	Ser	Ala	Asn	Lys	Cys	Cys	Cys	Cys	His	Ile	Gly	Cys	Thr	Lys	Arg	Ser	Ile	Ala	Arg	Leu	Cys												
Human 1	Arg	Pro	Tyr	Val	Ala	Leu	Phe	Glu	Lys	Cys	Cys	Leu	Ile	Gly	Cys	Thr	Lys	Arg	Ser	Leu	Ala	Lys	Tyr	Cys												
Rat 3	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ser	Ser	Cys	Cys	Glu	Trp	Gly	Cys	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Cys												
Mouse 3	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ser	Ser	Cys	Cys	Glu	Trp	Gly	Cys	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Cys												
Pig 3	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ser	Ser	Cys	Cys	Glu	Trp	Gly	Cys	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Cys												
Human 3	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ser	Ser	Cys	Cys	Glu	Trp	Gly	Cys	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Cys												

Figure 7 : Séquence des acides aminés des chaînes A et B des relaxines 1 et 3 de rat, cochon et souris et des relaxines 1, 2 et 3 de l'humain. Mise en exergue des motifs de répétition dans ces séquences (2).

Contrairement aux relaxines-3 des principales espèces de vertébrés qui partagent entre 90 et 100% d'homogénéité dans leurs séquences d'acides aminés, il y a peu de similitudes entre les autres molécules de relaxine au sein des espèces. Même les relaxines-1 de rat et souris qui font pourtant partie du même ordre taxonomique ne partagent que 75% d'homogénéité. Cependant, 12 des acides-aminés des relaxines sont invariants ou hautement conservés à travers les espèces. Les 6 résidus Cystéine impliqués dans les ponts disulfures ne changent pas sauf pour M1 dans lequel un résidu Tyrosine est retrouvé en avant dernière position avant le C terminal de la chaîne A. Le motif Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile localisé au milieu de la chaîne B est essentiel à la bioactivité de la relaxine. Les Arginines en B16 et B20 sont invariantes. De plus, le remplacement de l'Isoleucine en B23 est rare et survient seulement avec des résidus très hydrophobiques comme la Valine dans la relaxine de cochon. Enfin, trois Glycines qui apportent de la flexibilité autour des résidus Cystéine sont inchangées à travers les espèces.

En résumé, contrairement aux autres relaxines, qui montrent une hétérogénéité considérable à travers les espèces excepté au niveau de leur motif de liaison à leur récepteur et quelques résidus aminés essentiels dans leur structure, la séquence des relaxines-3 est très bien conservée à travers les espèces. Il est maintenant acquis que la relaxine-3 est un peptide ancestral de la famille des relaxines et que chez les mammifères, c'est principalement un neuropeptide exprimé presque exclusivement dans le cerveau (13).

2.2.2.5 Similitudes Relaxine et INSL3

INSL3/RLF et la relaxine ainsi que leurs récepteurs ont de grandes similarités structurales. En effet, elle contient une portion Arg-X-X-X-Arg dans la chaîne B comme la relaxine, qui est présumée avoir un rôle important dans la liaison avec son récepteur.

Il est intéressant de rappeler que la RLF est produite par les cellules testiculaires de Leydig et qu'elle a un rôle prépondérant dans la descente testiculaire pendant le développement embryonnaire.

Les différences structurelles entre les relaxines-1 des mammifères et 2 des primates tendent à montrer la diversité importante des rôles physiologiques que peut avoir cette molécule. Au contraire, la conservation de la relaxine-3 et de l'INSL3 semble indiquer une action plus précise au sein des tissus des mammifères bien conservée au fil de l'évolution.

2.2.3 Expression et sécrétion au sein des mammifères

2.2.3.1 Relaxine-2

2.2.3.1.1 Tissus reproducteurs

Chez les femmes n'étant pas enceintes, l'expression d'ARNm de relaxine-2 a été retrouvée dans les ovaires. Ils proviendraient du corps jaune, formation temporaire de l'ovaire qui résulte de la transformation du follicule mûr (de De Graaf) après l'expulsion de l'ovocyte lors de l'ovulation. Cette relaxine serait relâchée dans la circulation pendant le cycle menstruel étant donné qu'un petit pic d'immunoréactivité de la relaxine apparaît dans le plasma 9 à 10 jours après l'ovulation. La relaxine est aussi exprimée dans l'épithélium glandulaire et les cellules stromales de l'endomètre (18).

Chez les femmes enceintes, le corps jaune est la source majeure de l'immunoréactivité de la relaxine circulante (19). L'expression est à son apogée au premier trimestre et les niveaux sont 3 à 4 fois plus élevés dans le sang veineux ovarien à 6 semaines de gestation que dans la phase lutéale du cycle menstruel (20).

Pour rappel, le corps jaune se forme lors de la phase lutéale du cycle menstruel après libération de l'ovocyte et dégénère s'il n'est pas fécondé. Dans le cas contraire, il perdure et produit un certain nombre d'hormones permettant la nidation de l'embryon dans l'endomètre.

L'expression de relaxine diminue ensuite au fur et à mesure de la grossesse, contrairement aux autres espèces de mammifères, notamment les cochons, les rats et les souris, chez qui la production de relaxine continue à croître tout au long de la grossesse pour finalement chuter juste avant la parturition. La relaxine a également été retrouvée dans le placenta (21), les tissus mammaires et dans le lait.

Chez l'homme, c'est dans la prostate que l'on retrouve des traces d'ARNm de relaxine-1 et 2, et plus spécifiquement au sein de l'épithélium glandulaire de la prostate, l'épithélium glandulaire des vésicules séminales et dans l'ampoule du canal déférent (13).

2.2.3.1.2 Cerveau

Il n'y a pour le moment pas d'étude détaillant l'expression de relaxine-2 humaine au sein du cerveau humain. Cependant, chez le rat et la souris, des ARNm de relaxine-1 ont été détectés dans le cerveau.

2.2.3.1.3 Autres tissus

Chez l'Homme, la relaxine a été détectée dans la circulation (22).

Chez la souris et le rat, la relaxine a été détectée dans le thymus, le cœur et les reins et à un niveau moindre dans les poumons, la rate et la peau (17).

2.2.3.2 INSL3

INSL3 est hautement exprimée dans les testicules de toutes les espèces de mammifères examinées jusqu'ici et plus précisément dans les cellules de Leydig (23). Ces cellules contrôlent

le développement et le maintien des caractères sexuels primaires et secondaires. Elles sont à l'origine par exemple de 95% de la testostérone produite chez l'homme.

Chez l'homme, le niveau d'INSL3 dans la circulation périphérique diminue avec l'âge (24).

INSL3 a aussi été identifiée dans le fluide amniotique des fœtus masculins, mais pas des féminins, ce qui laisse penser qu'elle est exprimée par les testicules au stade de fœtus et qui correspondrait bien à son rôle crucial dans la descente testiculaire.

Elle est aussi exprimée dans la prostate et notamment dans l'épithélium basal.

Chez la femme elle est exprimée dans les ovaires et plus spécifiquement dans le corps jaune.

On l'a également retrouvée dans les tissus mammaires (13).

Au niveau des tissus non reproducteurs, il n'y a pas d'évidence de son expression (25).

2.2.3.3 Relaxine-3

Contrairement aux 2 molécules précédentes, son expression est beaucoup plus limitée au sein des tissus du corps humain. Elle est fortement retrouvée dans le cerveau, et beaucoup moins dans les testicules où son rôle reste encore à être démontré. Son haut degré d'expression dans le cerveau de très nombreuses espèces a poussé les chercheurs à se focaliser sur son rôle dans le système nerveux central (26).

2.2.3.4 INSL4

Elle est hautement exprimée dans le placenta et notamment lors du premier trimestre (27). Son expression augmente lors de grossesses anormales et notamment en cas de trisomie suggérant qu'elle pourrait être un marqueur d'anomalies chromosomiques pendant la grossesse (28).

2.2.3.5 INSL5

Elle est particulièrement exprimée dans le colon, mais est retrouvée également dans les reins, le thymus, le cœur, les ovaires et le cerveau. Chez l'humain, on la retrouve de plus dans l'utérus, le placenta, la prostate, la rate (13).

2.2.3.6 INSL6

Des ARNm d'INSL6 ont été identifiés dans les testicules mais dans aucun autre tissu humain. Des études chez les souris ont montré que INSL6 était exprimée dans des cellules germinales en corrélation avec la nette réduction dans le nombre de spermatozoïdes et leur mobilité chez les souris où le gène codant pour INSL6 avait été désactivé (29). Son expression a également été retrouvée dans les muscles squelettiques des souris et elle pourrait avoir un rôle comme facteur de régénération musculaire (30).

2.2.3.7 Résumé

Peptides	Localisation	Sécrétion	Principaux Rôles
<i>Relaxine-1 Humaine</i>	Gène exprimé seulement chez certains primates dans la caduque, le placenta et la prostate	Peptide non détecté in vivo	Inconnus
<i>Relaxine-2 Humaine</i>	Gène exprimé au niveau du cerveau, du cœur, du système vasculaire, des seins, des poumons, de la peau, des reins, du foie, des intestins, des os, de l'utérus, des testicules et de la prostate	Peptide sécrété par le corps jaune chez la femme et dans certains tissus reproducteurs chez l'homme. Il a été retrouvé circulant au niveau des organes cités à gauche	Vasodilatation, anti-apoptotique, angiogénèse, anti-fibrotique, anti-inflammatoire
<i>Relaxine-3 Humaine</i>	Gène exprimé dans le cerveau et les testicules	Peptide détecté dans le cerveau, rôle beaucoup plus obscur dans les testicules	Contrôle homéostase, alimentation, stress
<i>INSL3 ou RLF</i>	Testicules, prostate, utérus	Sécrétion par les cellules de Leydig, et retrouvé également dans le corps jaune	Rôle dans la descente testiculaire, métabolisme osseux
<i>INSL4 ou EPIL</i>	Placenta	Placenta principalement lors du premier trimestre	Peut-être marqueur de grossesses anormales
<i>INSL5</i>	Cerveau, cœur, rein, intestins, os, utérus, testicules, prostate	Principalement dans le colon	Hormone intestinale
<i>INSL6</i>	Testicules	Testicules et muscles squelettiques des souris	Fabrication et qualité des spermatozoïdes

Tableau 1 : Résumé des différents peptides de la famille de la relaxine.

2.3 Les récepteurs aux relaxines et apparentés

L'équipe de Aaron Hsueh en 2002 a découvert que la relaxine est le ligand naturel de 2 récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G (RCPG) orphelins, les LGR7 et LGR8, ce dernier étant le récepteur d'INSL3 également (7). Un an plus tard, 2 autres récepteurs orphelins GPCR135 et GPCR142 ont été décrits comme étant les cibles respectivement de la relaxine-3 et INSL5 par l'équipe de Liu C (6).

Ces 4 RCPG ont ensuite été classifiés par l'équipe de Bathgate en 2006 dans une seule et même famille, celle des récepteurs aux peptides de la famille des relaxines (RXFP) (8). Cette famille peut être divisée en deux sous-groupes :

- * Le premier regroupe RXFP1 et RXFP2 qui dans l'évolution seraient reliés aux récepteurs à FSH et LH respectivement ;
- * Le deuxième est composé de RXFP3 et RXFP4 qui seraient eux dans la lignée des récepteurs à la somatostatine.

2.3.1 Introduction aux Différents récepteurs

2.3.1.1 RXFP1 et RXFP2

RXFP1 est le récepteur principal de la relaxine-2 humaine, mais les relaxines-1 et 3 peuvent également se lier à lui.

RXFP2 est le récepteur apparenté à INSL3, mais les relaxines-1 et 2 peuvent également se lier à lui.

2.3.1.1.1 Caractérisation génomique

Il y a un haut degré de conservation des séquences de RXFP1 et 2 au sein des espèces, des poissons aux mammifères, avec notamment 90% de similarité entre les séquences des rongeurs et des humains (31).

Les RXFP1 et 2 humains présentent une homologie de 80%. Ils sont donc très proches structurellement l'un de l'autre. Les gènes codant pour RXFP1 et RXFP2 sont situés respectivement sur les chromosomes 4q32.1 et 13q13.1 (13).

Ces deux gènes sont très volumineux, environ 700 résidus, et contiennent tous les deux 18 exons et donc 17 introns. Pour rappel, chez les eucaryotes, la majorité des gènes sont morcelés et comprennent alors :

- * Des exons qui contiennent l'information et qui seront transcrits en ARN puis traduits en protéines ;
- * Des introns qui seront transcrits en ARN et qui intercalés entre les transcrits des exons formeront le Pré-ARNm. Ce Pré-ARNm subira alors ce qu'on appelle l'épissage, étape qui vise à supprimer l'ARN des introns pour donner l'ARN messager. Cet ARN messager composé alors uniquement des introns sera alors traduit en protéine.

Ces phases de formation protéinique complexes peuvent conduire à la formation de différentes formes de RXFP1 ou 2. En effet, si lors de la production de la protéine certains exons sont éliminés lors de l'épissage, alors le récepteur n'est pas produit au complet.

2.3.1.1.2 Structure

En plus de 7 domaines transmembranaires classiques, RXFP1 et 2 possèdent un large domaine extracellulaire contenant une répétition de 10 éléments riches en Leucine (LRR) et un récepteur lipoprotéine de basse densité type A à sa terminaison NH₂ (LDLa).

L'interaction des hormones avec RXFP1 et 2 implique au moins trois domaines :

- * Un couplage haute affinité entre la chaîne B et la région riche en Leucine du récepteur;
- * Un couplage de moindre affinité avec la deuxième boucle liant les domaines transmembranaires (32) ;
- * Une interaction avec le module LDLa essentielle pour le lancement des voies de signalisation (33).

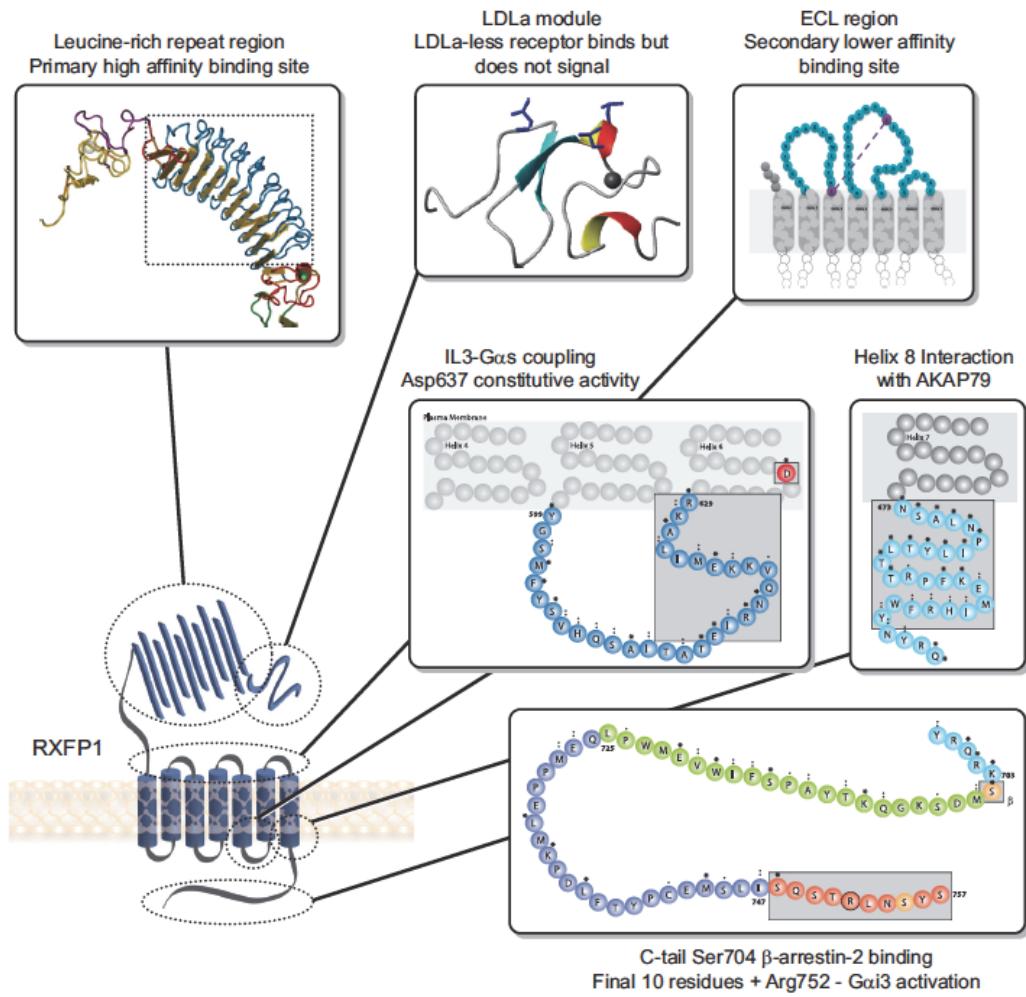


Figure 8 : Caractéristiques structurelles de RXFP1 (13).

Néanmoins, seule une partie de la production finit comme on vient de le décrire étant donné les phénomènes d'épissage que l'on a expliqués dans la partie caractérisation génomique. Actuellement, une trentaine de variantes de ces récepteurs a été décrite. Certaines ne comptent qu'une région intramembranaire ou extracellulaire (34) (35) (36). La plupart des variantes qui ne comportent que la partie transmembranaire n'ont pas la capacité de se lier aux hormones (35).

Cependant, une variante de RXFP2 à laquelle il manque seulement l'exon codant pour le module LDLa est capable de se lier à INSL3 mais ne peut pas activer les voies de signalisation intracellulaires et pourrait donc moduler l'action de cette hormone *in vivo* (36). La présence du module LDLa pourrait même être un facteur de maturation des RXFP1 et 2. En effet, des formes immatures de ces récepteurs sans module LDLa ont été retrouvées retenues dans le réticulum endoplasmique (37).

De même, seule la partie extracellulaire peut être sécrétée en dehors de la cellule.

Elle permettrait alors de lier l'INSL3 ou la relaxine sans avoir d'effet au niveau intracellulaire. Toutes ces variantes pourraient donc avoir un rôle assez complexe d'auto-modulation et de contrôle de ces deux récepteurs (34).

2.3.1.2 RXFP3 et RXFP4

2.3.1.2.1 Introduction

RXFP3 s'appelait initialement SALPR (somatostatin and angiotensin-like peptide receptor) ; quant à RXFP4 on pensait que c'était un récepteur à bradykinine. Ils ont pris leur nom actuel après qu'on les eut apparentés respectivement à la relaxine-3 et à l'INSL-5.

La relaxine-3 peut se lier également aux RXFP1 et 4 que l'on vient d'étudier. Néanmoins l'affinité à son récepteur spécifique RXFP3 est 10 fois plus élevée que pour RXFP1 (6) (38).

Il a longtemps été admis que seule la relaxine-3 pouvait se lier à RXFP3 par sa chaîne B mais de récentes études ont montré que la relaxine-2 pouvait également activer des voies spécifiques en se liant à un site différent du récepteur (39).

INSL-5 active donc RXFP4 mais elle peut agir également en tant qu'antagoniste à faible affinité de RXFP3 (13).

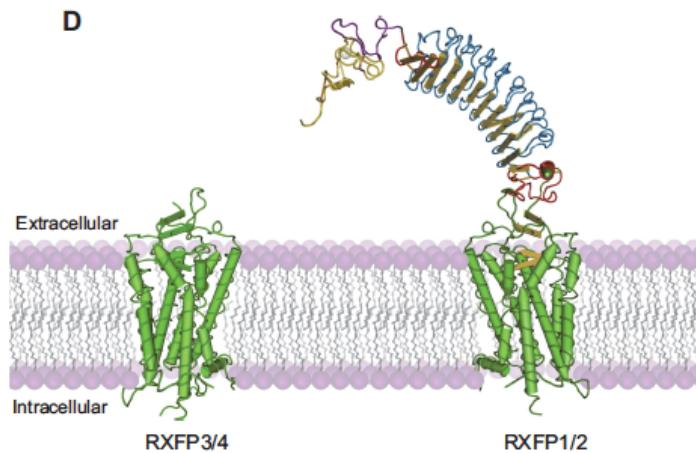


Figure 9 : Visualisation en 3D de la structure de RXFP1/2 et 3/4 (13).

2.3.1.2.2 Structure et caractérisation génomique

RXFP3 et RXFP4 ont une structure très proche (60% de similarité) mais différente de celle des deux récepteurs vus précédemment. Ils possèdent tous deux un domaine terminal NH₂ relativement court par rapport à celui de RXFP1 et 2. Ils sont donc plus petits et ne se composent ainsi que de 400 résidus.

Le gène humain codant pour RXFP3 se trouve sur le chromosome 5p13.2 tandis que celui codant pour RXFP4 est sur le 5p13.2. Contrairement aux gènes codant pour RXFP1 et 2, ils ne possèdent pas d'introns dans leur séquence et n'ont donc pas de variantes connues.

Comme noté précédemment, les petits domaines NH₂ de RXFP3 et 4 sont remarquablement différents de ceux de RXFP1 et 2. La manière précise dont la relaxine-3 et INSL5 s'y lient est encore inconnue, mais Zhu et al. ont montré que les régions : N-terminale, transmembranaires 2-3 et 5, ainsi que la boucle 2, sont essentielles pour la liaison et l'activation de ces deux récepteurs (40).

2.3.2 Relations entre la structure des relaxines et l'activation de leurs récepteurs

2.3.2.1 Relaxine-2 humaine

Relaxin B Chains																																			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Rat 1	Arg	Val	Ser	Glu	Glu	Trp	Met	Asp	Gln	Val	Ile	Gln	Val	Cys	Gly	Arg	Gly	Tyr	Ala	Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Val	Cys	Gly	Ala	Ser	Val	Gly	Arg	Leu	Ala	Leu
Mouse 1	Arg	Val	Ser	Glu	Glu	Trp	Met	Asp	Gly	Phe	Ile	Arg	Met	Cys	Gly	Arg	Glu	Tyr	Ala	Arg	Glu	Leu	Ile	Lys	Cys	Gly	Ala	Ser	Val	Gly	Arg	Leu	Ala	Leu	
Pig 1																																			
Human 2																																			
Human 1																																			
Rat 3																																			
Mouse 3																																			
Pig 3																																			
Human 3																																			

Relaxin A Chains																															
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25							
Rat 1	Gin	Ser	Gly	Ala	Leu	Leu	Ser	Glu	Gin	Cys	Cys	His	Ile	Gly	Cys	Thr	Arg	Arg	Ser	Ile	Ala	Lys	Leu	Cys							
Mouse 1	Glu	Ser	Gly	Gly	Leu	Met	Ser	Gln	Gin	Cys	Cys	His	Val	Gly	Cys	Ser	Arg	Arg	Ser	Ile	Ala	Lys	Leu	Cys							
Pig 1																															
Human 2	Gln	Leu	Tyr	Ser	Ala	Leu	Ala	Asn	Lys	Cys	Cys	Gln	Val	Gly	Cys	Ile	Arg	Lys	Asp	Ile	Ala	Arg	Leu	Cys							
Human 1	Arg	Pro	Tyr	Val	Ala	Leu	Pho	Glu	Lys	Cys	Cys	Leu	Ile	Gly	Cys	Thr	Lys	Arg	Ser	Leu	Ala	Arg	Ala	Cys							
Rat 3	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ser	Ser	Cys	Cys	Gly	Trp	Gly	Cys	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Cys							
Mouse 3	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ser	Ser	Cys	Cys	Gly	Trp	Gly	Cys	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Cys							
Pig 3	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ser	Asn	Cys	Cys	Gly	Trp	Gly	Cys	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Cys							
Human 3	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ser	Ser	Cys	Cys	Lys	Trp	Gly	Cys	Ser	Lys	Ser	Glu	Ile	Ser	Ser	Leu	Cys							

Figure 10 : Séquence des acides aminés des chaînes A et B des relaxines 1 et 3 de rat, cochon et souris et des relaxines 1, 2 et 3 de l'humain (2).

Comme énoncé précédemment, les comparaisons entre les séquences de relaxine-2 (humaine) et 1 (pour les autres mammifères) entre les différentes espèces ont montré une divergence relativement importante sur la composition en AA des peptides, et notamment au niveau de la chaîne A qui présente encore moins de similitudes que la B à travers les espèces.

Dans la chaîne A, seuls les résidus Cystéine et la Glycine en position 14, essentiels pour maintenir la flexibilité et la structure de la chaîne, semblent être conservés à travers les espèces (41). Il a donc longtemps été admis que la chaîne A jouait un rôle moins important que la B dans la liaison et l'activation des récepteurs.

Mais il a été démontré que la troncature de la chaîne A de la relaxine-2 entraînait une perte progressive de la capacité de l'hormone à se lier et activer RXFP1 et RXFP2 (42). On a conclu à l'époque que la troncature de la chaîne A devait induire une modification de la structure de la chaîne B.

Néanmoins, une étude plus récente de Park et al. (43) a montré que des mutations ponctuelles ciblées au sein de la chaîne A pouvaient altérer sélectivement la liaison ou le profil d'activation des récepteurs :

- * La substitution de l'Alanine en 16^{ème} et 17^{ème} (A16 - A17) positions par la Thréonine et la Lysine (T16 - K17) respectivement, n'a pas altéré la relation avec RXFP1 mais a renforcé l'accumulation d'AMPc après liaison à RXFP2 ;
- * La substitution de l'Alanine en 22^{ème} et 23^{ème} (A22 - A23) positions par l'Arginine et la Phénilalalyne (R22 - F23) respectivement, entraîne une nette diminution d'activité de la relaxine-2 avec RXFP2 sans altérer l'adhésion ou la lésion avec RXFP1 ;
- * La substitution de l'Alanine en 19^{ème} et 20^{ème} positions par la Sérine et la Leucine (S19 - L20) respectivement, réduit cette fois l'adhésion et l'activité de l'hormone à RXFP1.

Cette étude nous permet de comprendre :

- * Les différences dans les mécanismes permettant à la relaxine-2 de se lier et d'activer RXFP1 comparé à RXFP2 ;
- * L'importance de la chaîne A dans la liaison et l'activation de la relaxine-2 à ses récepteurs.

2.3.2.2 Relaxine-3 humaine

Alors que la relaxine-3 nécessite à la fois sa chaîne A et B pour se lier et activer RXFP1, elle a seulement besoin de sa chaîne B pour RXFP3 et 4 (38).

En effet, lorsque l'on remplace la chaîne A de la relaxine-3 avec celle de l'INSL5 la liaison et l'activation de RXFP3 sont inchangées, mais ce peptide chimérique affiche une nette diminution de sa capacité à se lier et activer RXFP1 (44).

De plus, la troncature de la chaîne A de la relaxine-3 va dans le même sens en ne changeant rien de sa relation avec RXFP3 mais en empêchant complètement sa liaison et l'activation de RXFP1 (42).

2.3.2.3 INSL3

INSL3 n'interagit avec RXFP1 qu'à de très fortes concentrations ce qui suggère qu'il est peu probable qu'il puisse physiologiquement activer ce récepteur (32).

La chaîne B d'INSL3 peut à elle seule se lier à RXFP2 mais ne l'active pas, elle se comporte donc comme un antagoniste fonctionnel (45).

2.3.3 Localisation des RXFP

La distribution tissulaire des récepteurs en dit généralement long sur leurs rôles lorsqu'ils sont activés par leurs ligands. Il y a beaucoup de données concernant l'expression de RXFP1 notamment à cause de la variété de tissus dans lesquels il est retrouvé. En ce qui concerne RXFP2, 3 et 4 nous avons moins d'informations, même si de plus en plus de données émergent quant à l'expression de RXFP3 dans le cerveau suggérant que ce récepteur pourrait être la cible de nombreuses thérapeutiques.

2.3.3.1 RXFP1

RXFP1 est retrouvé dans de nombreux tissus reproducteurs comme les ovaires, l'utérus, le placenta, les glandes mammaires, la prostate, les testicules. Mais il est aussi retrouvé dans des tissus non reproducteurs comme le cœur, le foie, les reins, les poumons et les cellules sanguines. Il est également présent dans certaines aires très spécifiques du cerveau.

2.3.3.1.1 Tissus reproducteurs

Chez les humains, RXFP1 a été identifié dans les cellules épithéliales luminales et glandulaires, dans le myomètre, les vaisseaux sanguins et le stroma (matrice extracellulaire entourant les canaux sécréteurs par exemple) (46).

La présence de RXFP1 dans l'endomètre féminin varie vraisemblablement en fonction du cycle menstruel. A la fois, la fixation et le niveau d'expression des ARNm de RXFP1 augmentent remarquablement au début de la phase sécrétoire du cycle menstruel (synchrone à la phase

lutéale ovarienne) comparé à la phase proliférative (phase succédant la menstruation de J4 à J14) (47). Ceci correspond à l'augmentation de production de la relaxine-2 réalisée par le corps jaune après l'ovulation.

Au niveau des tissus mammaires, RXFP1 a été détecté dans le stroma aux alentours des cellules glandulaires épithéliales et dans des dérivés de cellules épithéliales dans des tumeurs du sein (48).

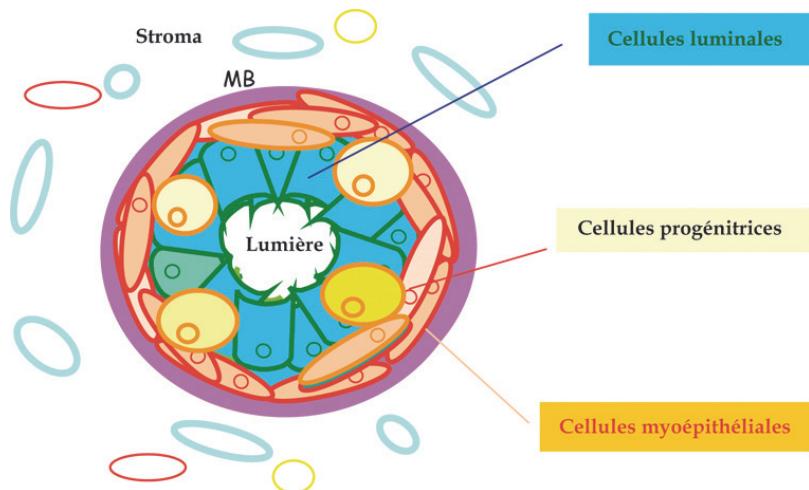


Figure 11 : Schéma d'une coupe transversale d'un canal de la glande mammaire (49).

2.3.3.1.2 Système nerveux central

Les plus hauts niveaux de fixation à RXFP1 dans le cerveau ont été détectés :

- * Dans les organes subfornical et vasculaire de la lame terminale. Ces deux organes font partie de l'organe circumventriculaire, qui ne possède pas de barrière hémato-encéphalique et qui est donc très vascularisé, permettant beaucoup d'échanges avec le système sanguin (50) (51) ;
- * Dans les noyaux supra-optiques et paraventriculaires de l'hypothalamus connus pour être à l'origine du contrôle de la balance hydrique et de l'osmolarité plasmatique via l'arginine vasopressine qu'ils sécrètent (52) (53).

2.3.3.1.3 Système rénal et cardiovasculaire

Des ARNm de RXFP1 ont donc été retrouvés dans les reins (7).

Au niveau du cœur, il serait surtout présent au niveau de l'atrium gauche, et pas dans le ventricule, que le cœur soit défaillant ou non (54). Chez le rat, la relaxine, en agissant directement sur les RXFP1 situés dans les atria, aurait des effets chronotropes positif ou négatif (augmentation diminution de la fréquence cardiaque) et inotropes (contraction des cellules myocardiques) (55) (56).

Chez l'humain, l'effet inotope a également été démontré (54).

2.3.3.2 RXFP2

2.3.3.2.1 Tissus reproducteurs

Beaucoup moins d'études ont été menées sur RXFP2 que sur RXFP1. Néanmoins il est clair que la paire RXFP2/INSL3 a des rôles très spécialisés dans la reproduction. RXFP2 est retrouvé notamment au niveau du gubernaculum testis, cordon musculaire reliant le testicule en position intra-abdominale à la paroi abdominale de la région génitale. C'est la contraction de ce cordon qui entraîne la descente des testicules dans le scrotum.

On le retrouve également dans les cellules de Leydig et dans l'utérus (7).

2.3.3.2.2 Autres tissus

Il est retrouvé dans les ostéoblastes humains et de souris, de par le rôle d'INSL3 dans la fonction osseuse (57). Des ARNm de RXFP2 ont également été détectés dans le tissu thyroïdien (58).

2.3.3.3 RXFP3

Il a été montré par RT-PCR que RXFP3 est hautement exprimé dans le cerveau humain (59). Néanmoins il n'existe pas à l'heure actuelle de revue systématique décrivant la localisation précise de ce récepteur dans les aires du cerveau humain.

Dans les autres tissus humains, RXFP3 est exprimé à de très faibles doses dans les glandes surrénales, les testicules, le pancréas et les glandes salivaires. La fonction de ce récepteur dans ces tissus est toujours inconnue.

2.3.3.4 RXFP4

Les études sur ce récepteur avant sa déorphanisation et son classement dans la famille des RXFP montraient qu'il était principalement exprimé dans les tissus périphériques comme le cœur, les muscles squelettiques, les glandes salivaires, la vessie, les reins, le foie, le placenta, l'estomac, la thyroïde, les ovaires, le jéjunum et dans des proportions plus importantes dans le pancréas (60).

Les études suivant sa déorphanisation ont montré qu'il était également présent dans le cerveau et surtout au niveau du colon (38). Ces études rejoignent celles sur INSL5, son ligand, qui est également très exprimé au niveau du colon montrant ses potentielles fonctions d'hormone intestinale.

2.3.4 Voies de signalisation des RXFP

2.3.4.1 Grande diversité des voies activées par RXFP1

2.3.4.1.1 Augmentation de concentration en AMPc

Cette augmentation de concentration en AMPc est très bien décrite dans le fonctionnement des cellules stromales de l'endomètre humain. En effet, celle-ci est à l'origine de l'induction de la déciduallisation, processus essentiel, nécessaire à la bonne implantation et au développement de l'embryon. L'augmentation de la concentration en AMPc est aussi à l'origine des effets de la relaxine sur l'angiogenèse. Le traitement par relaxine de modèles murins a montré une augmentation de l'angiogenèse sur des zones de plaies, associée à une surexpression de VEGF (vascular endothelial growth factor), une protéine proangiogénique très importante (61). De manière intéressante, dans la culture de cellules endométriales humaines normales, la relaxine augmente également l'expression de VEGF. Ses effets sont limités par l'inhibition de l'Adényl-cyclase, protéine transmembranaire transformant l'ATP en AMPc, et imités par l'activation de cette même protéine (62).

Il est donc très intéressant de comprendre les liens étroits entre RXFP1 et l'activation ou inhibition des adényls-cyclases via l'AMPc.

RXFP1 est couplé à trois protéines G intracellulaires, ayant toutes trois des voies de signalisation différentes avec des effets différents :

- * *G_as* : elle entraîne une activation de l'adényl-cyclase, enzyme généralement transmembranaire capable de transformer l'ATP en AMPc ;
- * *G_aoB* : elle est complémentaire à *G_as* et a un rôle modulateur en inactivant l'AC ;
- * *G_ai3* : seul RXFP1 y est couplé. Elle entraîne une activation de PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) qui conduit à la translocation d'une protéine kinase C jusqu'à la membrane cellulaire. Ceci entraîne l'activation de l'adényl-cyclase 5 (AC5) qui produit de l'AMPc (63).

Cette dernière voie de signalisation aurait lieu en aval des deux premières. De plus, les AMPc provenant des deux premières voies auraient plutôt un rôle dans la transcription de CREB, une protéine qui, lorsqu'elle est activée, agit comme un facteur de transcription interagissant directement avec l'ADN par sa fixation sur les séquences CRE de certains gènes, induisant leur transcription. Les AMPc résultant de la troisième voie seraient plutôt impliqués dans la régulation d'un facteur de transcription, le NF- κ B, impliqué dans la transcription de gènes anti-apoptotiques.

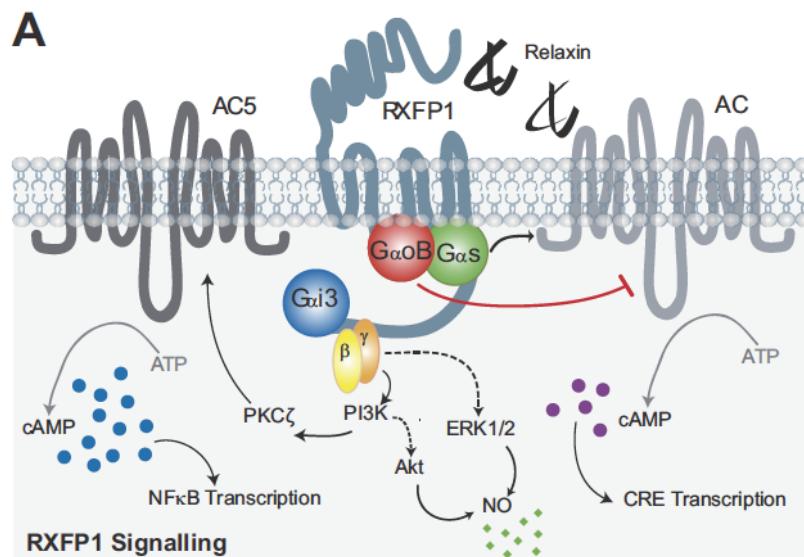


Figure 12 : Voies de signalisation intracellulaire activées par interaction entre RXFP1 et ses substrats (13).

Récemment une nouvelle voie de signalisation a été décrite. Elle est basée sur un complexe protéique ou signalosome et serait très sensible aux faibles concentrations. Ceci expliquerait

les bases de réponses aux très faibles concentrations en relaxine présentes dans la circulation. En fonction de la concentration extracellulaire en relaxine, le signalosome peut activer ou inhiber l'AC2 et activer d'autres voies comme des canoniques en cas d'inhibition de l'AC2 pour provoquer la formation d'AMPc (13).

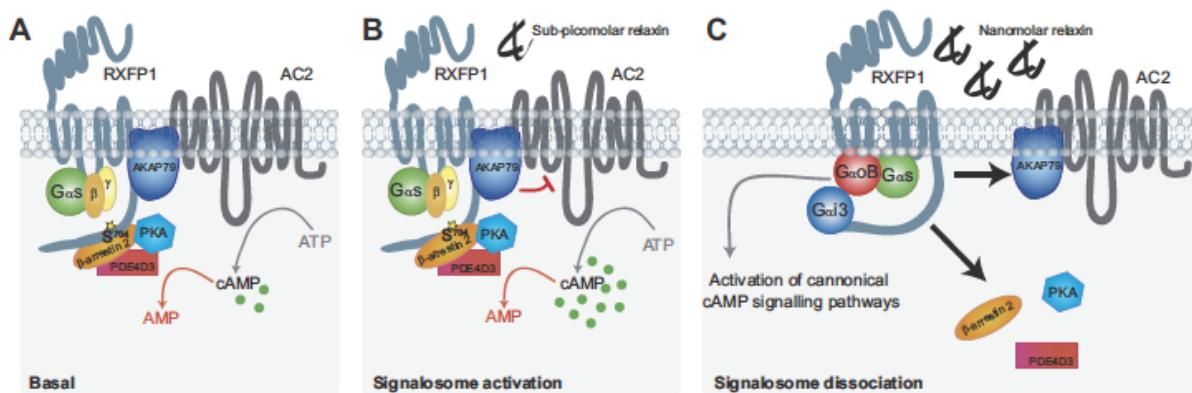


Figure 13 : Activation différentielle de RXFP1 en fonction de la concentration présente en relaxine (13).

Ainsi, la stimulation de RXFP1 par la relaxine entraîne une activation des voies de l'AMPc-PKA, mais le mécanisme précis par lequel RXFP1 engendre une accumulation d'AMPc intracellulaire varie en fonction du type cellulaire.

2.3.4.1.2 Phosphorylation des MAPK

De nombreux types cellulaires exprimant RXFP1 voient deux Mitogen-activated protein kinases (MAPK) être activées lorsque la relaxine se fixe sur RXFP1 : extracellular signal regulated kinase 1 et 2 ou ERK1/2.

Dans des cellules endométriales humaines normales, une stimulation à la relaxine entraîne une phosphorylation rapide et transitoire de ERK1/2, avec un pic entre 5 et 10 minutes (64).

Deux autres protéines kinases de la famille des MAPK, MEK1/2, semblent être indispensables à l'activation de ERK1/2 puisque leur inactivation empêche la phosphorylation de ERK1/2 après stimulation à la relaxine. Cette chaîne d'activation est retrouvée dans des cultures de cellules humaines des artères coronariennes et dans les cellules des muscles lisses des artères pulmonaires. Dans ces cellules la voie de signalisation MEK-ERK1/2 est aussi retrouvée dans le contrôle de la transcription de VEGF, à la suite de l'activation par la relaxine.

Dans d'autres lignées cellulaires comme celles du colon, de l'endothélium ou des fibrochondrocytes primaires, la relaxine augmente la phosphorylation de ERK1/2 mais aussi de Akt, une protéine kinase B, 30 minutes après activation de RXFP1 (65).

Dans ces fibrochondrocytes, il a également été montré qu'en plus de l'activation de ERK1/2 et Akt, un traitement par relaxine active également PI3-kinase, PKC ζ , NF- κ B qui influencent toutes l'expression d'une métalloprotéase : MMP-9.

Dans des myofibroblastes rénaux de rat, la relaxine induit également la phosphorylation de ERK1/2, et l'inhibition de protéines G inhibitrices potentialise cet effet, ce qui pousse à conclure que l'activation des protéines G par RXFP1 est en amont de celle de ERK1/2 (66).

En conclusion, la relaxine augmente la phosphorylation d'un certain nombre de kinases dans de multiples types cellulaires, mais l'isoforme précis de la kinase activée et le mode d'activation semblent varier et les conséquences physiologiques de l'activation de ces voies de signalisation sont encore peu claires.

2.3.4.1.3 Rôle de l'oxyde nitrique (NO) dans les réponses médiées par RXFP1

Il existe de nombreuses preuves démontrant qu'un traitement par relaxine augmente la synthèse de NO à la fois ponctuellement et chroniquement. Néanmoins, le mécanisme exact et l'implication réelle de RXFP1 ne sont toujours pas clairement démontrés (67).

De nombreux effets physiologiques de la relaxine au sein du système cardiovasculaire passent par le NO :

- * L'adhésion de lipopolysaccharides dans les cellules coronaires endothéliales (68) ;
- * L'inhibition de l'activation de neutrophiles par des agents pro-inflammatoires par l'augmentation de l'expression de NO synthases inducibles (enzymes productrices de NO stimulées par des facteurs extérieurs) ;
- * L'augmentation du flux sanguin coronarien dans le cœur de rat ou de cochon d'Inde (69) ;
- * L'augmentation de la vasodilation et de l'hyperfiltration rénale chez le rat via le récepteur ETb.

La relaxine augmente l'activité et l'expression des NO synthases dont il existe trois types ubiquitaires c'est à dire exprimés dans tous les types cellulaires :

- * Les endothéliales (eNOS) : leur expression est constitutive c'est à dire qu'elles s'expriment en dehors de toute stimulation et sont dépendantes du calcium, non solubles dans le cytosol, donc rattachées à la membrane endothéliale, et le NO produit joue un rôle vasodilatateur au niveau des vaisseaux ;
- * Les neuronales (nNOS) : expression constitutive également, solubles dans le cytosol. Le NO produit dans les neurones joue un rôle neuromodulateur et participe à la plasticité des synapses, il permet également le développement des neurones, la relâche et la recapture des neurotransmetteurs ;
- * Les inducibles (iNOS) : leur expression n'est donc pas constitutive et est induite par les cytokines et endotoxines, elle n'est pas dépendante du calcium. Elles se trouvent majoritairement dans les macrophages et font partie en quelque sorte de notre système immunitaire. Les NO produits par cette forme inducible suite à l'activation des macrophages jouent un rôle majeur comme molécule effectrice cytotoxique antiparasitaire.

Il existe plusieurs voies possibles, une fois RXFP1 activé, pour stimuler les NOS :

- * L'activité d'eNOS peut être stimulée par la phosphorylation d'Akt, elle-même activée par la voie vue plus haut de Gai3 et PI3K (67) ;
- * Celle d'iNOS peut être augmentée suite à l'activation de NF-kB qui entraîne des transcriptions particulières au niveau du génome cellulaire. NF-kB est liée à une autre protéine, inhibitrice, I kB. I kB peut être désactivée par phosphorylation par PKA, elle-même activée par l'AMPc produit suite à l'activation de l'adényl-cyclase par les protéines G liées à RXFP1. Pour preuve, l'augmentation d'expression de iNOS médiée par la relaxine dans des cellules endothéliales coronariennes de rat a été abolie par des inhibiteurs de NF-kB (70). Cette théorie est également appuyée par des études ayant montré la stimulation des transcriptions réalisées par NF-kB sur des périodes de temps court quand activée par la relaxine (71), suggérant que cette voie de signalisation pouvait représenter un mécanisme pour plus d'augmentations transitoires en NO ;
- * Enfin la voie de signalisation par laquelle la stimulation de RXFP1 par la relaxine pourrait réguler eNOS dans le rein est mieux définie. L'hypothèse émise est que cet effet physiologique de la relaxine est dû à l'augmentation d'activité de MMP2 ou MMP9 (72). Ces deux protéases peuvent engendrer la maturation d'une hormone :

l'endothéline. L'endothéline est un neuropeptide sécrété par l'endothélium vasculaire ayant un effet vasoconstricteur très puissant sur les cellules musculaires lisses. C'est également un stimulant de la prolifération cellulaire, de la fibrose et de l'inflammation. Il existe trois endothélines (1, 2 ou 3), la 1 étant la plus répandue et la plus puissante. Elles sont synthétisées sous forme de trois précurseurs beaucoup plus gros nommés les big-endothélines. Les MMP2 et 9 permettraient de cliver les big-endothélines pour former les endothélines finales. D'apparence, les effets physiologiques de ces molécules sont ainsi contraires à ceux décrits par l'adhésion de la relaxine à RXFP1. Mais en réalité, il existe trois récepteurs aux endothélines et l'adhésion de la molécule à ces récepteurs engendre des réactions complètement différentes. L'adhésion au récepteur A induit les effets décrits précédemment c'est à dire vasoconstriction et fibrose. L'adhésion au récepteur B (ET_B) est celle qui nous intéresse puisqu'elle conduit à une vasodilatation relative par stimulation de eNOS via la voie PI3K-Akt et donc la formation de NO aux effets vasodilatateurs (73). Ces deux récepteurs couplés aux protéines G aux effets inverses participent donc à la régulation vasculaire. Le dernier récepteur, le C, nous intéresse peu puisqu'il conduit à une inhibition de la sécrétion de prolactine au niveau de l'hypophyse.

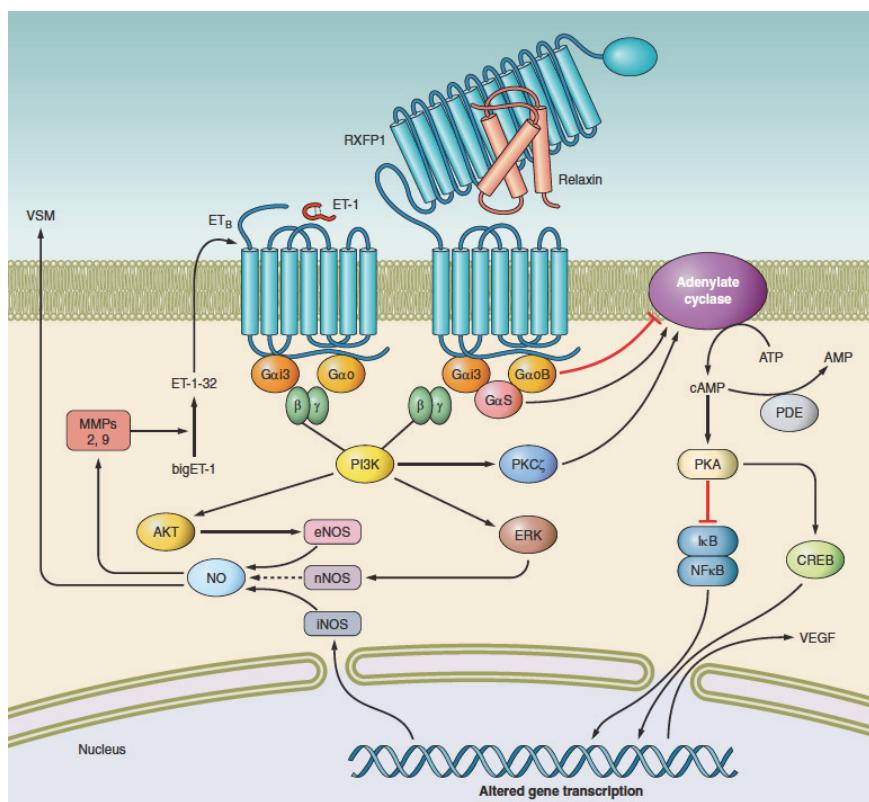


Figure 14 : Mécanismes vasodilatateurs activés par la relaxine agissant sur RXFP1 (13).

2.3.4.1.4 Influence sur le métabolisme des tissus conjonctifs

TGF- β est l'une des cytokines les plus importantes dans la progression de la fibrose. Son adhésion à son récepteur type II entraîne la formation d'un complexe avec son récepteur type I, la phosphorylation du récepteur, l'activation d'un récepteur Smad 1, 2, 3, 5 ou 8 (R-Smad) et son transport avec un Co-Smad (Smad4) jusqu'au noyau cellulaire pour contrôler l'expression de certains gènes (74).

L'effet antifibrotique de la relaxine proviendrait de l'inhibition des actions de TGF- β (75) (76).

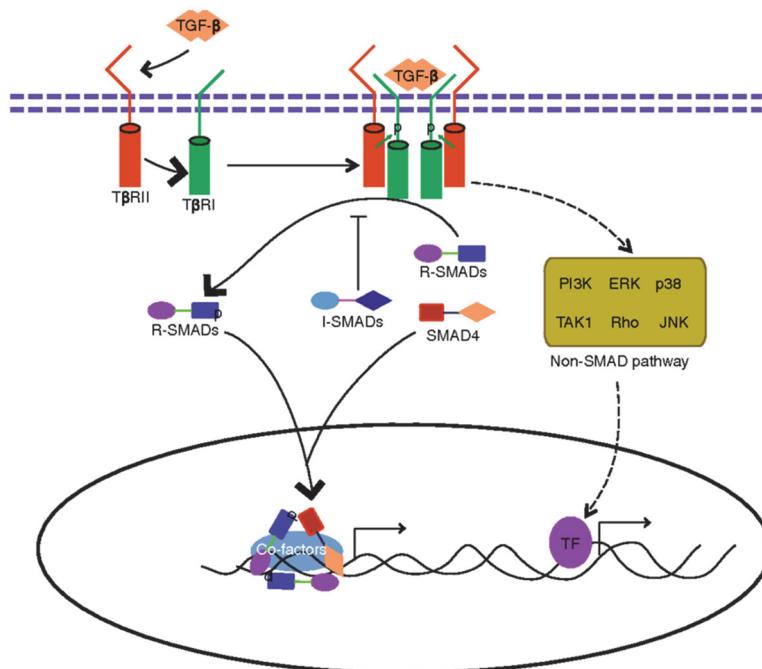


Figure 15 : Schématisation de l'effet de l'adhésion de TGF- β sur son récepteur cellulaire (77).

Dans les fibroblastes rénaux humains, TGF- β augmente l'expression de α -SMA un marqueur de différenciation fibroblastique conduisant ensuite à la production de collagène type 1 et de fibronectine et ces effets sont contrés par la relaxine. Les effets inhibiteurs de la relaxine sont dus à l'inhibition de Smad-2 un R-Smad mais aussi aux diminutions de sa phosphorylation et donc de son activation par TGF- β . Une désactivation de Smad2 seule a un effet similaire à un traitement par relaxine des cellules (72). Des études sur des myofibroblastes rénaux de rat ont découlé de ces observations et ont identifié le médiateur de ces inhibitions comme étant nNOS-NO (66). La relaxine inhibe donc la différenciation des fibroblastes par TFG- β via une voie de signalisation dépendant de NO.

La relaxine touche le métabolisme des tissus conjonctifs également en augmentant la production de MMPs, dont la MMP1 dans les fibroblastes de la peau (78) et de poumons humains (79), MMP2 dans les fibroblastes cardiaques et rénaux de rat (72), MMP13 dans les cellules stellaires hépatiques de rat (80).

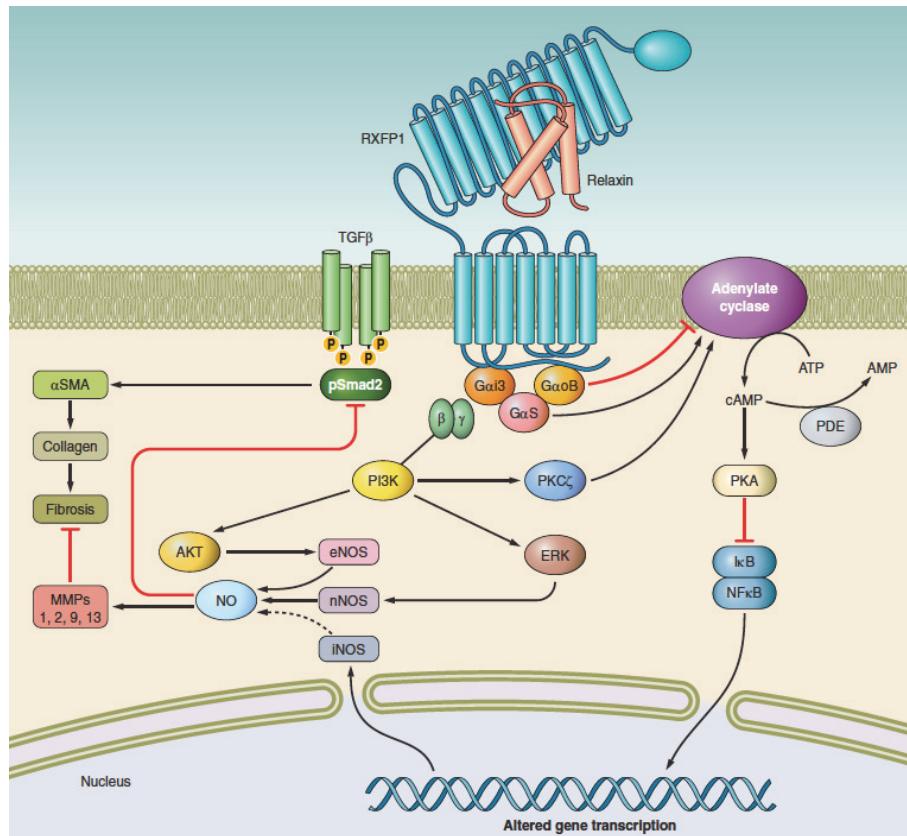


Figure 16 : Effets de l'activation de RXFP1 par la relaxine sur le métabolisme des tissus conjonctifs (13).

Des études sur des cellules (THP-1 atteintes de leucémie) ont montré que la concentration en MMP9 augmentait en leur sein lorsqu'exposées à la relaxine à cause de changements dans la régulation de la transcription de leur gène médiée par NF-κB. En effet l'inhibition de NF-κB réduisait l'augmentation relaxine-dépendante de l'activité et de l'expression de MMP9 (81). La relaxine pourrait également diminuer l'expression d'inhibiteurs tissulaires des MMP (TIMPs) dans les fibroblastes humains de la peau (78), avec une inhibition spécifique des TIMP1 et TIMP2, cellules stellaires hépatiques en culture de rat (80).

Un rapport récent a indiqué que la relaxine pourrait augmenter l'activité du peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-γ (82), un récepteur nucléaire qui s'hétérodimérisé avec le récepteur rétinoïde X pour augmenter la transcription de gènes cibles. PPAR-γ a des

effets inhibiteurs sur TGF- β similaires à la relaxine. Néanmoins, cette observation pointerait du doigt une nouvelle voie de signalisation de la relaxine encore inconnue à ce jour.

2.3.4.2 Voies de signalisation activées par RXFP2

Même si la relaxine et INSL3 ainsi que RXFP1 et RXFP2 sont deux peptides et deux récepteurs de structures très proches, leurs voies de signalisation ne sont pas identiques. Celles engagées après fixation de INSL3 sur RXFP2 sont beaucoup moins élaborées que pour RXFP1.

La stimulation de RXFP2 par INSL3 ou la relaxine-2 exprimée dans les cellules d'étude HEK293T entraîne un couplage à G α s pour augmenter l'accumulation intracellulaire en AMPc et à G α oB pour moduler de manière négative cette accumulation (83), tout comme pour RXFP1. Ceci induit donc l'activation de la protéine CREB qui va ensuite entraîner la transcription spécifique de gènes dans le noyau cellulaire.

Mais contrairement à RXFP1, RXFP2 n'active pas la voie de signalisation G α i3-cAMP et n'induit donc pas la désinhibition de NF- κ B.

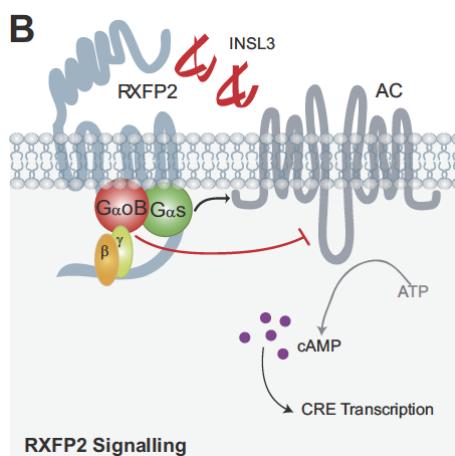


Figure 17 : Voies de signalisation intracellulaires activées par RXFP2 et INSL3 (13).

2.3.4.3 Voies de signalisation activées par RXFP3

Nous ne nous attarderons pas sur RXFP3 qui nous intéresse moins que RXFP1 étant donné sa faible distribution tissulaire en dehors du système nerveux central.

Les études initiales sur RXFP3 suggéraient que seule la chaîne B de la relaxine-3 pouvait se lier à ce récepteur. Mais des travaux plus récents ont démontré que la relaxine-2 peut également avoir des actions agonistes au niveau de ce récepteur quoiqu'elle active des voies de

signalisation légèrement différentes (39). Ainsi, la relaxine-2 agit comme un ligand biaisé comparé à la relaxine-3 au niveau de RXFP3, ce qui pourrait être intéressant pour le développement de composés agissant spécifiquement au niveau de ce récepteur.

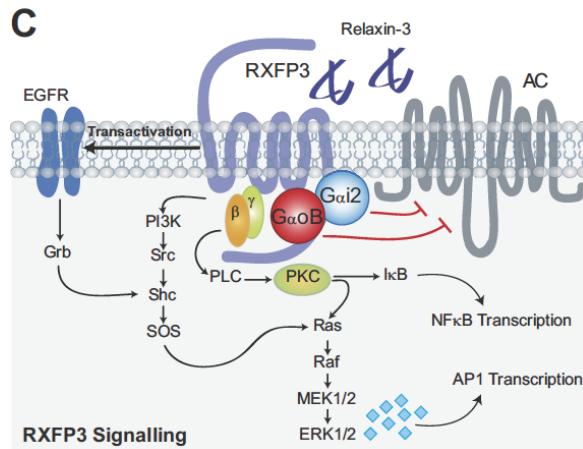


Figure 18 : Voies de signalisation intracellulaires activées par RXFP3 et la relaxine-3 (13).

2.3.4.3.1 Couplage aux protéines G et seconds messagers

RXFP3 est couplé à des protéines G inhibitrices, G_{αo}B et G_{αi}2 notamment. Elles peuvent être différentes en fonction du type cellulaire, et leur activation entraîne une inhibition de l'AC et une baisse de concentration en AMPc intracellulaire (38).

L'activation de RXFP3 permettrait aussi le relargage des sous-unités β et γ de la protéine G inhibitrice entraînant l'activation de deux voies, celle de la protéine kinase C (PKC) et celle dépendante de la kinase phosphoinositide 3 (PI3K) induisant la phosphorylation de la kinase régulée par les signaux extracellulaires (ERK) 1/2 (84). De nombreuses MAPKs, dont ERK1/2, sont impliquées dans les réponses du système nerveux central à la sensation de faim chez le rat (85) (86) ce qui suggérerait que l'activation de ERK1/2 par RXFP3 est une voie de signalisation physiologique pertinente à ce sujet. Néanmoins, les liens directs restent à établir entre RXFP3, l'activation de ERK1/2 et des augmentations de la sensation de faim.

2.3.4.3.2 Activation du complexe protéine activatrice 1 (AP-1)

ERK1/2 ne seraient pas les seules MAPKs concernées par l'activation de RXFP3. Il y aurait également p38 (87) et JNK (88). L'activation de ces dernières entraîne l'expression du gène précoce immédiat *c-fos* et une augmentation de la formation du complexe AP1 (complexe Fos-Jun, initialement nommé protéine activatrice 1, AP1). Le complexe AP1 active la transcription d'un grand nombre de peptides comme des neurohormones (e.g. CRF), des récepteurs de neurotransmetteurs (par exemple récepteur adénergique β 1) et des enzymes produisant des neurotransmetteurs (par exemple tyrosine hydroxylase, catalysant l'étape limitante de la synthèse des catécholamines).

Ces voies de signalisation concernant les MAPK pourraient avoir un rôle physiologique. En effet, des tests chez le rat visant à les forcer à nager, ont montré une très forte augmentation de phosphorylation de ces MAPK juste après le test de nage (89). Ceci suggère que ces MAPK pourraient être importantes dans la médiation de la gestion du stress au niveau central. Tout ceci reste à démontrer au niveau du cerveau humain.

2.3.4.3.3 RXFP3 et NF-kB

L'activation de RXFP3 par la relaxine-3 humaine entraîne une augmentation de l'activation de NF-kB. Le blocage des protéines G inhibitrices entrave cette augmentation suggérant que leur activation en est à l'origine, mais les mécanismes précis ainsi que les rôles physiologiques que ceci engendre restent inconnus (39).

2.3.4.3.4 Différentes voies de signalisation en fonction du ligand

Une étude intéressante a été menée sur RXFP3 pour voir les différentes voies de signalisation activées en fonction du ligand utilisé, Relaxine-3 ou 2 humaines, INSL3 ou relaxine-1 de porc (39). Il a alors été démontré que différentes voies étaient activées ou non en fonction du ligand entraînant des activations ou inhibition plus ou moins importantes de protéines au sein de la cellule. Par exemple, la relaxine-2 ou INSL3 entraînent une plus faible inhibition de l'AC que la relaxine-3. De même, la relaxine-2 est capable, tout comme la relaxine-3, d'activer le complexe AP-1 dans des proportions autant, voire plus importantes. Mais c'est la voie de

signalisation JNK qui est la plus utilisée par la relaxine-2, contrairement à ce que l'on a vu avant pour la relaxine-3 où les 3 MAPK décrites avaient la même influence sur son activation, pouvant varier en fonction des types cellulaires.

Ceci témoigne du biais de signalisation qu'il peut exister en fonction du ligand qui active RXFP3.

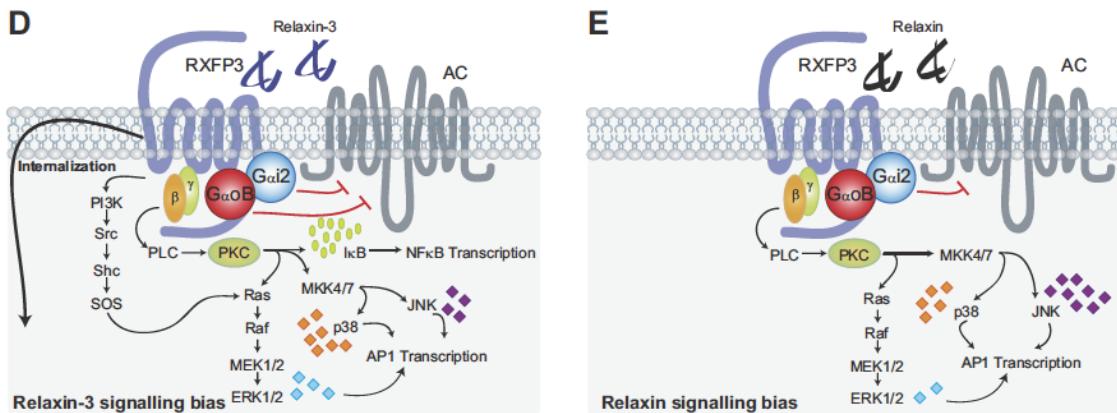


Figure 19 : Différences entre les voies de signalisation activées par RXFP3 en fonction de sa liaison avec relaxine-2 ou 3 (13).

2.3.4.4 Voies de signalisation activées par RXFP4

On a que peu d'informations concernant les voies de signalisation activées en aval de RXFP4 au sein de la cellule. Son activation par la relaxine-3 ou par INSL5 inhibe l'accumulation en AMPc dans la cellule, ce qui semble montrer que RXFP4 est couplé à une protéine G inhibitrice (90). Il semblerait qu'il puisse également se coupler à d'autres protéines G permettant une augmentation de la concentration en Calcium intracellulaire. Mais ces mécanismes sont peu connus encore.

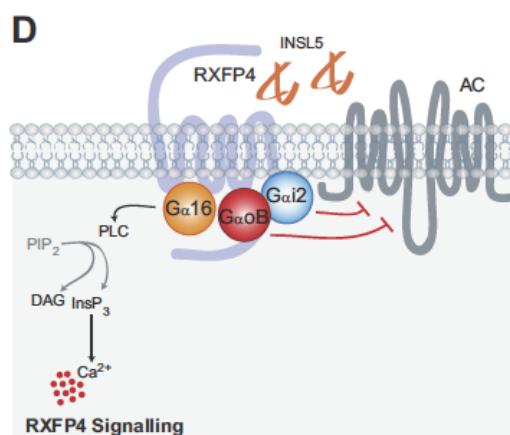


Figure 20 : Voies de signalisation intracellulaires activées par RXFP4 et INSL5 (13).

2.3.5 Synthèse

Récepteur	Ligands	Voies de signalisation activées	Voies de signalisation inhibées
<i>RXFP1</i>	Relaxine-2 Relaxine-3	AMPc Protéine-kinase Erk1/2 NO	
<i>RXFP2</i>	INSL3 Relaxine-2	AMPc	
<i>RXFP3</i>	Relaxine-3 INSL5 Relaxine-2 INSL3	Erk1/2 Protéine-kinase	AMPc
<i>RXFP4</i>	INSL5 Relaxine-3		AMPc

Tableau 2 : Résumé des voies de signalisation activables par les différents récepteurs aux relaxines.

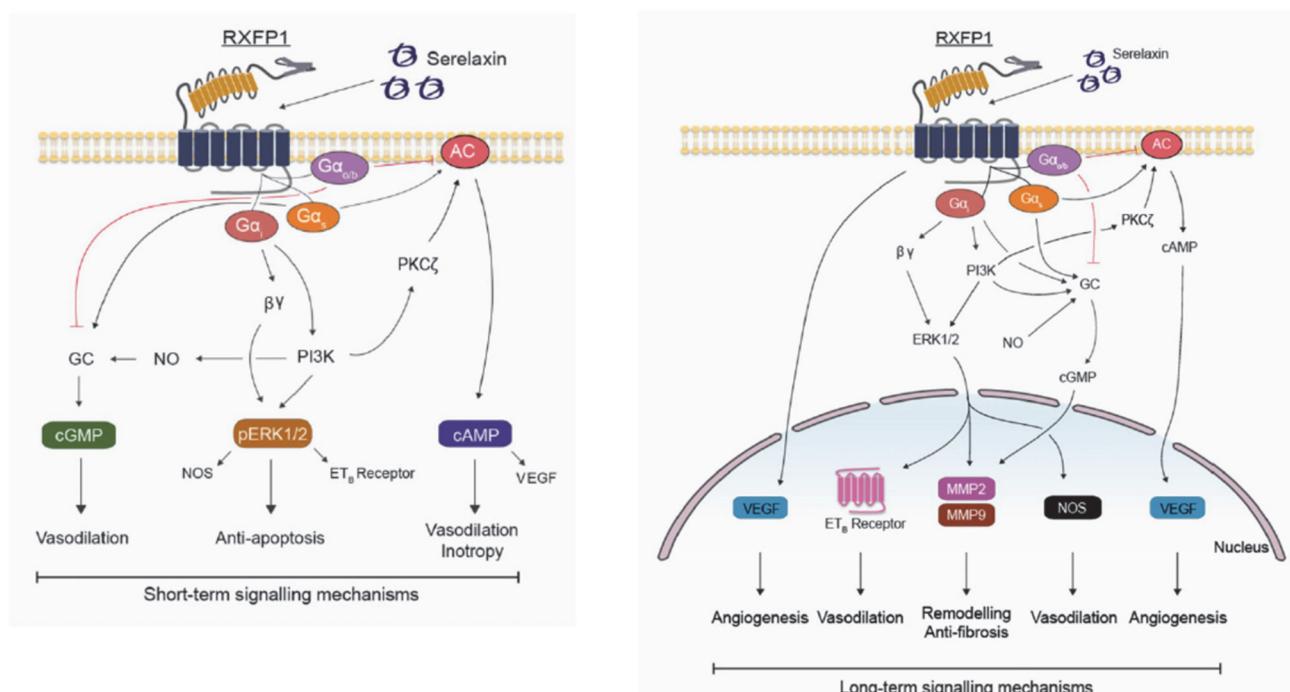


Figure 21 : Résumé des effets de l'activation de RXFP1 au niveau cellulaire à court terme à gauche et plus long terme à droite (91).

3 Applications thérapeutiques actuelles et perspectives

3.1 Applications au domaine médical

3.1.1 RXFP1 et relaxine-2

Pour rappel, RLN1 a été le premier gène humain découvert codant pour un peptide de la famille de la relaxine. Il est exprimé dans le décidua, les trophoblastes ainsi que la prostate et n'est retrouvé que chez certaines espèces de primates et donc les humains. Néanmoins, ses rôles physiologiques sont peu clairs et la relaxine-1 humaine n'a toujours pas été isolée *in vivo* mettant en doute qu'un peptide fonctionnel de relaxine-1 soit produit au sein du corps humain.

Le gène RLN2 produit en revanche de la relaxine-2 dans le corps luteum des ovaires et en relâche dans la circulation sanguine pendant la grossesse. Elle est également produite par la prostate chez l'homme (92). Ce gène est l'équivalent des gènes RLN1 retrouvés chez les autres mammifères n'appartenant pas au groupe des primates. Les multiples sites où l'on retrouve l'expression de ce peptide fournissent des indices sur les nombreux rôles physiologiques que peut avoir la relaxine-2.

3.1.1.1 Reproduction chez la femme

La relaxine produite par le corps luteum et/ou le placenta a des rôles importants durant la grossesse et la parturition. C'est une hormone circulante majeure pendant la grossesse chez toutes les espèces de mammifères. La relaxine a des effets sur la symphyse pubienne, le col de l'utérus, l'utérus, le vagin et les glandes mammaires. Elle a aussi des rôles importants au niveau des changements cardiovasculaires qui apparaissent durant la grossesse.

La modification de la ceinture pelvienne impliquant la croissance du ligament interpubien est essentielle pour la réussite de la naissance dans de nombreuses espèces (2). On croit que la relaxine est à l'origine de l'augmentation de la flexibilité et de l'élasticité du ligament interpubien associée avec la grossesse dans de nombreuses espèces (93).

Chez les souris où la production de relaxine est désactivée, le ligament interpubien ne se développe pas par exemple (5). Le mécanisme impliquerait une action de la relaxine sur des remodelages du collagène comme dans d'autres organes reproducteurs que l'on va voir plus

bas. Néanmoins, ce rôle n'est pas clairement démontré chez les primates et les humains (94). Il a été avancé que les niveaux de relaxine sont à corrélérer avec des douleurs pelviennes sévères et une laxité excessive du joint pelvien déclarées chez certaines femmes durant la grossesse (95).

La relaxine est aussi responsable du relâchement et de l'hypertrophie du col de l'utérus pendant la deuxième moitié de la grossesse chez les mammifères en ayant une action sur le collagène, l'élastine, les protéoglycans et les glycosaminoglycans. Le développement du col est inégal à la fois chez les souris et les rats déficients en relaxine (96). Les mécanismes d'action impliqueraient des interactions avec des hormones stéroïdes et des prostaglandines. Des études chez le rat ont démontré que la relaxine promouvait la croissance de cellules stromales et épithéliales dans le col en stimulant la prolifération cellulaire et en inhibant l'apoptose (13).

La relaxine influence la contractilité et la croissance utérine pendant la croissance (97) (98), mais ce rôle est très espèce-dépendant. Chez les humains, la relaxine a très peu d'effets sur le tonus utérin mais chez le rat, le cochon d'Inde, la souris, le hamster et le cochon, l'utérus est relâché par la relaxine.

Chez des rates n'étant pas enceintes, l'effet de la relaxine sur la croissance et le développement de l'utérus est associé à une dilatation vasculaire et chez le ouistiti à une angiogenèse endométriale (99). Chez les primates et les rats, un prétraitement avec des oestrogènes améliore les effets de la relaxine et chez les cochons. L'oestrogène est essentiel pour que la relaxine puisse jouer un rôle dans la promotion de croissance utérine. Le mécanisme impliqué dans l'interaction entre oestrogène et relaxine n'est pas bien décrit. Chez les rats, un prétraitement à l'oestrogène augmente considérablement l'adhésion de la relaxine à son récepteur dans l'utérus (100). Cet effet uterotrophique de la relaxine ne joue pas un rôle essentiel dans la grossesse des rats et des souris mais est très important pour les cochons.

Au niveau des mamelons, chez les rongeurs, l'effet majeur de la relaxine se retrouve au niveau du développement des tétons qui sont hypertrophiés alors que chez le cochon, ce sont plutôt les glandes mammaires qui sont touchées avec une surproduction relevée (101).

Chez les souris dont la production de relaxine a été désactivée, les tétons ne se développent pas rendant impossible l'alimentation du petit qui vient de naître et qui meurt au bout de 24h alors que la production de lait est tout à fait normale (5).

Chez les humains, RXFP1 est localisé au niveau du téton, des cellules épithéliales et stromales des seins.

Des études récentes ont montré que l'administration de relaxine à des singes a entraîné la croissance et l'augmentation d'angiogenèse dans l'utérus (102). Il est très probable que des effets similaires surviennent dans l'endomètre humain étant donné que dans un essai clinique pour le traitement de la sclérodermie par relaxine, les femmes qui ont reçu des injections sous-cutanées de relaxine pendant 24 semaines ont rapporté des saignements menstruels plus importants, irréguliers et prolongés que d'habitude (103).

Comme vu précédemment, le pic de concentration en relaxine chez la femme survient pendant le premier semestre de grossesse (104), ce qui diffère des autres espèces de mammifères comme le rat ou le cochon où ce pic apparaît à la fin de la grossesse. Ceci suggère que le rôle de la relaxine-2 en association avec RXFP1 chez la femme est probablement lié aux événements physiologiques marquants du premier semestre de grossesse comme l'implantation embryonnaire. En effet, la relaxine-2 peut interagir avec RXFP1 exprimé sur les cellules endométriales et stromales, impliquant une accumulation de cAMP et la production de VEGF pour induire la déciduaïsation et la préparation de l'endomètre pour l'implantation (62).

Chez le macaque, il a été montré qu'un traitement par relaxine pouvait faciliter la fertilisation *in vitro* par une augmentation de l'épaisseur de l'endomètre et ainsi une meilleure implantation de l'embryon (105). Cependant, la relaxine n'est sûrement qu'un agent facilitant l'implantation et n'est pas essentiel à ce phénomène puisqu'il survient même chez les humains et les primates en absence d'ovaires et donc de production de relaxine (106).

3.1.1.2 Reproduction chez l'homme

La relaxine est retrouvée dans le tractus génital de l'homme chez de nombreux mammifères. La relaxine-2 a été retrouvée dans le plasma séminal et est identique à celle produite par le corps luteum. La source de production de cette relaxine semble être la prostate mais sa fonction chez l'homme est peu connue. Néanmoins, RXFP1 a été localisé sur les spermatozoïdes humains et de souris (107) et le traitement des spermatozoïdes humains avec de la relaxine-2 entraîne une augmentation de leur mobilité et leur hyperactivité au niveau intracellulaire avec augmentation de concentration en AMPc et en Ca.

Chez des souris, des études ont également montré que l'absence de relaxine pouvait entraîner un défaut de croissance de l'épididyme, mais également des apoptoses au moment des stades précoces de formation des spermatozoïdes (108).

3.1.1.3 Système nerveux central

Chez les mammifères, la relaxine agit directement sur les récepteurs localisés au niveau de l'organe subfornical et de l'organe vasculaire de la lame terminale, mais également dans les noyaux supra-optiques et paraventriculaires de l'hypothalamus pour engendrer une réduction de l'osmolarité plasmatique (52) via une augmentation de c-fos stimulée par l'activation de RXFP1.

Chez les rats, la baisse de l'osmolarité plasmatique durant la deuxième partie de la grossesse est associée avec l'augmentation de la concentration en relaxine dans le sérum (109) et cette baisse est absente chez les rates enceintes déficientes en relaxine ayant eu une ovariectomie ou étant traitées par des anticorps de la relaxine (9).

Chez les humains, il existe également cette baisse d'osmolarité durant la grossesse mais elle n'est sûrement pas due à la relaxine étant donné qu'elle survient même chez les femmes ayant reçu une donation d'ovocyte et qui présentent un taux indétectable de relaxine (110). Cependant, l'apparent manque de relaxine dans ces conditions devrait être réévalué en utilisant des méthodes de détection plus sensibles, étant donné les dernières découvertes

montrant des réponses cellulaires à la relaxine à des taux bien en dessous que ceux pouvant être détectés par les tests réalisés via la technique ELISA.

Chez les rats, la consommation en eau est fortement stimulée par la relaxine et est également augmentée dans la seconde moitié de la grossesse (111).

RXFP1 est également hautement exprimé dans l'amygdale baso-latérale et l'administration de relaxine dans cette région altère la consolidation de la mémoire liée à la peur chez le rat (112). Mais d'autres études doivent confirmer ces données et expliquer le mécanisme.

De même RXFP1 est aussi hautement exprimé dans d'autres régions associées à la formation de la mémoire comme le néocortex, le noyau thalamique, l'hippocampe et le noyau supramammillaire, néanmoins il n'y a pas d'études à ce jour qui ont examiné les possibles effets de la relaxine sur la mémoire.

RXFP1 pourrait également interagir avec une molécule très intéressante, l'ocytocine. L'ocytocine est un neuropeptide sécrété par les noyaux paraventriculaire et supraoptique de l'hypothalamus. Elle est excrétée par l'hypophyse postérieure (neurohypophyse) qui agit principalement sur les muscles lisses de l'utérus et des glandes mammaires. Elle a aussi un rôle connu chez les êtres humains, notamment en ce qui concerne la confiance, l'empathie, la générosité et la sexualité. RXFP1 est présent dans les cellules qui contiennent l'ocytocine dans les noyaux paraventriculaires et supra-optiques de l'hypothalamus. L'administration de relaxine augmente l'activité neuronale liée à l'ocytocine et la libération de cette molécule (113). Mais de plus amples études doivent également être réalisées pour comprendre ces mécanismes.

3.1.1.4 Système cardiovasculaire

3.1.1.4.1 Chez la femme enceinte

La relaxine a un rôle important dans beaucoup de changements adaptatifs du système cardiovasculaire lors de la grossesse. Elle permet une augmentation des volumes plasmatique et de sortie cardiaque, ainsi que du rythme cardiaque et une diminution de la pression sanguine et des résistances vasculaires (114).

Chez les rats mâles et femelles, l'administration de relaxine augmente le flux plasmatique rénal et le taux de filtration glomérulaire et chez la femelle, elle entraîne une réduction de l'osmolarité plasmatique associée avec la grossesse.

Chez les humains, des études récentes suggèrent que la vasoconstriction définissant la prééclampsie pourrait provenir de l'inhibition de facteurs comme le VEGF (115). Dans les essais cliniques pour le traitement de la sclérodermie, l'administration de relaxine a été associée à des ménorragies et des métrorragies chez un grand nombre de femmes (103), ce qui coïncide avec ses effets vasodilatateurs et angiogéniques dus à son action sur l'augmentation de l'expression et la sécrétion de VEGF dans les cellules endométriales humaines. Dans la même étude, l'administration de relaxine induisait également une diminution de la pression sanguine systolique et diastolique ainsi qu'une vasodilatation rénale confirmant une nouvelle fois ses grands effets vasodilatateurs. La relaxine pourrait donc venir contrer les effets de la prééclampsie. Un protocole d'étude pour un essai clinique de phase 1 randomisé à double aveugle avec contrôle placébo a été imaginé mais non mené à bien (116). En 2016 une étude a été menée sur 10 rats ayant un modèle transgénique permettant la simulation d'une prééclampsie. Cinq reçurent 2 μ g de relaxine par heure en subcutanée durant une dizaine de jours contre du placebo pour les 5 autres. Aucune différence n'a été notée au niveau de la variation de la pression artérielle entre ces deux groupes de rat (117).

3.1.1.4.2 Traitement de l'insuffisance cardiaque

La vasodilatation des artéries, des capillaires et des veinules est une réponse commune à la relaxine dans les tissus reproducteurs, le cœur, le foie et le caecum. Elle produit ces effets vasodilatateurs dans les artères coronaires chez le rat et le cochon d'Inde via une augmentation de synthèse de NO. Ceci fut confirmé plus tardivement dans des cellules de muscles lisses bovins (118).

Chez l'humain, les mécanismes conduisant à une vasodilatation impliqueraient, comme vu plus haut, l'activation des NOS, VEGF, MMP, récepteurs ETb et une modification de la matrice extracellulaire des parois des vaisseaux. Néanmoins, c'est l'activation de MMP2 et surtout MMP9 qui serait à l'origine de la vasodilatation rapide des vaisseaux au niveau du rein par la

fabrication de ET1-32 et la stimulation de ET_b engendrant la stimulation de NOS et la production de NO (119) (120).

La production du facteur VEGF et donc l'angiogenèse serait, elle, augmentée par la relaxine via l'augmentation en concentration intracellulaire de l'AMPc (62). Mais aucune étude ne peut affirmer que VEGF agit dans le mécanisme de vasodilatation induite par la relaxine.

En 2009, la relaxine émergea donc comme un nouveau traitement potentiel pour l'insuffisance cardiaque congestive aiguë (121). Dans les insuffisances cardiaques congestives, le cœur ne peut plus pomper suffisamment de sang pour perfuser les organes vitaux. Cette pathologie est souvent associée à une augmentation de la pression sanguine et sa mortalité est hautement corrélée avec le déclin des fonctions rénales et l'augmentation de l'activité du système nerveux sympathique. Ainsi, la capacité de la relaxine à induire une vasodilatation et améliorer la fonction rénale lors de la grossesse, qui fut démontrée dans les essais cliniques pour la sclérodermie (103), a suggéré que le peptide pouvait être utile dans le traitement de l'insuffisance cardiaque. En addition de ces caractéristiques, il a été montré que la relaxine :

- * Agissait également directement sur le cœur. De nombreuses études sur les rongeurs ont d'abord prouvé l'effet inotrope positif (augmentation de la contractilité cardiaque) et chronotrope (variation de la fréquence cardiaque) (11). On pensait que les effets de la relaxine se limitaient au cœur des rongeurs mais une étude de 2011 a montré que la relaxine avait également des effets inotropes sur les atria du cœur humain (54) ;
- * Pouvait protéger le myocarde contre les lésions créées par l'ischémie et la reperfusion. En effet, une étude sur les rats, consistant en une prémédication à la relaxine, 30 minutes avant une ischémie cardiaque causée par la ligature de l'artère coronaire descendante antérieure gauche, a montré une nette réduction de la taille de la pénombre (zone non vascularisée lors d'un infarctus du myocarde), des arythmies, de la mortalité et une amélioration de la morphologie cardiaque (122). La relaxine pourrait alors être un agent protecteur cardiaque naturel puisque dans les insuffisances cardiaques congestives, l'expression de relaxine-1 et 2 est augmentée à la fois dans les atria et dans les ventricules et que ce niveau d'expression suit le degré de l'insuffisance (123).

Au niveau des preuves cliniques, dans un essai de phase 1, furent examinées la sûreté et la relation dose-effets d'une injection à court terme (24h) de relaxine à des doses allant de 10 à 960 µg/kg/j sur l'hémodynamique de patients atteints d'insuffisance cardiaque congestive. L'injection a engendré une augmentation du débit cardiaque et une baisse de la résistance vasculaire systémique ainsi que de la pression capillaire pulmonaire (124).

Un essai international de phase 2 a ainsi pu être réalisé de manière multicentrique, contrôlé contre placébo, en double aveugle et randomisé pour évaluer les effets d'une injection intraveineuse de relaxine chez des patients avec une insuffisance cardiaque (121). Une légère mais significative amélioration fut constatée dans l'incidence de la mort cardiovasculaire ou de réadmission. Cette étude a confirmé l'absence d'effets secondaires notables suite à l'injection du peptide.

En 2019, un essai clinique de phase 3 multicentrique en double aveugle contre placébo mené sur 6545 patients atteints d'insuffisance cardiaque a été réalisé. Une injection de 30µg par kilo de masse corporelle par jour de Serelaxine, une forme recombinante de la relaxine-2 humaine, sur deux jours en plus du traitement classique a été faite sur 3274 patients, tandis que les 3271 autres patients ont reçu un placebo en plus du traitement classique. L'injection de Serelaxine n'a pas conduit à une baisse significative de l'incidence de mort pour causes cardiovasculaires à 180 jours ni à une baisse de la durée d'hospitalisation (125).

3.1.1.5 Tissus conjonctifs

3.1.1.5.1 Traitement de la sclérodermie

Les effets de la relaxine sur la synthèse et la rupture des fibres de collagène au niveau des tissus reproducteurs ont été les premiers effets biologiques décrits de la relaxine (1). Depuis, il est acté que la relaxine a plutôt des propriétés antifibrotiques et de nombreuses tentatives ont vu le jour pour utiliser ces propriétés à des fins thérapeutiques. Un des aspects innovants est le fait que les propriétés antifibrotiques de la molécule de la relaxine ne soient clairement visibles que dans des conditions pathologiques associées avec des dépôts excessifs et anarchiques de collagène avec une conservation de la structure des tissus conjonctifs endogènes (79). De nombreuses études ont cherché à utiliser la relaxine comme traitement contre la sclérodermie. Néanmoins, même si elle semblait être saine et bien tolérée dans les essais cliniques et même efficace chez certains patients en phase II d'essais cliniques (103),

elle a échoué à prouver une efficacité significative dans des essais de phase III de plus grande ampleur (126). Malgré ces découvertes décevantes, il reste clair que la relaxine a un rôle dans le contrôle du turnover du collagène. Chez des souris avec absence d'expression de la relaxine, il y a une augmentation progressive de la fibrose des tissus avec l'âge qui peut régresser dans les poumons (127), les reins (128) et le cœur (76) par administration de relaxine.

3.1.1.5.2 Traitement des tissus cicatriciels

Désormais, l'utilisation de la relaxine se porte de plus en plus vers les phénomènes de cicatrisation. Ceci pourrait impliquer les effets vasodilatateurs mentionnés plus haut mais aussi sa capacité à accélérer la synthèse de nouveaux vaisseaux sanguins en améliorant la production locale en VEGF (61). De plus, dans des modèles d'angiogenèse et de cicatrisation chez des rongeurs, la relaxine entraîne une augmentation de la vascularisation et de la néo-angiogenèse de sites de blessures ischémiques mais n'a aucun effet sur l'expression de cytokines dans les cellules des sites sains. Ceci serait expliqué par la présence de ses récepteurs notamment au niveau des macrophages recrutés majoritairement sur des sites atteints et peu présents dans des conditions physiologiques, indiquant une spécificité prometteuse pour des applications thérapeutiques (61).

Une première étude en 2009 (129) a utilisé de jeunes cochons dont la peau présente un modèle d'étude très proche de celle des humains. Douze incisions de 20mm de long pour 6 de profondeur furent réalisées sur le dos des animaux. Des solutions topiques à base de relaxine à la dose de 0, 0,5 ou 2,5 mg/mL furent appliquées deux fois par jour lors des deuxième et troisième semaines après incision et une fois par jour lors de la quatrième à la sixième. En plus, certains animaux ont reçu une injection sous-cutanée de relaxine à une dose de 125 μ g/kg/j. Des évaluations de la cicatrisation et de l'apparence cosmétique furent réalisées par un dermatologue. Les cicatrices des animaux recevant de la relaxine par voie sous-cutanée présentaient une amélioration de l'apparence visuelle avec moins de rougeur, une réduction du tissu granulomateux et moins d'inflammation. Elles avaient également une organisation collagénique bien plus structurée comparée aux cicatrices contrôle. Celles traitées par des formulations topiques ne montraient en revanche pas d'amélioration par

rapport aux contrôles. Les auteurs pensent donc qu'une formulation topique avec une meilleure pénétration et une durée de vie plus longue devrait être cherchée.



Figure 22 : Apparence des cicatrices à 6 semaines chez des cochons avec injection sous-cutanée de relaxine en haut contre les contrôles en bas (129).

Une étude plus récente de 2019 (130) compare également l'évolution de cicatrices sur des cochons mais avec un moyen d'injection de relaxine très novateur. Quatre cochons ont reçu une ablation de peau de $3 \times 3\text{cm}^2$ à 36 endroits différents chacun sur leur dos. A 50 jours post-ablation, chaque cicatrice a reçu respectivement une injection unique de, soit :

- * Un gel d'alginate simple (groupe 1) ;
- * Un gel d'alginate comprenant des adénovirus vecteurs codant pour la relaxine-2 (groupe 2) ;
- * Un gel d'alginate comprenant des adénovirus vecteurs ne codant pas la relaxine (groupe 3).

Après analyse réalisée 50 jours post-injection, voilà ce que les auteurs concluent :

- * L'expression de relaxine visualisée par immunofluorescence au niveau des cicatrices du groupe 2 est bien plus importante qu'au niveau des groupes 1 et 3 validant l'efficacité de la méthode d'injection par des adénovirus vecteurs ;
- * Les cicatrices du groupe 2 présentent une taille, une couleur et une pliabilité significativement meilleures que celles des groupes 1 et 3 ;
- * La matrice collagénique est significativement mieux organisée dans le groupe 2 que dans les deux autres ;

- * L'expression de MMP-1 est 7 fois plus importante dans le groupe 2 que dans les deux autres et l'expression de TIMP-1 est deux fois moins importante dans le groupe 2, corroborant l'effet de la relaxine au niveau cellulaire expliqué dans la première partie. On retrouve également une baisse de TGF- β 1 dans le groupe 2.

La relaxine entraîne donc une augmentation des facteurs de destruction collagénique.

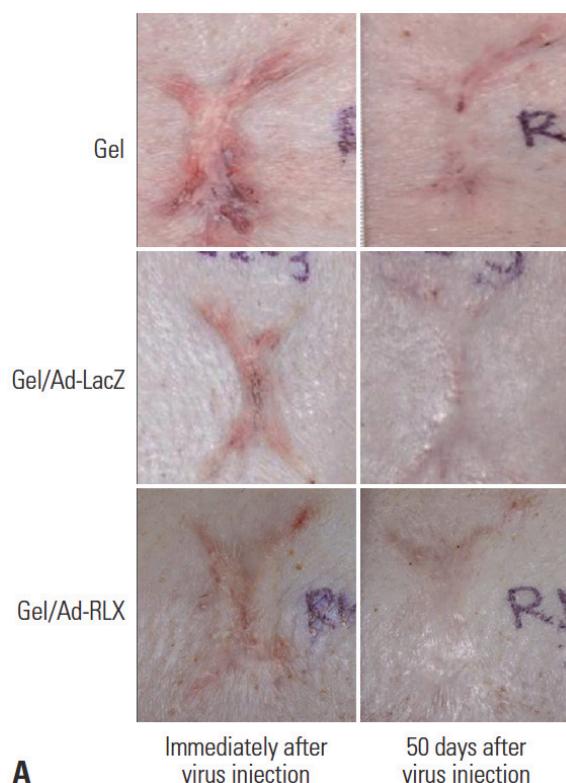


Figure 23 : Aspect des cicatrices 50 jours après injection des différents gels (130).

3.1.1.6 Cancers

La relaxine semblerait être recrutée dans de nombreux types de cellules cancéreuses comme un facteur endogène pour le remodelage tissulaire. En particulier, la relaxine est associée à la progression du cancer de la prostate. En effet, on détecte une augmentation d'expression de relaxine-2, mais pas de RXFP1, son récepteur, dans les carcinomes de la prostate et les lignées cellulaires cancéreuses de la prostate (131). De plus, une régulation négative que ce soit de la relaxine ou de son récepteur entraîne une inhibition significative de la croissance et de la capacité d'invasion ainsi qu'une augmentation d'apoptose des cellules cancéreuses de la prostate chez les rongeurs. Mais encore, il a été montré qu'un antagoniste de RXFP1 injecté

dans un modèle de rongeur atteint d'un cancer prostatique humain bloquait complètement la progression de la tumeur (132). Par conséquent, les médicaments pouvant bloquer l'action de la relaxine dans les cancers de la prostate pourraient être utilisés pour bloquer l'accroissement de la tumeur.

De surcroît, la relaxine est associée à l'augmentation d'invasivité des carcinomes de l'endomètre (133), du sein (134) et de la thyroïde (135).

3.1.2 INSL3 et RXFP2

3.1.2.1 Reproduction chez l'homme

Les études que ce soit in vivo ou in vitro ont démontré que le système INSL3-RXFP2 dans les structures urogénitales mâles est essentiel pour le développement du gubernaculum testis, cordon musculaire qui relie le testicule en position intra-abdominale à la paroi abdominale de la région génitale, et pour l'induction de la contraction de celui-ci qui entraîne la descente des testicules dans le scrotum.

Néanmoins INSL3 seule n'est pas suffisante pour une descente normale des testicules, des androgènes sont également nécessaires.

La cryptorchidie serait alors due à un défaut de la relation INSL3-RXFP2. Il a longtemps été pensé que ce défaut pourrait provenir de mutations au niveau de INSL3 ou de RXFP2. Mais en réalité les causes seraient plutôt environnementales, étant donné la fréquence élevée de cryptorchidie (1 à 4% des naissances) et le faible nombre de mutations connues rendant ces deux protéines inactives (13).

3.1.2.2 Reproduction chez la femme

INSL3 est produite dans les ovaires de tous les mammifères et particulièrement dans les cellules thécales du follicule. Elle aurait un rôle anti-apoptotique au niveau des follicules et éviterait leur dégénérescence rapide. De plus l'expression d'INSL3 semble corrélée avec le stade de maturation folliculaire (13).

3.1.2.3 Neurophysiologie

L'expression de RXFP2 a été retrouvée dans le cerveau humain au niveau de noyaux du thalamus (7). Mais INSL3 n'a été retrouvée que dans le cerveau bovin au niveau de l'hypothalamus. Il reste à déterminer si INSL3 a les capacités de passer la barrière hémato-encéphalique pour aller activer RXFP2.

3.1.2.4 Autres tissus

Les niveaux en INSL3 varient au cours de la vie et souvent en miroir par rapport à la testostérone qui est également produite par les cellules de Leydig.

RXFP2 est présent au niveau des ostéoblastes. Des souris chez qui l'expression de RXFP2 a été bloquée présentent un défaut de masse osseuse, ce qui laisserait penser qu'INSL3 pourrait avoir un rôle endocrine dans la physiologie osseuse (57).

INSL3 est également retrouvée au niveau de tumeurs à la thyroïde et à la prostate. Les cellules cancéreuses thyroïdiennes exprimant INSL3 présentent une augmentation de la mobilité et de la formation de colonies *in vitro* (13).

On retrouve enfin ces deux protéines au niveau des reins du rat au moment de leur formation. Leur expression décroît fortement à la naissance et n'est presque plus détectable à l'âge adulte. INSL3 et RXFP2 pourraient donc influer sur la formation et la maturation des glomérules rénaux (136).

3.1.3 Relaxine-3 et RXFP3

3.1.3.1 Stress

La relaxine-3 pourrait interagir avec la corticotropin releasing factor (CRF) au niveau du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN). La CRF est relâchée par le PVN en réponse au stress. RXFP3 est très exprimé au niveau de ce noyau et une activation des neurones par CRF chez le rat entraîne une modification de concentration en relaxine-3 qui pourrait laisser penser que la relaxine-3 joue un rôle dans la modulation de la réponse au stress (137). Ces

études ont donc montré l'influence de la CRF et du stress sur la relaxine-3 mais il reste maintenant à déterminer si la relaxine-3 influence en retour le système de la CRF.

3.1.3.2 Alimentation et métabolisme

L'administration de relaxine-3 directement dans le cerveau, au niveau des ventricules de rats, que ce soit en pleine lumière ou dans l'obscurité, augmente transitoirement mais significativement la prise de nourriture (138). De plus, l'administration de relaxine-2 n'a eu aucun effet, ce qui pousse à penser que cet effet proviendrait spécifiquement de RXFP3. Néanmoins, l'injection chronique de relaxine-3 n'a pas entraîné d'augmentation de poids (139). D'un autre côté, l'absence chronique de relaxine-3 n'entraîne pas de perte de poids. D'autres systèmes doivent prendre le relais pour continuer la stimulation de prise de nourriture ou la relaxine-3 n'aurait qu'une action ponctuelle.

3.1.3.3 Contrôle de l'homéostase

L'administration de relaxine-3 dans le ventricule latéral de rats les pousse à boire. Ceci certainement par action de la molécule sur RXFP1 dans l'organe subfornical (140). Alors qu'il existe des preuves d'interactions entre la relaxine-3 et RXFP1 à la fois *in vivo* et *in vitro*, rien ne prouve que cela survient physiologiquement ou que la relaxine-3 peut agir sur RXFP3 au niveau des organes circumventriculaires. Cette action de relaxine-3 sur la soif est donc inexpliquée.

3.1.4 INSL5 et RXFP4

A part leur localisation dans le colon, on ne sait que très peu de choses sur les rôles physiologiques de ces deux protéines.

3.2 Applications aux domaines dentaire et orthodontique

Un traitement orthodontique consiste en un réarrangement des tissus squelettiques ou dentaires, ainsi qu'un aménagement harmonieux des tissus mous. Ces objectifs sont facilités par la présence d'un vaste réseau de sutures et de tissus mous au sein du complexe oro-facial : les sutures faciales et crâniennes, le ligament parodental et la gencive. Malheureusement, quand bien même ceux-ci permettraient certains mouvements dentaires voire squelettiques, ils sont également responsables de récidives, une fois les désordres corrigés. Le mouvement et la récidive requièrent tous deux un remodelage de ces systèmes tissulaires. De même, certaines de nos thérapeutiques peuvent nous amener à être confrontés à des tissus cicatriciels anarchiques empêchant une contention adéquate et entraînant des désordres esthétiques. Dans ces cas précis, nous recherchons également un remodelage des tissus en présence (141).

Nous allons désormais chercher à démontrer le potentiel que pourrait avoir la relaxine dans le remodelage des tissus mous et squelettiques et le bénéfice que l'on pourrait en tirer dans différentes situations cliniques rencontrées dans l'exercice orthodontique.

3.2.1 Relaxine et remodelage des tissus mous de la sphère oro-faciale

3.2.1.1 Données actuelles

Nous avons vu dans notre première partie que la relaxine agit sur la matrice extracellulaire de plusieurs manières. Tout d'abord, en inhibant la différenciation des fibroblastes via une voie de signalisation dépendant de NO, qui a la capacité de bloquer Smad2. Mais également en stimulant la production de métalloprotéases, tout en diminuant l'expression de leurs inhibiteurs tissulaires (les TIMs), qui peuvent dégrader la matrice extracellulaire composée de collagène types 1 et 3 ou de fibronectine au niveau du derme (13).

La relaxine pourrait donc avoir les capacités d'être cet agent tant recherché permettant de dégrader la matrice extracellulaire et ainsi faciliter les déplacements squelettiques et dentaires et/ou éviter les récidives. Néanmoins, chaque lignée cellulaire peut répondre de manière différente à des stimuli en fonction de sa localisation dans le corps humain. Il est donc désormais intéressant d'étudier de manière plus précise les recherches effectuées concernant l'effet de la relaxine sur les tissus mous composant la sphère oro-faciale.

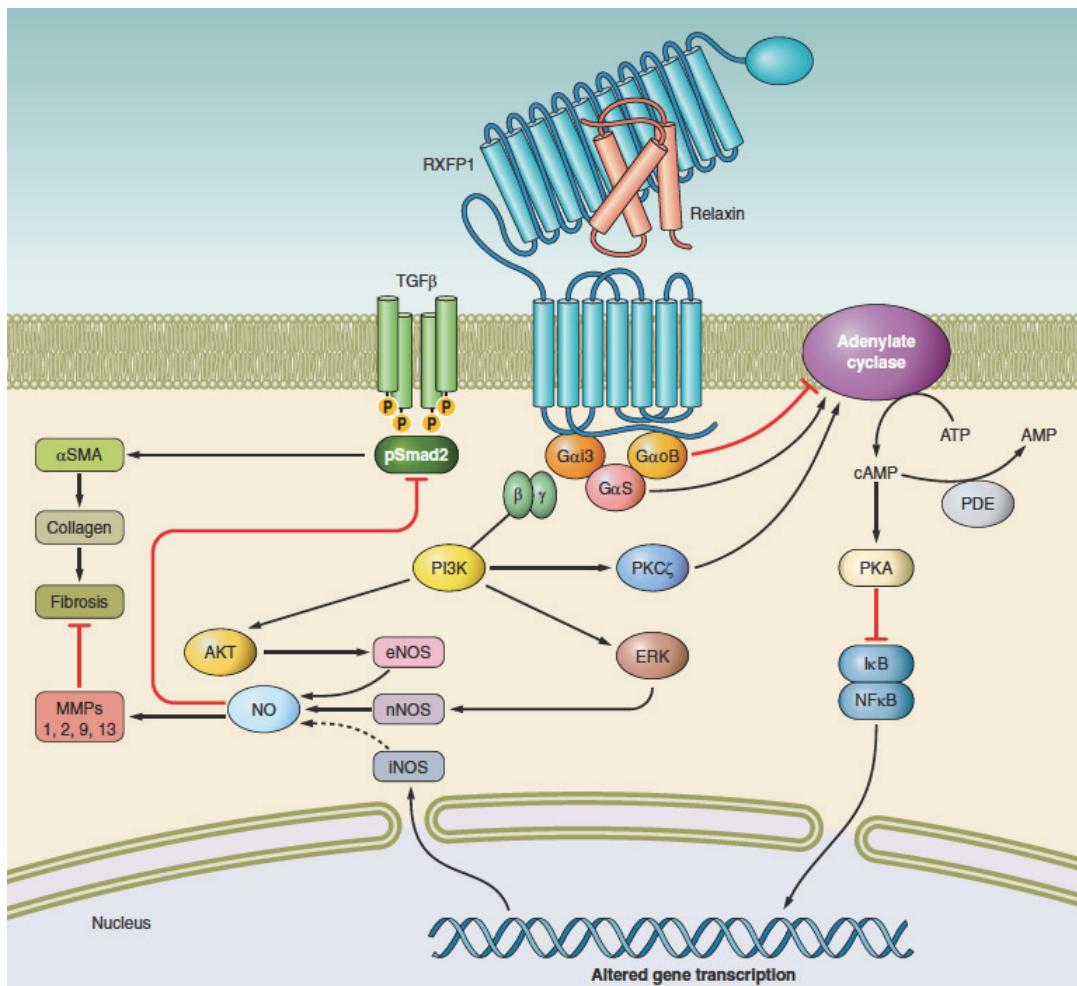


Figure 24 : Résumé des voies de signalisation cellulaires activées par la relaxine dans un fibroblaste (13).

En 2000, Nicozisis et al. (141), après une étude sur des souris, remarquent, par immunohistochimie, la présence de relaxine dans les sutures crâno-faciales sans administration au préalable de l'hormone. Il va ensuite plus loin en comparant des coupes au niveau du ligament parodontal de souris avec trois groupes distincts. Certaines de ces coupes sont plongées dans une solution témoin, d'autres dans une solution contenant 250ng/ml de relaxine et les dernières dans 500ng/ml. Il apparaît clairement que les fibres parodontales des coupes plongées dans une solution avec relaxine sont complètement désorganisées avec une perte d'arrangement et une dissolution des fibres de Sharpey. L'auteur estime alors que les potentielles applications cliniques de la relaxine pourraient être:

- * L'amélioration de l'adaptation suturale après une expansion chez un patient en croissance ou non ;

- * Le renforcement du mouvement dentaire puis sa stabilité par réorganisation des fibres du ligament parodontal ;
- * La diminution de la formation de tissus cicatriciels après frénectomie ;
- * L'aide au mouvement d'une dent partiellement ankylosée après qu'une luxation est réalisée ;
- * L'amélioration du remodelage gingival après fermetures d'espaces.

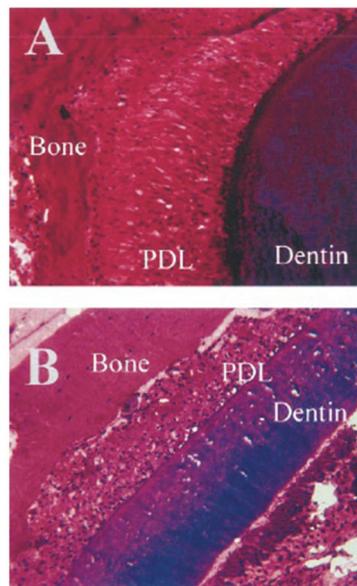


Figure 25 : Coupes de ligament parodontal de souris (x200), contrôle (A) et après traitement par solution de relaxine à 500ng/ml (B).

- (A) Bonne organisation de ligament parodontal avec des fibres perpendiculaires denses.
 (B) Organisation anarchique des fibres parodontales plus courtes et recourbées avec dissolution des fibres de Sharpey (141).

Dès lors, de nombreuses études ont vu le jour, surtout pour tenter de confirmer l'efficacité de la relaxine dans l'accélération des mouvements dentaires et la diminution de la récidive.

La première date de 2005, où Stewart et al. (142) ont cherché à comparer la quantité de récidive d'une rotation de seconde incisive créée par un dispositif chez 32 beagles âgés de 1 an. Quatre groupes furent constitués de huit chiens chacun. Un dispositif orthodontique fut posé sur tous les chiens pour réaliser la rotation de l'incisive à J0. A J60, l'appareil fut déposé et une contention mise en place. A J95, la contention fut déposée et pendant 14 jours, donc jusqu'à J110, un contrôle de la récidive fut établi dans les quatre différents groupes.

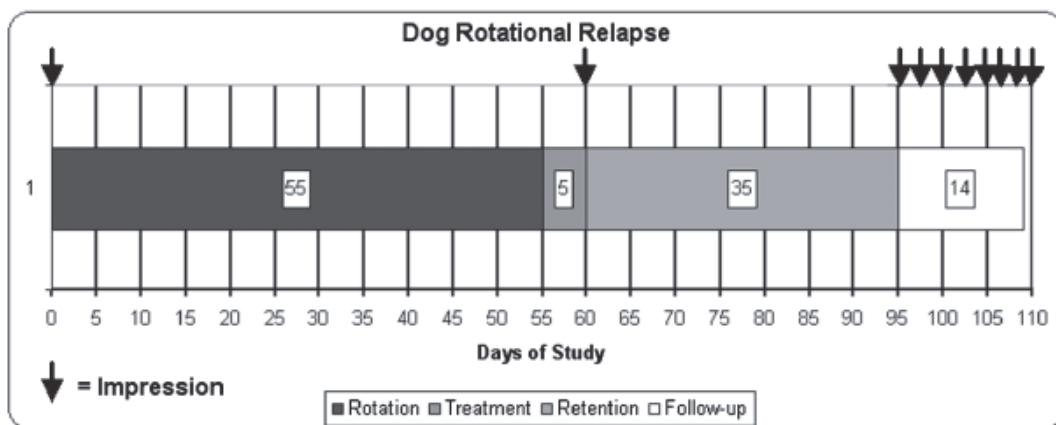


Figure 26 : Protocole d'étude de Stewart et al. (142).

Le protocole de traitement pour les 4 groupes était :

- * Pour le groupe 1 : à J55 et J60 des injections de placebo furent réalisées à quatre endroits différents autour de l'incisive ;
- * Pour le groupe 2 : à J60 une fibrotomie, le traitement de référence contre la récidive des rotations, est réalisée autour de l'incisive ;
- * Pour le groupe 3 : une minipompe injectant de la relaxine-2 humaine à 5,3µg/kg/h en systémique de J35 à J60 fut implantée. De plus, deux injections à J55 et J60 de 500µg de relaxine-2 humaine toujours, furent réalisées à quatre endroits différents autour de l'incisive, donc 1mg de relaxine au total fut injecté en local ;
- * Pour le groupe 4 : seules deux injections de relaxine-2 humaine furent réalisées à J55 et J60 de 500µ à quatre endroits différents autour de l'incisive, donc les animaux reçurent chacun 1mg de relaxine au total en local.

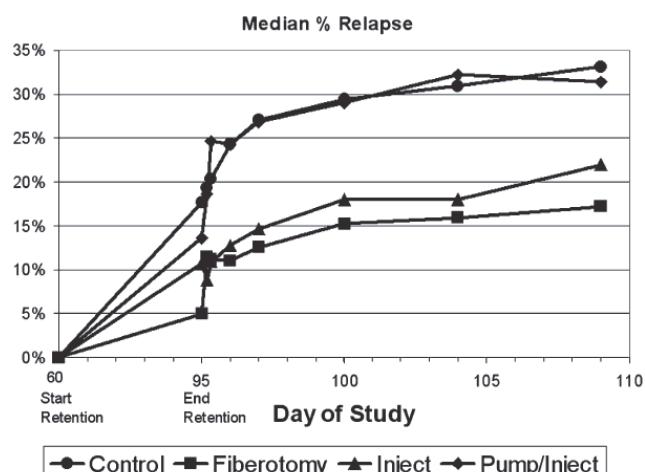


Figure 27 : Pourcentage moyen de récidive en fonction des différents groupes d'étude (142).

Une rotation moyenne de 42,5 degrés fut obtenue chez les 32 chiens. Le groupe contrôle présenta 32,6% de récidive à J110, 18,1% pour le groupe fibrotomie ce qui était significativement inférieur au groupe contrôle ($p<0,05$). Pour le groupe 3, la récidive était très proche du groupe contrôle et d'environ 22% pour le groupe 4, ce qui était prometteur mais pas suffisamment pour être significativement différent du groupe contrôle.

Néanmoins, les groupes 3 et 4 contenaient, d'après les auteurs, des valeurs aberrantes qui une fois retirées confirmaient les résultats pour le groupe 3 mais rendaient ceux du groupe 4 significativement différents du groupe contrôle.

Les auteurs expliquent que des anticorps anti-relaxine-2 furent retrouvés chez 7 des 8 chiens à J37 et chez les 8 chiens à J54 dans le groupe 3. En effet, la relaxine-2 humaine ne possède que 47% d'homologie à la relaxine-1 du chien, ce qui pourrait expliquer cette production d'anticorps et donc les résultats du groupe 3 qui recevaient de la relaxine de manière systémique.

Les auteurs montrent enfin dans cette étude la présence de récepteurs à relaxine sur des cellules fibroblastiques de culture de chien. Leur activation implique une augmentation de concentration en cAMP au sein de ces cellules.

Toujours en 2005, Liu et al. (143) tentèrent de montrer l'effet de l'administration de relaxine sur l'accélération du mouvement dentaire chez les rats. 31 rats de 45 jours furent inclus dans trois groupes distincts :

- * Groupe contrôle (C) : 10 rats reçurent une minipompe injectant du placébo par voie systémique ;
- * Groupe P : 12 rats reçurent une minipompe injectant de la relaxine-2 humaine par voie systémique à une dose de 5,3 μ g/kg/h à partir de J0 ;
- * Groupe I : 9 rats reçurent des injections sous-cutanées de relaxine-2 humaine, une le matin et une le soir à J0 et J7, donc quatre injections au total à 1,43 μ g/kg par injection. Néanmoins contrairement à Stewart, les auteurs ne précisent pas où les injections sous cutanées ont été réalisées.

Ces 31 rats se virent équipés à J0 de deux ressorts orthodontiques développant une force de 40g par côté et visant à mésialer les premières molaires droite et gauche en utilisant les 4 incisives solidarisées comme ancrage.

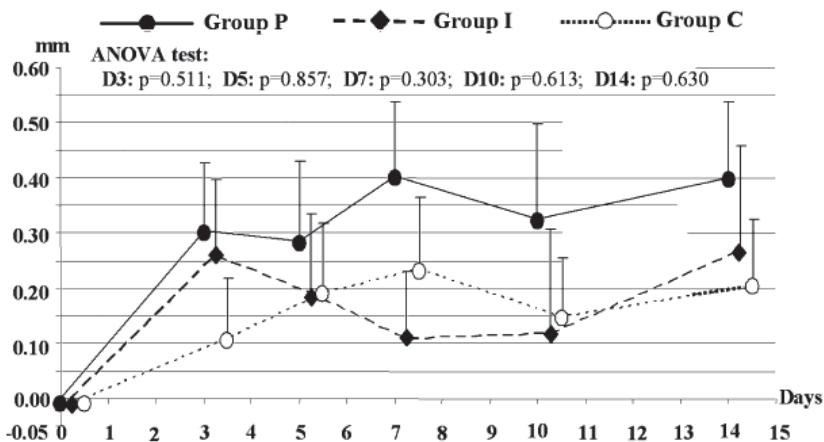


Figure 28 : Comparaison en fonction du temps des distances d'avancée sagittale parmi les trois groupes d'étude (143).

Les résultats montrent clairement que le groupe ayant reçu des injections systémiques au cours des 14 jours d'activation présente une accélération linéaire et constante de l'avancée de la première molaire au niveau antéro-postérieur suivant le rythme du groupe contrôle. Au contraire, le groupe ayant reçu des injections sous-cutanées présente une accélération du mouvement au cours des trois premiers jours avant de retrouver un rythme similaire au groupe contrôle.

Les auteurs expliquent que la différence de vitesse d'avancée de la M1 au niveau des groupes ayant reçu de la relaxine n'est pas significativement différente de celle du groupe témoin sans toutefois préciser si les tests ont été réalisés en prenant la moyenne de vitesse d'avancée de M1 des groupes P et I comparée au groupe C.

Les auteurs ont également calculé le diastème s'étant ouvert entre M1 et M2. La moyenne du diastème entre le groupe P et I est significativement plus importante que celle du groupe C. Ils concluent donc que la relaxine peut accélérer les stades précoce de déplacement dentaire et augmenter l'amplitude des mouvements dentaires chez le rat.

Ce qui est intéressant dans cette étude est la viabilité de l'injection systémique et l'efficacité que cela a eu dans l'accélération. D'après leurs résultats, elle a permis de doubler la vitesse de déplacement du groupe P par rapport au contrôle. Cela va à l'encontre des résultats de l'étude de Stewart et al. sur les chiens alors que la relaxine-2 humaine ne présente que 46% d'homogénéité avec la relaxine-1 du rat, ce qui est proche des 47% avec celle du chien. Néanmoins, l'étude ayant duré 14 jours, on peut penser que l'organisme n'a pas eu le temps de produire des anti-corps anti-relaxine-2 humaine chez le rat, l'étude de Stewart ayant duré plus longtemps et les traces de ces anti-corps étant apparues après 11 jours chez les chiens.

Néanmoins, une étude menée en 2007 par Madan et al. (144) donna des résultats contradictoires. Cent vingt rats furent inclus dans deux groupes distincts après application d'un dispositif orthodontique semblable à celui mis en place par Liu et al., c'est à dire deux ressorts devant mésialer les premières molaires avec des forces de 40g en utilisant l'ancrage antérieur des 4 incisives solidarisées. Vingt-quatre rats furent exclus pour des causes de décès suite à l'anesthésie et de la mise en place du dispositif orthodontique ou par perte de documents initiaux comme des radios. Donc, 96 rats furent inclus dans deux groupes distincts recevant chacun une minipompe placée au niveau du dos de l'animal en postérieur de la scapula. A J0, le dispositif ainsi que la minipompe sont mis en place. Les deux groupes formés sont donc :

- * Pour 45 rats, la minipompe délivrait un placebo ;
- * Pour 51 rats, la minipompe délivrait de la relaxine-2 humaine à 5,3 μ g/kg/h.

Environ une dizaine de rats furent tués dans chaque groupe à J2, J4, J7 et J9 et l'avancée des M1 évaluée. Les auteurs n'ont alors trouvé aucune différence de vitesse de déplacement quel que soit le moment entre les rats des deux groupes. Ils ont cependant trouvé que la mobilité des M1 était nettement plus importante à J1 et légèrement plus à J3 dans le groupe avec relaxine que le contrôle. Ce qui s'explique par la destruction plus rapide des fibres du ligament parodontal lorsque la relaxine est présente et donc une mise en œuvre du mouvement plus rapide.

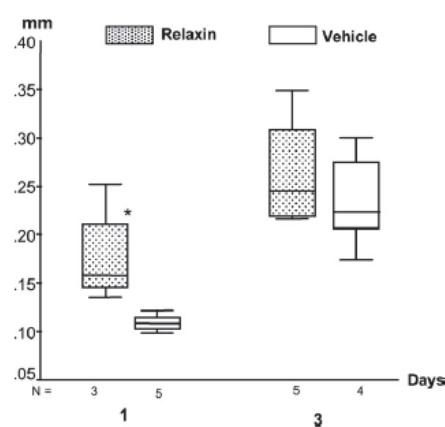


Figure 29 : Diagramme en boîtes mettant en évidence la nette augmentation de la mobilité des M1 des rats ayant reçu de la relaxine en systémique par rapport au contrôle à J1, et l'atténuation de cette différence à J3 (144).

Ils concluent donc en avertissant sur les limites de l'utilisation de la relaxine pour l'accélération du mouvement dentaire tout en poussant les recherches à se concentrer sur la diminution de la récidive qui correspondrait davantage aux propriétés de la relaxine.

En 2009, Henneman et al. (145) vont dans le même sens en étudiant *in vitro* des cellules desmodontales humaines incubées dans un milieu contenant de la relaxine à des concentrations allant de 0,5 à 500ng/ml. Ils observent que l'activité de MMP-2, une métalloprotéase connue pour dégrader la gélatine type 1 et le collagène type IV, V, VII et X, n'est pas augmentée, quelle que soit la concentration de relaxine dans le milieu d'incubation des cellules. Ils concluent eux aussi qu'il paraît douteux que la relaxine puisse stimuler un remodelage tissulaire pendant le mouvement dentaire.

Cependant, Lorimier et al. indiquent dans un article de 2012 (146) que la partie extracellulaire du desmodonte est composée à 80% de collagène I, de 15% de collagène III et de simples petites quantités de collagène IV, V, VI et VII. De plus, ces auteurs précisent que la dégradation de collagène dans le tissu desmodontal peut s'effectuer de plusieurs manières mais que la principale est via la production de MMP-1 ensuite relâchées par les fibroblastes dans la matrice extracellulaire. Ces MMP-1 dégradent à la fois les fibres de collagène type I et III. Il paraît donc beaucoup plus intéressant d'étudier l'effet de la relaxine sur la production de MMP-1 par les cellules desmodontales.

C'est donc ce à quoi Takano et al. s'attèlent en 2009 (147) en réalisant eux aussi une étude histologique *in vitro* sur des cellules desmodontales humaines mises en tension. Ils expliquent, tout d'abord, l'importance du contrôle de la balance collagène type I - MMP-1 en condition pathologique. En cas de surexpression collagénique, la cicatrisation obtenue est de type chéloïde. Mais si la surexpression est du côté des MMP, on obtient des lésions ulcérvatrices. L'expérience visait donc à comparer la production de collagène type I et de MMP-1 par ces cellules desmodontales humaines mises en tension (à 5 ou 10%) pour simuler des conditions de récidive orthodontique en milieu contrôle, ou contenant de la relaxine-2 humaine à une concentration de 100ng/ml (ce qui correspond à une administration systémique d'environ 4µg/kg/h).

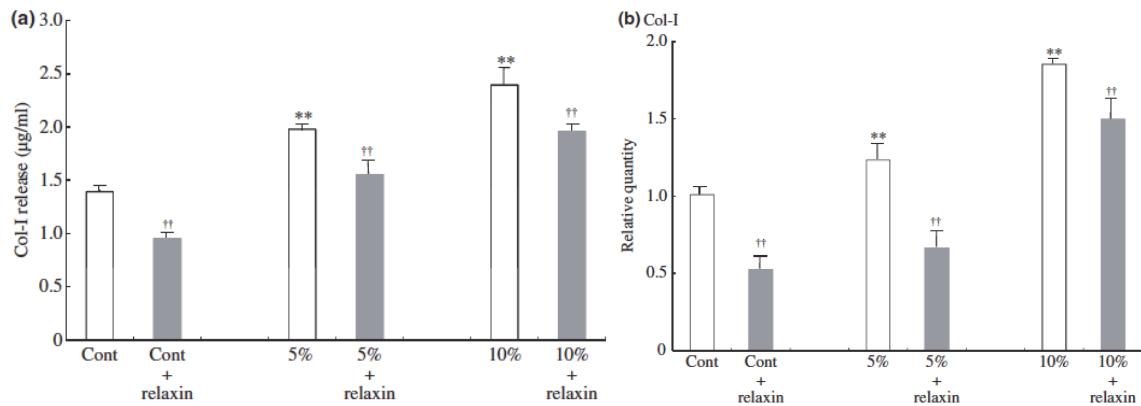


Figure 30 : (a) Quantité de collagène I relâchée dans la matrice extracellulaire en fonction de la quantité de traction (0, 5 ou 10%) et du milieu de culture (Contrôle ou 100ng/ml de relaxine-2 humaine) en 48h.
(b) Quantité d'expression du gène codant pour du collagène I en fonction des mêmes paramètres que pour a).
(147)

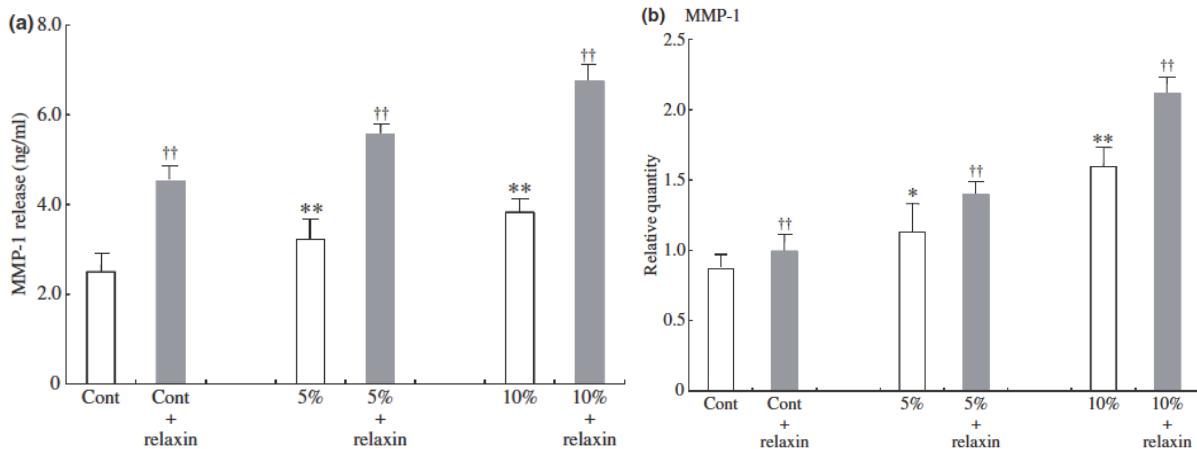


Figure 31 : (a) Quantité de MMP-1 relâchée dans la matrice extracellulaire en fonction de la quantité de traction (0, 5 ou 10%) et du milieu de culture (Contrôle ou 100ng/ml de relaxine-2 humaine) en 48h.
(b) Quantité d'expression du gène codant pour la MMP-1 en fonction des mêmes paramètres que pour a).
(147).

Les résultats démontrent que l'exposition des cellules desmodontales dans un milieu contenant 100ng/ml de relaxine-2 humaine entraîne à la fois :

- * Une diminution significative du relargage et de l'expression du gène de collagène type 1 quelle que soit la traction appliquée aux cellules ;
- * Une augmentation significative du relargage et de l'expression du gène de MMP-1 quelle que soit la traction appliquée aux cellules.

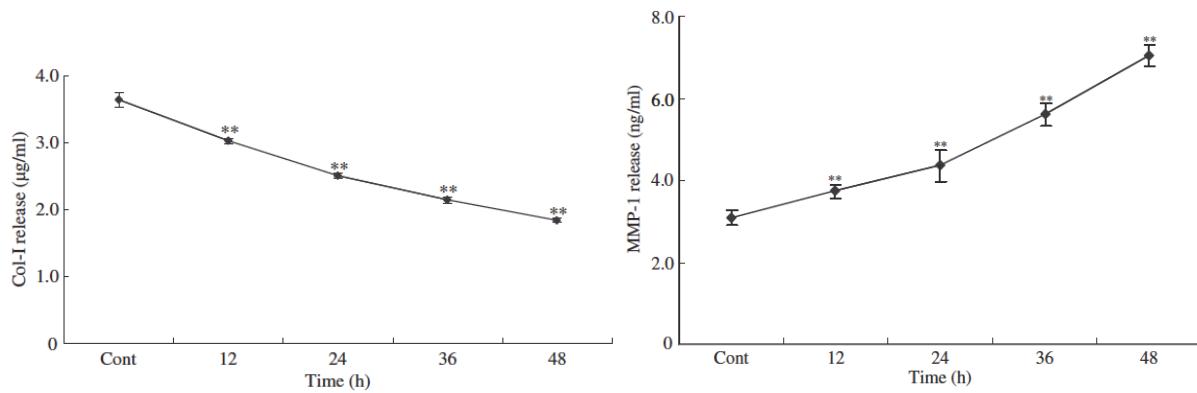


Figure 32 : Évolution de la quantité de collagène I et MMP-1 relâchés par les cellules desmodontales humaines dans un milieu contenant une concentration de 100ng/ml en fonction du temps (147).

De plus, cette diminution de production de collagène I et cette augmentation pour les MMP-1 s'amplifient avec le temps.

Les auteurs concluent donc que la relaxine pourrait avoir un effet très bénéfique dans l'inhibition de récidive orthodontique confirmant les résultats de Stewart et al (142).

En 2011 maintenant, une nouvelle étude sur les rats menée par Hirate et al. (148) visait elle aussi à comparer la quantité de récidive obtenue après avancée de la première molaire.

Seize rats avec un poids moyen de 180g furent équipés de matériel orthodontique permettant de mésialer la première molaire en utilisant l'ancre des incisives antérieures par un ressort délivrant une force de 10g pendant 14 jours. A J14, les dispositifs orthodontiques furent retirés et les rats divisés aléatoirement en deux groupes :

- * Huit rats reçurent de J14 à J21 des injections de placebo autour de la M1 ;
- * Huit autres rats reçurent quatre injections de relaxine (mésial, distal, palatin, vestibulaire) à J14-17-19-21. Chaque injection représentait 15µl d'une solution de relaxine dosée à 500ng/ml. Chaque rat reçut ainsi 0,240ml de cette solution en 7 jours et donc une dose d'environ 95ng/j/kg compte tenu du poids des rats.

La réévaluation de la récidive était effectuée à J21.

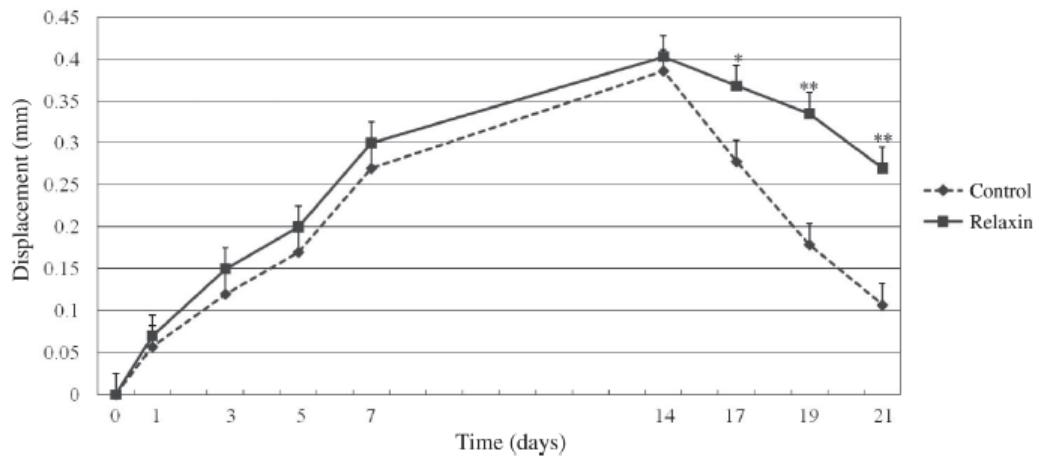


Figure 33 : Évaluation de la quantité de déplacement de la M1 des 16 rats puis de la récidive en fonction de l'injection de placébo ou de solution à base de relaxine (148).

Les molaires ont eu une avancée moyenne de 0,40mm +/- 0,07 comparable entre les groupes relaxine et contrôle à J14. A J21, le groupe contrôle exprimait une récidive de 68,1% pour 33% pour le groupe relaxine ce qui était significativement supérieur ($p<0,01$).

Enfin, en 2012 un premier essai clinique randomisé fut réalisé sur des humains par McGorray et al. (149). Trente-neuf patients furent inclus pour la correction d'une position antéro-postérieure d'une incisive centrale sans mouvement sur les autres dents par 4 gouttières, la première étant donnée à J0, la deuxième J14, la troisième J28 et la quatrième J42. A la huitième semaine le traitement était arrêté sans contention et la récidive était évaluée. Les gouttières avaient un jeu de 0,5mm chacune au niveau de l'incisive devant se déplacer. Les groupes étaient ainsi composés :

- * Dix-neuf personnes dans le groupe contrôle reçurent deux injections de placébo à deux endroits différents autour de la dent une fois par semaine pendant les huit semaines de traitement ;
- * Vingt personnes dans le groupe relaxine reçurent deux injections de relaxine-2 humaine en sous gingival autour de la dent cible une fois par semaine pendant les 8 semaines de traitement. Chaque semaine 50µg de relaxine-2 étaient donc injectés autour de la dent, donc 400µg furent injectés en tout sur une durée de 56 jours. Le poids moyen des inclus n'est pas donné dans l'étude mais en prenant une moyenne de 70kg par personne la dose ingérée fut donc d'environ 125ng/kg/j.

Il est donc à noter qu'aucune injection ne fut réalisée pendant la phase d'analyse de récidive qui a duré 4 semaines.

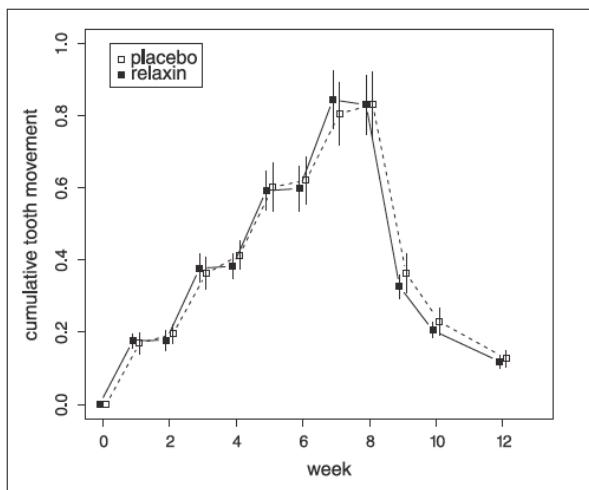


Figure 34 : Évaluation de la quantité cumulée de mouvement de l'incisive au cours du temps en fonction d'injection de placébo ou de relaxine. La phase active du traitement par gouttières eût lieu des semaines 0 à 8. La phase d'étude de la récidive dura quatre semaines (149).

Les résultats montrent que l'injection locale de relaxine autour de la dent cible n'a aucun impact sur la vitesse de déplacement de l'incisive.

Ce qu'il est intéressant de noter au niveau de l'interprétation des résultats est la manière dont s'est déplacée la dent cible quel que soit le temps ou le groupe auquel elle appartenait. Le mouvement se produit toujours au cours de la première semaine puis s'arrête la deuxième avant de se relancer au moment du passage à la gouttière suivante. L'utilisation des gouttières comme moyen orthodontique pour réaliser cette étude est clairement discutable étant donné le fort biais lié au port mais surtout à la discontinuité des forces exercées sur la dent, étant très forte au premier port puis diminuant au fur et à mesure des jours jusqu'à finalement être nulle ou insuffisante pour dépasser la résistance physiologique au déplacement à 1 semaine. Les auteurs tentent dans l'article d'expliquer qu'ils ont laissé un jeu de 0,5mm pour permettre plus de déplacement de la dent. Il n'empêche que la force de poussée dépend de la face plastique au contact de la dent et d'elle seule. Le jeu laissé par la face opposée n'a que peu d'importance si la force appliquée n'augmente pas.

De plus, la dose de relaxine injectée étant de 125ng/kg/j, elle est loin des 30µg/kg/j, la dose identifiée comme sûre dans les essais cliniques réalisés pour le traitement des insuffisances cardiaques (91).

Enfin, d'après leur expérience, l'injection de relaxine ne change rien non plus à la quantité de récidive après traitement. Mais encore une fois les auteurs précisent dans l'article que 8 injections furent réalisées sans donner la première date d'injection : était-ce à J0 ou J7 ? Cela a toute son importance. Dans les études précédentes, il est clair que la relaxine injectée a son effet maximal à environ 48h post-injection. Donc si la première injection a eu lieu à J0, au début de la huitième semaine la dent n'aurait eu aucun contact avec le peptide depuis 7j, ce qui pourrait expliquer pourquoi les injections n'ont eu aucun effet sur la récidive.

Cette étude est à haut niveau de preuve en ce qui concerne la méthodologie mais le protocole d'étude laisse quant à lui à désirer. Une nouvelle étude avec un dispositif orthodontique différent et des doses d'injection plus importantes tout en les continuant pendant la phase de récidive aurait été nécessaire. C'est à l'heure actuelle la dernière étude menée chez les humains cherchant à prouver l'efficacité de l'injection de relaxine sur l'accélération des déplacements et la diminution de la récidive des traitements orthodontiques.

Articles	Sujets Testés	Effectif	Protocole	Dose relaxine ingérée	Paramètre étudié	Efficacité
<i>Stewart et al. 2005</i>	Chiens Beagles 1 an (poids moyen estimé 10kg)	32	2 Injections à 5 jours d'intervalle après activation avant éviction de la contention	Équivalent de 20µg/kg/j sur 5 jours en injection locale	Récidive orthodontique	22% de récidive contre 32,6% pour le contrôle et 18% pour le groupe fibrotomie
<i>Liu et al. 2005</i>	Rats (poids moyen estimé de 180g)	31	Mésialage des M1 pendant 14j avec injection systémique ou injection locale ou contrôle	Équivalent de : - 127µg/kg/j en systémique - 817ng/kg/j en local avec injections à J0 et J7	Accélération du mouvement des M1	Vitesse presque doublée au long des 14j en systémique, pas de différence en local
	Rats	96	Mésialage des M1 pendant 9j avec injection systémique contre placébo	Équivalent de 127µg/kg/j en systémique	Accélération du mouvement des M1	Aucune différence entre contrôle et relaxine mais mobilité M1 augmentée à J1 et J3
<i>Hirate et al. 2011</i>	Rats avec poids moyen de 180g	16	Mésialage des M1 pendant 14j puis évaluation récidive pendant 7j	Équivalent de 95ng/kg/j en local	Récidive orthodontique des M1 de J14 à J21 avec injections durant cette période	33% de récidive pour le groupe relaxine contre 68,1% pour le contrôle
<i>Mcgorray et al. 2012</i>	Humains	39	Avancée d'une incisive pendant 8 semaines avec traitement par gouttières puis récidive en 4 semaines	Équivalent de 125ng/kg/j en local	Accélération du traitement pendant 8 semaines avec des injections une fois par semaine puis récidive pendant 4 semaines sans injection	Aucune différence entre groupe contrôle et relaxine

Tableau 3 : Résumé de la revue de littérature visant à démontrer l'effet de la relaxine sur la récidive ou l'accélération des traitements d'orthodontie chez les humains ou les animaux.

Dans le tableau ci-dessus figurent les différents résultats des essais qui ont été menés. Ce que l'on peut conclure de manière certaine, c'est que la relaxine a bel et bien un effet sur les cellules desmodontales humaines en agissant sur la production et la destruction des collagènes type I et III dans la matrice extracellulaire via un certain nombre de phénomènes qui commencent à être bien décrits.

En ce qui concerne l'application à notre domaine orthodontique, il semblerait inutile d'utiliser cette hormone pour l'accélération des traitements. Une injection systémique semble avoir un coût bénéfice risque trop important, même s'il a été prouvé dans les études médicales que l'administration de 30 μ g/kg/j de relaxine-2 n'avait aucun effet indésirable. En effet, devoir mettre en place une minipompe sous cutanée pour gagner du temps sur un traitement d'orthodontie semble incohérent. Des injections locales paraissent plus évidentes à mettre en œuvre mais il semblerait que ces injections doivent être répétées régulièrement puisque l'effet de la relaxine est à son maximum à 48h, puis semble diminuer rapidement. Donc revoir un patient tous les 5 ou 6 jours pour réaliser des injections gingivales au niveau de toutes les dents devant être déplacées parait être un protocole totalement inadapté à notre pratique de cabinet.

En ce qui concerne la récidive, l'apport de la relaxine semble beaucoup plus intéressant et beaucoup plus simple à mettre en œuvre puisque des injections locales paraissent être efficaces sur des dents qui présentaient des fortes rotations initialement par exemple. Et ces dents étant en général en faible nombre dans nos traitements, les sites d'application seraient moins nombreux que dans le cas de l'accélération des traitements. Néanmoins, le coût de ces injections ainsi que l'explication et l'obtention de l'approbation du patient compromettent le nombre de situations où la relaxine pourrait être utilisée. Surtout que la réalisation d'une fibrotomie, qui en plus serait le gold standard des traitements visant à éviter la récidive, parait être un acte beaucoup plus simple à réaliser et moins couteux.

Néanmoins, la relaxine pourrait avoir d'autres applications au niveau des tissus mous dans notre domaine qui n'ont encore pas été testées, nous allons les étudier maintenant.

3.2.1.2 Perspectives

3.2.1.2.1 Éviction des cicatrices labiales concomitantes aux fentes labiales

Les fentes orofaciales représentent l'ensemble de malformations parmi les plus fréquentes et regroupent les fentes faciales, les fentes labiopalatines ainsi que les fentes vélopalatines. Elles peuvent être isolées, résultant d'une interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux, ou associées à d'autres malformations congénitales dans le contexte de syndromes génétiques ou tératogènes. La prévalence des fentes tous types confondus en France est de 2,1/1000 naissances. Celle qui nous intéresse dans cette partie, la labiale, survient dans 64% des cas et peut avoir une éventuelle participation palatine, ce qui représente 1,3/1000 naissances (150).

La fente labiale ou labiopalatine résulte d'un défaut de fusion total ou partiel du bourgeon maxillaire avec le bourgeon nasal interne. La fente peut être uni- ou bilatérale, et peut entraîner tout un spectre de formes cliniques différentes en fonction de l'étendue de la fente et du moment de défaut de fusion, allant de la simple encoche de la lèvre rouge jusqu'à la forme complète de fente labio-alvéolo-palatine.

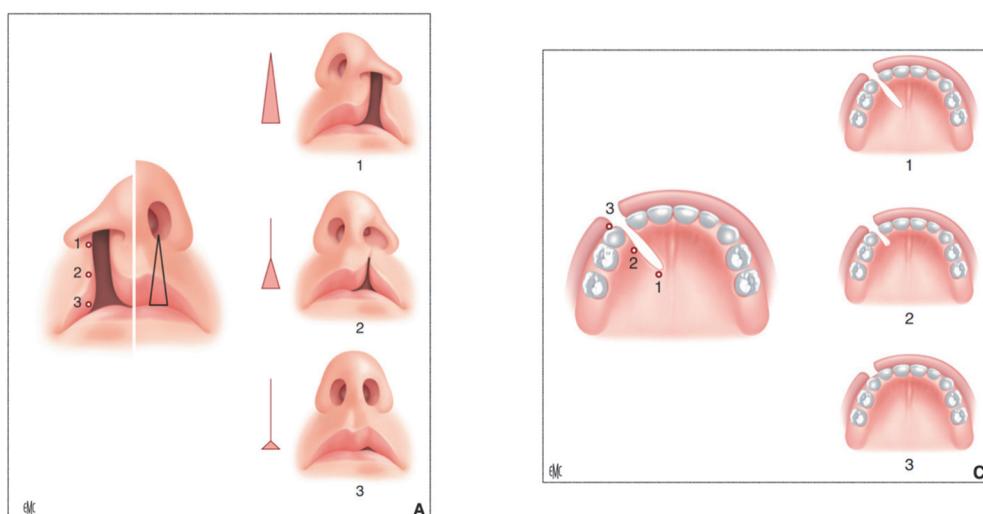


Figure 35 : Formes anatomocliniques des fentes unilatérales touchant la lèvre.
A : Fente labiale : 1 : Fente complète, 2 : Fente intéressant les lèvres blanche et rouge, 3 : Fente intéressant la lèvre rouge.
C : Fente alvéolaire : 1 : Fente labiopalatine, 2 : Fente labio-alvéolaire, 3 : Fente labiale (150).

Sans revenir en détail sur la chirurgie permettant la fermeture de la fente labiale, il est néanmoins intéressant de rappeler les différents protocoles existant ainsi que le calendrier opératoire pour identifier à quels moments la relaxine pourrait être utilisée.

En fonction des équipes, les protocoles de prise en charge diffèrent, sans qu'un protocole particulier n'ait montré de supériorité sur les résultats esthétiques à terme. Aucun consensus ne se dégage malgré de nombreuses années de congrès, de conférences, de publications et de statistiques (150). Le débat réside notamment sur l'attente pour la première intervention. Deux courants de pensée s'affrontent, le premier étant une intervention la plus précoce possible en néo-natal, le deuxième prône d'attendre le sixième mois. Cette dernière alternative est notamment vivement défendue par Talmant (151), nous développerons principalement celle-ci.

Une intervention très précoce permet de « contenter » les parents qui peuvent alors avoir l'impression d'avoir un enfant « normal » beaucoup plus rapidement. Néanmoins, d'après Talmant (151), cette fermeture précoce de la lèvre sans tenir compte du développement nasal constraint l'enfant à une respiration orale dès la naissance ce qui est contre nature puisque comme tous les nouveaux nés, il n'a pas suffisamment d'espace pour abaisser sa langue. D'après lui, toutes les fonctions doivent être rétablies le plus tôt possible, et surtout toute reconstruction d'un enfant porteur de fente doit être centrée autour de la bonne efficacité nasale qui est le moteur essentiel à la bonne croissance faciale. Le nez ne peut être opéré dès la naissance. Il faut attendre au moins 6 mois et la progression de l'ossification ainsi que l'arrivée des premières incisives pour que l'os résiste mieux à la compression. De plus, la possibilité de l'alimentation à la cuillère, la diminution du risque anesthésique et l'augmentation de la taille des éléments anatomiques sont autant d'éléments poussant à attendre cet âge-ci pour intervenir (152). A 6 mois, la fente labiale peut être fermée sans traction pathogène sur le nez qui peut être reconformé avec la cloison recentrée et la valve nasale rebasculée pour permettre la mise en place d'une ventilation nasale correcte.

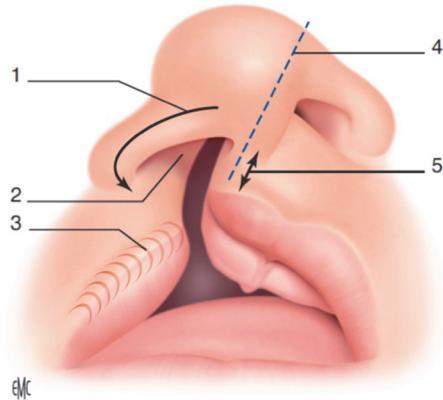


Figure 36 : Impact d'une fente labio-alvéolaire sur la forme nasale :
 1 : Défaut d'enroulement ;
 2 : Bascule de la valve nasale ;
 3 : Migration myocytaire : sphéroïde d'enroulement musculaire ;
 4 : Obliquité de la cloison ;
 5 : Brièveté de la position philtrale de la fente (150).

Il paraît donc sensé d'après les explications de Talmant (151) de procéder à la fermeture labiale à 6 mois. Ensuite, en ce qui concerne la technique chirurgicale à appliquer, son objectif repose sur la reconstitution d'une hauteur et d'une longueur de lèvre satisfaisantes. La néo-lèvre doit être symétrique par rapport au côté sain et avoir une bonne projection, en particulier au niveau de la jonction cutanéomuqueuse. Les seuils narinaires doivent être symétriques, et les groupes musculaires impliqués doivent retrouver leur place anatomique habituelle. Du point de vue fonctionnel, la chéiloplastie doit permettre d'aboutir à une occlusion labiale satisfaisante, une absence de troubles de croissance ainsi qu'une ventilation nasale correcte, liée à la restitution de la bonne position du septum et de la valve nasale.

Il est important d'obtenir lors de la reconstruction une ligne harmonieuse de jonction lèvre sèche - lèvre humide avec conservation des hauteurs respectives de part et d'autre de la fente.

Le résultat esthétique et fonctionnel d'une chéiloplastie dépend aussi de la qualité de la fermeture muqueuse : il est important de limiter les brides rétractiles muqueuses qui peuvent retentir sur l'aspect final de la lèvre. Cela implique donc des décollements muqueux éventuellement larges, permettant un glissement des lambeaux sans tension et une fermeture muqueuse respectant une profondeur vestibulaire suffisante. Les lambeaux muqueux de part et d'autre de la berge de la fente sont ainsi utilisés pour la reconstruction vestibulaire.

Il existe deux concepts principaux de chéiloplastie primaire, soit la crête philtrale est intacte avec une linéarité préservée (groupe des rotations/avancement type Millard), soit la ligne philtrale est interrompue par un Z (groupe des Tennison et apparentés) (153).

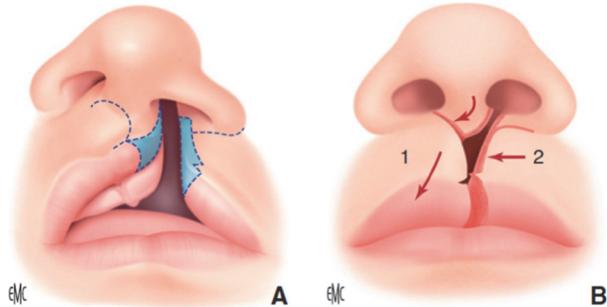


Figure 37 : Exemple d'un tracé chirurgical de fermeture d'une fente labiale unilatérale : tracé de Millard (150).

Voici par exemple le tracé de Millard, le plus utilisé pour les fentes labiales unilatérales, avec une préservation de la linéarité du philtrum. Néanmoins, l'inconvénient principal de ce tracé réside en la possible apparition d'une cicatrice rétractile verticale, avec une ascension de la lèvre rouge ou un abaissement de la base de l'alaire et d'une cicatrice horizontale rétractile pouvant entraîner une narine étroite (150).

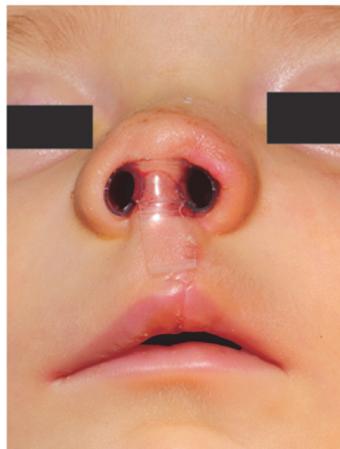


Figure 38 : Résultat à J6-7 d'une intervention sur un patient d'environ 6 mois porteur de fente labio-alvéolo-palatine unilatérale ayant suivi le protocole de Talmant avec chéilo-rhinoplastie primaire (151).

Résultat à J6-7 d'une intervention sur un patient d'environ 6 mois porteur de fente labio-alvéolo-palatine unilatérale ayant suivi le protocole de Talmant avec rhinoplastie primaire et chirurgie de fermeture labiale. Au 6^{ème} ou 7^{ème} jour post-opératoire, le patient subit une nouvelle anesthésie générale. Les attelles de silicone sont alors enlevées et remplacées par un conformateur narinaire amovible, souple, en silicone de 0,5mm d'épaisseur, et calibrant symétriquement les narines. Il est stabilisé par une languette labiale qui recouvre la suture

labiale et contrôle son évolution cicatricielle. La conformation doit être permanente pendant 4 mois (151).



Figure 39 : Résultat à deux ans chez un patient porteur d'une fente labio-alvéolo-palatine bilatérale avec protocole de Talmant (A) et autre résultat chez un patient ayant été opéré en néonatal sans rhinoplastie primaire (B) (151) (154).

Voici des exemples de résultats pour les deux types de protocole. Sur l'image A le patient a subi une chéilo-rhinoplastie à 6 mois, les narines sont reconformées, la fonction ventilatoire peut être réalisée correctement, on remarque la fermeture labiale au repos. En B, le patient a subi une chéiloplastie néo-natale sans rhinoplastie associée, on remarque l'asymétrie narinaire et la non fermeture labiale au repos, signes d'une dysfonction ventilatoire probable.

Néanmoins, malgré toutes les précautions prises par ce protocole, il ne peut empêcher la persistance de cicatrices labiales, de défauts esthétiques au niveau de l'arc de cupidon ou du philtrum et de défauts de volume. En effet, la lèvre étant très souvent en tension, c'est un tissu dont la bonne cicatrisation est très compliquée à obtenir. Ces cicatrices persisteront et peuvent devenir compliquées à être supportées par le patient puisqu'elles lui rappellent au quotidien sa malformation ainsi que les souffrances physiques et morales qu'il a subies au cours de son traitement.

On propose alors aux patients pour remédier à cet inconvénient une chéiloplastie secondaire. Elle a une place particulière dans la séquence de traitement des fentes labiopalatines, elle est fondamentale, souvent indispensable, mais il n'y a aucun consensus quant à sa place précise dans la séquence thérapeutique. Les chéiloplasties secondaires ont longtemps été considérées comme la conséquence d'une erreur technique lors du temps de chéiloplastie primaire. Cependant, les auteurs spécialisés dans les corrections labiopalatines et dotés de très larges séries de cas insistent sur le fait qu'il n'existe pas deux fentes identiques et que par

conséquent, chaque fente est unique. Cette immense variété morphologique est une des raisons qui explique la nécessité d'une prise en charge chirurgicale des fentes par des chirurgiens spécialisés. Le résultat de la correction primaire sera supérieur et les corrections secondaires nettement réduites de par la compréhension de l'importance de la reconstruction du plan muqueux sans être trop focalisé sur la lèvre blanche et l'arc de cupidon. Il est plus facile de limiter au maximum la formation d'une déformation secondaire que de la corriger, surtout si elle interfère avec la croissance.

L'idée que les chéiloplasties secondaires ne sont pas un sujet à partir du moment où la chéiloplastie primaire est bien réalisée est une erreur conceptuelle majeure. La chéiloplastie secondaire est le marqueur d'une volonté d'excellence, et bien maîtriser tous ses aspects est aussi important que maîtriser le reste du protocole thérapeutique (153).

En ce qui concerne la nécessité et le moment de réalisation de cette chéiloplastie secondaire, il dépend de nombreux facteurs et notamment :

- * Du résultat de la chéilo-rhinoplastie primaire : en cas de complication de cicatrisation ou d'un choix de protocole discutable, la reprise de la lèvre et des ailes narinaires peut être effectuée en même temps que la gingivo-périostéo-plastie (GPP) vers l'âge de 5-6 ans ;
- * De la demande de l'enfant : le facteur psycho-social est extrêmement important à prendre en compte pour le développement du patient, en cas de forte demande de sa part, l'intervention ne doit pas être repoussée ;
- * Du sexe du patient : en effet, les patients de sexe féminin porteurs de fente acceptent mieux leurs différences que ceux de sexe masculin. En effet le maquillage féminin permet de faciliter le camouflage du défaut labial. De plus, le défaut capillaire lié à l'absence de barbe au niveau de la cicatrice rend la différence d'autant plus visible chez l'homme.



Figure 40 : Différence de perception de la cicatrice labiale chez un patient masculin avec défaut de pilosité et chez un patient féminin maquillé (153).

Ses objectifs consistent à rétablir plusieurs éléments anatomiques esthétiques ou fonctionnels tels qu'une bonne profondeur vestibulaire labiale, un arc de cupidon ou un philtrum équilibrés. En fonction des différents cas cliniques plusieurs techniques chirurgicales peuvent être réalisées comme des lambeaux hétéro-labiaux ou en fourche et des greffes de peau totales.

On cherche également à redonner un volume labial correct, que ce soit par dissection du muscle orbiculaire puis tunnellation du lambeau du côté fendu, ou par greffes graisseuses autologues.

Mais elle vise aussi à maquiller les cicatrices, effets secondaires inhérents à la chirurgie. Elles peuvent être reprises en prenant soin de les placer le long des colonnes philtrales. Les cicatrices labiales obéissent aux règles des cicatrices cutanées avec les mêmes risques de cicatrices inesthétiques. Le management post-opératoire obéit aux règles classiques de gestion cicatricielle associant massage, hydratation, pansement siliconé et protection solaire. La réduction de la composante inflammatoire par laser CO₂ fractionné ou par laser pulsé associé à une luminothérapie est un adjuvant précieux (153). Néanmoins, malgré ces précautions, des cicatrices chéloïdes peuvent survenir et leur traitement est pour le moment aléatoire et souvent décevant (155).

Comme nous l'avons vu dans notre 3.1.1.5.2, des études ont démontré l'effet de la relaxine sur l'apparence de cicatrices cutanées de cochons. Il serait donc très intéressant d'intégrer l'utilisation de cette molécule dans les protocoles de gestion des fentes labiales.

L'injection pourrait avoir lieu :

- * A J6-7 de la chéilo-rhinoplastie primaire au moment de l'anesthésie générale servant à retirer les attelles en silicone au niveau du nez ;
- * Au moment de la chéiloplastie secondaire.

Comme expliqué dans l'article de Yun et al. de 2019 (130), des adénovirus vecteurs codant pour la relaxine-2 humaine pourraient être intégrés dans un gel se dégradant avec le temps permettant un relargage progressif du peptide. L'idéal serait de trouver un matériau permettant à la fois de jouer un rôle volumateur au niveau des tissus labiaux, si besoin, sans

se dégrader et relâchant tout de même les adénovirus vecteurs codant pour la relaxine pour l'atténuation des cicatrices.

En 2017, Franchi et al. (156) ont décrit une nouvelle méthode d'injection d'acides hyaluroniques réticulés qui combleraient les zones manquant de volume au niveau de la lèvre tout en augmentant la souplesse des cicatrices fibreuses. Toutefois les cicatrices restent visibles. Une association de cette technique avec la relaxine pourrait être envisageable également.

3.2.1.2.2 Assistance à la technique de piézocision

La durée des traitements en orthodontie reste un frein majeur à son acceptation notamment pour la patientèle adulte. De nombreuses techniques ont été développées afin d'accélérer ces traitements d'orthodontie. Elles peuvent être divisées en trois catégories :

- * Par stimulation physique (laser ou vibrations) ;
- * Par stimulation chimique systémique (hormone parathyroïdienne ou vitamine D3) ou locale (prostaglandines, ligand RANKL ou relaxine) ;
- * Par des techniques chirurgicales basées sur le Phénomène d'Accélération Régionale (PAR) invasives (corticotomies ou distractions osseuses) ou minimalement invasives sans lambeau muco-périosté (corticision, micro-ostéoperforations ou piézocision).

Plus spécifiquement, la technique de piézocision a été introduite par Dibart et al. en 2011 (157) et offre également la possibilité d'adoindre par technique de tunnellisation un comblement osseux (biomatériaux) afin de renforcer le parodonte avant de débuter un traitement d'orthodontie. Le protocole chirurgical de la piézocision consiste en la réalisation d'une incision verticale entre les racines des dents à déplacer au travers de laquelle une corticotomie est réalisée à l'aide d'un insert piézoélectrique (longueur : 5 à 8mm ; profondeur : 3mm minimum) sous irrigation abondante.

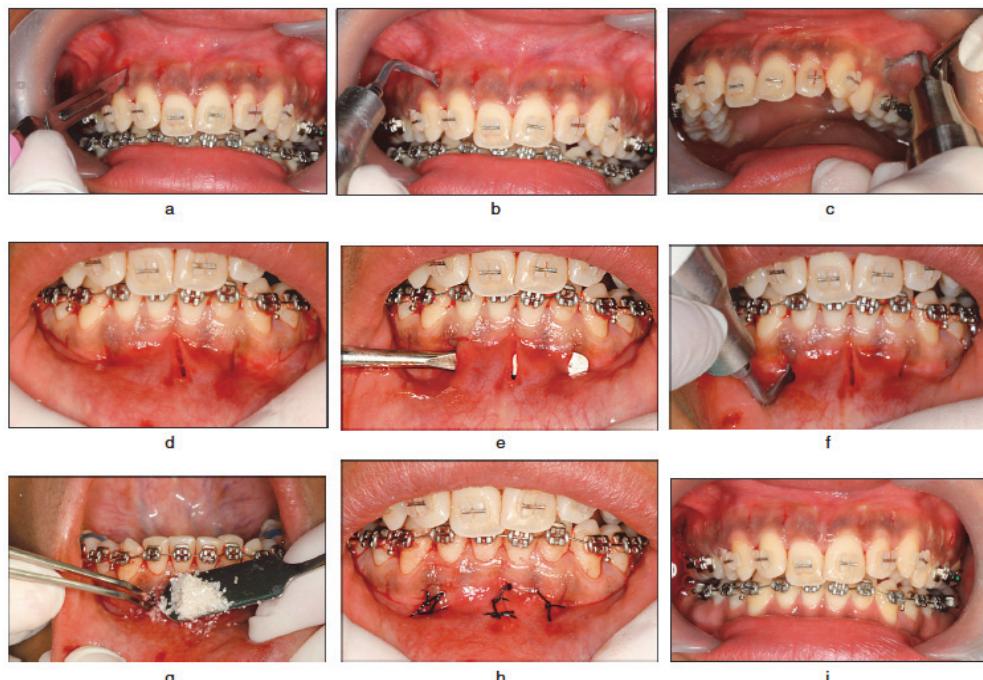


Figure 41 : Technique de piézocision décrite par Dibart et al. en 2011 avec de a à c la technique classique sans comblement et sans points associés et de d à i avec comblement et points de suture (157).

Elle est aujourd’hui largement étudiée dans la littérature notamment par Charavet et al. (158)(159)(160)(161) et semble avoir le meilleur coût bénéfice/risque parmi toutes les techniques d’accélération d’après la thèse du Dr. Nevesny en 2019 (162).

Deux essais cliniques contrôlés randomisés ont été réalisés par Charavet et al. en 2016 (158) et 2018 (159) pour déterminer l’efficacité de cette technique dans l’accélération d’un traitement orthodontique chez le patient adulte présentant un encombrement léger à modéré. Au total, 48 patients ont été inclus et répartis aléatoirement entre un groupe contrôle ($n = 24$: traitement orthodontique classique) versus un groupe test ($n = 24$: traitement orthodontique assisté par piézocision). Dans le groupe piézocision, 12 patients ont bénéficié de sutures post-opératoires tandis que les 12 autres n’ont pas reçu de sutures au niveau des incisions de piézocision. Les patients étaient revus en contrôle orthodontique toutes les deux semaines jusqu’à la dépose de l’appareil.

Voici leurs conclusions :

- * La chirurgie de piézocision accélère les traitements orthodontiques pendant les 4 premiers mois de 36% à 43% chez le patient adulte dans des conditions d’encombrement mineur à modéré. Bien que le déplacement dentaire orthodontique soit accéléré, aucun effet secondaire n’a été retrouvé d’un point de vue parodontal

(récession, poche, indice de plaque et de saignement papillaire) et radiologique (déhiscence, fenestration ou résorption radiculaire). Finalement, la satisfaction des patients était significativement meilleure dans le groupe piézocision comparé au groupe contrôle ;

- * Cependant, avec ou sans sutures post-intervention, la présence de cicatrices avait été constatée :
 - Sans sutures : des cicatrices apparaissaient dans 50% des cas. Elles se présentaient sous forme de lignes chez 17% des patients et de points pour les autres 33%
 - Avec sutures : des cicatrices apparaissaient dans 66% des cas mais elles étaient moins marquées que sans suture car sous forme de points pour 58% et de lignes pour 8%.

Ainsi, la chirurgie de piézocision reste contre-indiquée dans des cas de ligne du sourire haute.

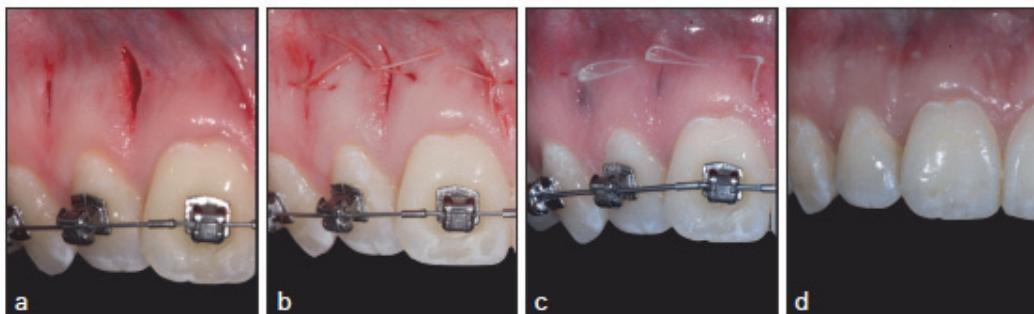


Figure 42 : Protocole utilisé pour l'essai de 2018 avec la réalisation de points de suture au niveau des incisions et l'apparence des cicatrices post traitement photo d) (160).

Ainsi, la relaxine pourrait-elle apporter une plus-value dans cette approche de traitement ? Aux vues des propriétés de la molécule sur les phases de cicatrisation, la mise en place d'une injection locale de relaxine sous forme de solution ou de gel contenant des adénovirus vecteurs codant pour le peptide pourrait pallier cette problématique. Plus simplement, une pommade contenant le peptide pourrait être appliquée par le patient sur la zone d'intervention bien que les études préliminaires sur cochons (voir partie 3.1.1.5.2) démontrent une efficacité relative. Ainsi, cette option thérapeutique semble ouvrir de nouvelles perspectives de recherche pour l'amélioration de la prise en charge de ces patients.

3.2.1.2.3 Apports aux chirurgies parodontales

Comme développé plus haut, Nicozisis et al. (141), dès l'an 2000, concluaient que la relaxine pourrait avoir un intérêt dans les domaines suivants :

- * Accélération du mouvement dentaire et amélioration de sa contention ;
- * Diminution de la formation de tissus cicatriciels après frénectomie ;
- * Aide au mouvement d'une dent partiellement ankylosée après luxation ;
- * Amélioration du remodelage gingival après fermetures d'espaces.

En presque 20 ans, l'effet de la relaxine n'a été testé cliniquement que sur l'accélération et la récidive d'un traitement d'orthodontie. Il n'empêche que la relaxine pourrait être intégrée dans de nombreux protocoles « gold standard » de chirurgie parodontale dont les résultats peuvent toujours être améliorés. Nous allons voir rapidement quelques-uns de ces protocoles.

3.2.1.2.3.1 Chirurgies du frein lingual

D'après Monnet-Corti et al. (163), le frein est un repli de muqueuse tendu entre deux structures anatomiques. Au niveau de langue, une brièveté de ce frein peut conduire à une ankyloglossie et des répercussions fonctionnelles sur l'allaitement, l'intelligibilité du langage, le développement maxillo-mandibulaire et le parodonte. Il est très important dans nos traitements de dépister cette brièveté et de connaître les options thérapeutiques envisageables.

Deux types de traitement vont être possibles. Le premier est non chirurgical et consistera en un traitement orthophonique qui visera à allonger et étirer les tissus fibreux par un certain nombre d'exercices. Le second est chirurgical, toujours suivi de rééducation orthophonique, et trois techniques sont classiquement envisageables d'après Veyssiére et al. (164) :

- * Frénotomie : principalement réalisée chez le nourrisson lorsque le frein n'est qu'une fine membrane celluleuse. Une simple incision se fait alors aux ciseaux sans anesthésie et sans points. Cette intervention est la plus simple mais nécessite d'être réalisée avant 6 mois ;
- * Frénectomie : exérèse complète du frein avec libération des fibres musculaires linguales. Elle nécessite une fermeture par points simples de fils résorbables sans tension et après hémostase. Elle peut être réalisée sous anesthésie locale ;

- * Frénoplastie : une frénectomie est réalisée et est accompagnée d'une plastie, le plus souvent en Z, pour rompre la zone du frein et diminuer le risque de bride cicatricielle post-chirurgicale. Elle est réalisée sous anesthésie générale.

D'après Klockars et al. (165), le risque de récidive peut aller jusqu'à 13% et concerne principalement les frénectomies et frénoplasties. Il serait intéressant d'étudier ce que pourrait engendrer une injection de relaxine en post-opératoire sur ce taux de récidive.

3.2.1.2.3.2 Chirurgies plastiques parodontales de recouvrement radiculaire

Les propriétés angiogéniques et antifibrotiques de la relaxine pourraient être d'une aide précieuse dans la bonne cicatrisation des actes chirurgicaux parodontaux réalisés dans le cadre de :

- * Lambeaux déplacés seuls ou associés à une autogreffe de conjonctif ;
- * Greffes épithélio-conjonctives.

En effet, la relaxine pourrait permettre une revascularisation plus rapide du lambeau ou du greffon, une diminution des tensions auxquelles il est soumis, qui compliquent sa bonne cicatrisation. Elle pourrait peut-être aussi offrir une meilleure intégration esthétique avec une fusion plus complète des bords du greffon avec le site receveur, pouvant éviter l'effet « joint rupteur » de certaines greffes épithélio-conjonctives.

3.2.1.2.3.3 Correction des fentes et fissures gingivales

Lors de nos traitements orthodontiques, dans les cas de fermetures d'espaces, des fissures gingivales peuvent apparaître entre deux dents présentant à la fois un défaut esthétique et un grand risque de récidive par réouverture de cet espace. Une étude sur l'effet que pourrait avoir une injection de relaxine sur un site de ce type semblerait très intéressante. Une simple injection locale pourrait peut-être remplacer une intervention chirurgicale plus complexe.

3.2.2 Relaxine et remodelage des tissus durs de la sphère oro-faciale

3.2.2.1 Données actuelles

La relaxine a donc des propriétés et des actions bien connues sur les tissus mous. Néanmoins elle pourrait également avoir une implication très intéressante au niveau du métabolisme osseux.

Les études à ce sujet démarrent grâce à l'équipe de Ferlin qui, en 2008, a prouvé que RXFP2 était présent au niveau des ostéoblastes. Des souris chez qui l'on avait bloqué l'expression de RXFP2 présentaient un défaut de masse osseuse et une stimulation de l'ostéoporose, ce qui laissait penser que INSL3 pouvait avoir un rôle endocrine dans la physiologie osseuse (57).

Puis, partie du constat que la concentration en relaxine dans le sérum de patients atteints de cancers avec métastases osseuses était augmentée, cette même équipe a eu l'idée d'étudier l'impact de la relaxine sur le métabolisme des ostéoclastes. En effet, dans les métastases ostéolytiques, la destruction de l'os est médiée par les ostéoclastes qui sont des cellules pluri nucléées dérivées de progéniteurs hématopoïétiques (166). En 2009, Ferlin et al. ont alors prouvé que les ostéoclastes ainsi que leurs précurseurs exprimaient RXFP1. De plus, ils ont montré *in vitro* que la relaxine pouvait, à elle seule, induire les différentes étapes du procédé de différenciation de l'ostéoclastogenèse humaine dans un temps similaire à celui obtenu avec les stimulateurs classiques que sont RANK/RANKL, M-CSF et PTH, c'est-à-dire environ 14 jours, sans induire de toxicité au niveau de l'ADN contenu dans ces cellules. La relaxine provoque la stimulation de gènes impliqués dans la différenciation, la survie et l'activation des ostéoclastes par liaison aux RXFP1 présents sur leur membrane cellulaire et utilisant notamment la voie de signalisation concernant NF-kB. Néanmoins, aucune trace de relaxine ne fut détectée au sein des ostéoblastes ou des ostéoclastes, prouvant que ces cellules ne produisent pas de relaxine et que donc ce peptide agirait par voie endocrine, c'est-à-dire par production à distance (167).

Néanmoins, malgré toutes ces découvertes à propos du rôle de la relaxine ou de INSL3 au niveau du métabolisme osseux, les effets de ces peptides sur la différenciation des cellules souches mésenchymateuses en ostéoblastes et la formation osseuse *in vivo* étaient toujours inconnus.

Les BMP ou « bone morphogenetic protein » appartiennent à une famille de protéines de type facteur de croissance. Elles jouent des rôles largement reconnus dans la morphogenèse et la différenciation de nombreux tissus (168). Parmi les membres de cette famille, les BMP-2-4-5-6-7 et 9 ont toutes une forte capacité ostéogénétique à la fois *in vivo* et *in vitro* (169). Moon et al. en 2014 ont alors démontré *in vivo* chez des souris qu'une production ectopique d'os induite par injection de BMP-2 pouvait être stimulée et accrue par une injection concomitante de relaxine de manière dose-dépendante. Les auteurs concluent alors qu'une utilisation combinée de relaxine et de BMP-2 pourrait être une thérapeutique efficace pour la régénération osseuse (170).

En 2014, une nouvelle étude de Duarte et al. a essayé de caractériser les modèles d'expression de RXFP1 et 2 durant le développement osseux du calvaire chez la souris et de déterminer l'effet de la relaxine sur la différenciation ostéoblastique, la minéralisation et le turnover collagénique en utilisant un liposome protéique transporteur. Ces liposomes à bicouche de cholestérol sont des agents très intéressants car ils ne passent pas la barrière hémato-encéphalique et évitent le passage de la relaxine dans le système nerveux central. De plus, ils peuvent contenir des particules nanométriques d'oxyde de fer permettant leur contrôle magnétique. Ils expriment la relaxine sur leur membrane qui peut alors stimuler les RXFP des ostéoblastes. Les auteurs ont également cherché à identifier lequel de ces deux RXFP était majoritairement mis en cause dans ces mécanismes.

Ils ont tout d'abord découvert qu'à la fois RXFP1 et 2 étaient exprimés par les ostéoblastes du calvaire en développement chez la souris, ce qui est une avancée puisque jusqu'alors aucun ARNm de RXFP1 n'avait jamais été détecté chez aucune espèce dans un ostéoblaste. Néanmoins RXFP2 est exprimé en bien plus forte quantité que RXFP1.

Puis, ils ont démontré que chez des souris où RXFP1 et 2 étaient désactivés aucune malformation crânio-faciale congénitale ne survenait, même si chez celles où RXFP2 n'était pas exprimé, un défaut de minéralisation osseuse apparaissait.

Enfin, la stimulation de la croissance de ces souris par les liposomes contenant de la relaxine au niveau de leur calvaire entraînait dans les phases initiales une augmentation de la différenciation ostéoblastique et dans les phases finales une minéralisation anormale avec un défaut d'expression collagénique médie par RXFP2.

Alors que faut-il conclure de ces résultats ? Rappelons que la relaxine a la capacité de se lier à RXFP1 et 2 même si au niveau de RXFP2 la réponse intracellulaire induite est moins importante que lors de la liaison RXFP2-INSL3. Il semblerait dès lors que RXFP2 aurait plutôt un rôle au niveau des ostéoblastes alors que RXFP1 serait lui plus présent au niveau des ostéoclastes même s'il peut avoir un rôle dans la régulation de RXFP2 dans les ostéoblastes. De plus, l'effet collagénolytique bien décrit de la relaxine s'exprime donc également au niveau de RXFP2 chez les ostéoblastes. Il entraîne une diminution de la production des collagènes type I et IV ou augmente la production des MMP-2 et 13 qui les dégradent, et conduit ainsi à un os plus minéralisé (171).

En 2016 désormais, Duarte et al., toujours, ont cherché à découvrir l'impact que pourrait avoir une injection de liposomes transportant de la relaxine dans des sutures osseuses pendant une expansion chez des souris. En effet, ils ont alors émis l'hypothèse d'augmenter la rapidité et la capacité de cette expansion par l'effet ostéoclastique du peptide permettant la désorganisation des sutures puis une formation du pont osseux plus rapide évitant la récidive par son effet ostéogénique. Cette voie de recherche est extrêmement intéressante pour nous orthodontistes.

Comme expliqué au-dessus, ces liposomes ne peuvent pas passer la barrière hémato-encéphalique et ainsi ne sont daucun danger pour le système nerveux central. Ils contiennent 47,6µg/ml de relaxine.

Au niveau du design de cette étude, 24 souris mâles ont été divisées en 4 groupes de 6 :

- * Sans expansion suturale ;
- * Expansion suturale seule ;
- * Expansion suturale avec injection de solution saline au niveau de la suture (PBS) ;
- * Expansion suturale avec injection de 10µl de 20ng/ml de la solution RLN-Liposome au niveau de la suture.

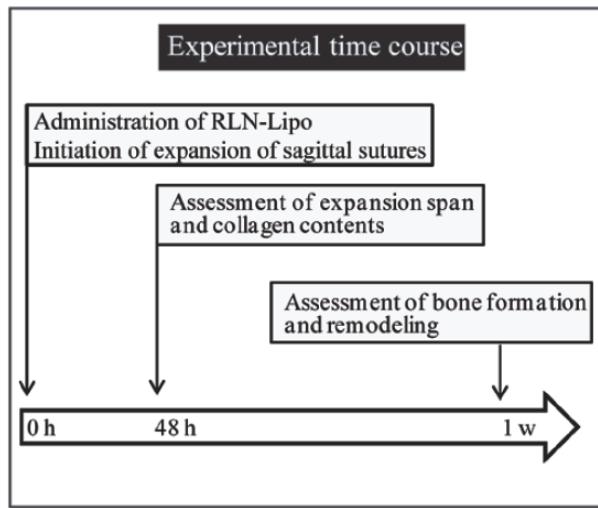


Figure 43 : Calendrier explicatif de l'étude de Duarte et al. (172).

A J0, les 24 souris sont équipées d'un ressort orthodontique en Elgiloy 14 millièmes d'inch à ancrage osseux de part et d'autre de la suture. Ce ressort permet une expansion maximale de 2mm. Pour les 6 souris du groupe sans expansion ce ressort est non actif. A J0 toujours, les injections sont réalisées pour les groupes solution saline et RLN-Lipo.

A J2, la quantité d'expansion est mesurée chez 3 souris sélectionnées aléatoirement et sacrifiées dans chaque groupe.

A J7, la densité osseuse ainsi que la quantité d'os formé sont quantifiées chez les 3 souris restantes dans chaque groupe.

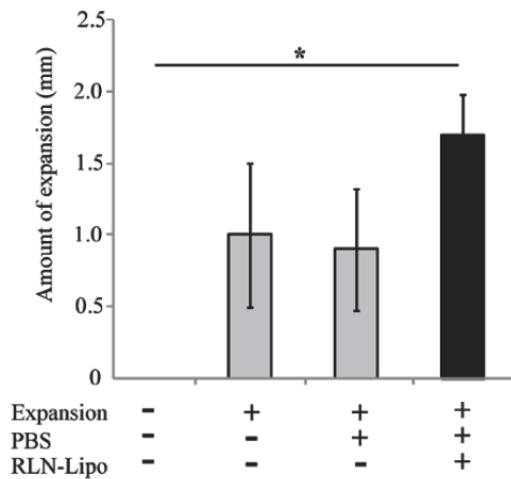


Figure 44 : Quantité d'expansion obtenue au niveau d'une suture crânienne de souris après deux jours d'activation en fonction des différents groupes d'étude (172).

Voici les résultats de l'expansion suturale obtenue à J2 en fonction des groupes d'étude. En raison du petit nombre de sujets étudiés (3 par groupe), seule l'expansion moyenne du groupe

RLN-Lipo est significativement différente de celle du groupe sans expansion. Néanmoins cette expansion est presque 2 fois supérieure avec exposition à la relaxine par rapport aux groupes contrôle.

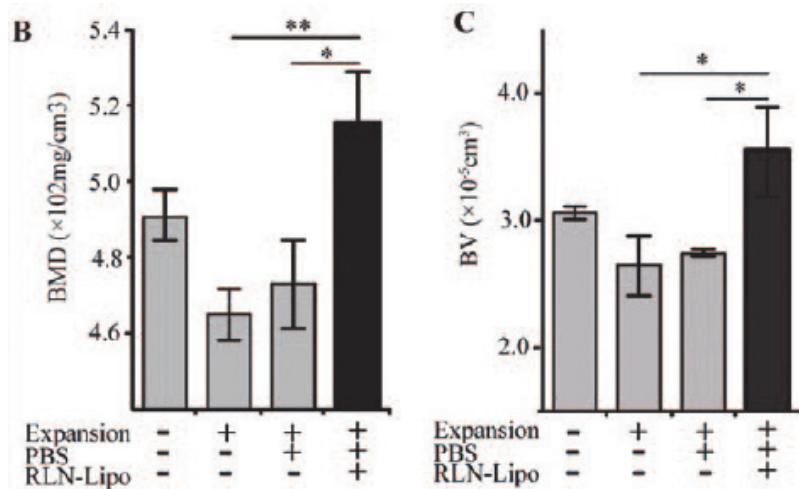


Figure 45 : Mesures de la densité (B) et du volume osseux (C) au niveau de la suture à J7 en fonction des différents groupes d'étude (172).

Pour les 12 souris restantes, le ressort était donc laissé en place. A J7, elles furent sacrifiées et des études histologiques au niveau de la suture ont permis de démontrer que la densité et le volume osseux étaient significativement plus importants chez les souris du groupe RLN-Lipo que chez celles des groupes expansion seule et expansion avec injection solution saline (PBS). Mais aucune différence significative ne fût trouvée entre le groupe RLN-Lipo et le groupe sans expansion indiquant que l'os ostéoïde présent dans ces deux sutures était similaire.

RXFP1 était exprimé au niveau de la suture et de l'os pariétal dans tous les groupes mais son expression ne fût augmentée que dans le groupe RLN-Lipo.

RXFP2 n'était lui exprimé que dans les trois groupes avec expansion et son expression n'a augmenté que dans le groupe RLN-Lipo.

Les auteurs concluent que l'exposition à la relaxine n'augmente pas la vitesse d'expansion de la suture mais qu'une nouvelle étude avec plus de sujets inclus doit être réalisée. Cette dernière engendre, en revanche, une accélération de formation de tissu ostéoïde dans la faille suturale créée.

Ces effets seraient médiés par RXFP1 dans les tissus fibreux suturaux avec désorganisation de la matrice collagénique et par l'action combinée de RXFP1 et 2 au niveau des tissus osseux pariétaux avec stimulation de production ostéoblastique et augmentation de minéralisation

osseuse. De plus cette accélération de fabrication osseuse est très certainement aidée par la capacité angiogénique de la relaxine avec un recrutement moléculaire accru au niveau du site de cicatrisation osseuse.

Les auteurs expliquent aussi que les résultats pourraient être améliorés en injectant la relaxine quelques heures ou jours avant le début de l'expansion pour que le peptide puisse désorganiser la matrice collagénique de manière plus complète. Néanmoins, une exposition prolongée au peptide peut conduire à la production d'anticorps anti-relaxine contrecarrant son action. La quantité ainsi que le moment de son administration doivent donc être le produit d'un savant compromis.

En ce qui concerne la manière dont la molécule est administrée, les auteurs se disent convaincus que ce système de liposome transporteur contrôlable magnétiquement est pour le moment la solution la plus sûre et la plus efficace pour délivrer le peptide (172).

Enfin, en 2019, Kamimoto et al. (173), au Japon toujours, ont tenté de confirmer les résultats de l'équipe de Duarte en réalisant une nouvelle expérience *in vivo* chez les rats en utilisant toujours cette technique de liposomes magnétisés au niveau de la suture palatine cette fois-ci. Trente-six rats furent inclus et divisés en trois groupes :

- * Contrôle : la suture palatine ne subit pas d'expansion, l'appareil d'expansion est réglé passivement et aucun liposome n'est injecté ;
- * Liposome (vehicle dans la figure 46) : la suture palatine subit une expansion pendant une semaine et des liposomes sont injectés au niveau de la suture mais ils ne contiennent pas de relaxine ;
- * RLN-lipo : expansion de la suture pendant une semaine avec injection de liposomes contenant de la relaxine.

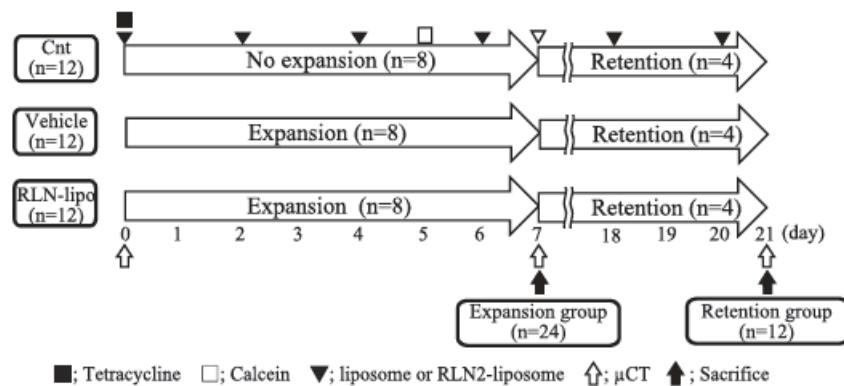


Figure 46 : Calendrier du protocole opératoire décrit par Kamimoto et al. (173).

Ces 3 groupes furent ensuite divisés en deux, 8 rats furent sacrifiés à J7, tandis que les 4 autres se virent poser une contention à J7 également pour maintenir l'expansion gagnée et analyser à J21 histologiquement ce qu'il s'était passé au niveau de la suture.

Les liposomes contenant ou non de la relaxine étaient injectés tous les 2 jours à partir de J0 jusqu'à J20.

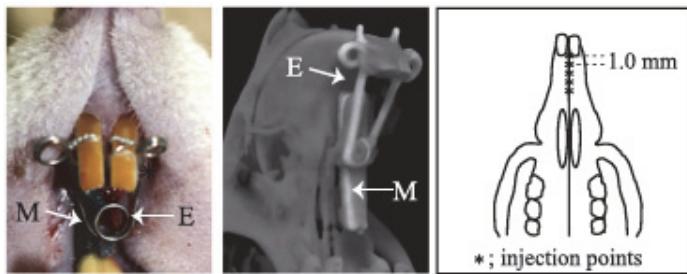


Figure 47 : Appareil utilisé : (M) : feuille magnétique (173).

L'appareil consistait en un ressort en acier de 14 millièmes d'inch maintenu au niveau des incisives centrales avec une feuille magnétique au niveau de la suture pour attirer les liposomes.

Au niveau des résultats, tout d'abord RXFP1 fut détecté au niveau de la suture palatine dans tous les groupes. En revanche, de manière très intéressante, RXFP2 ne fut détecté que dans le groupe RLN-lipo au niveau du front osseux ostéogénique. Ce qui confirme l'hypothèse que la relaxine stimulerait les RXFP1 présents au niveau des tissus conjonctifs et entraînerait une production spécifique de RXFP2 au niveau des berges osseuses.

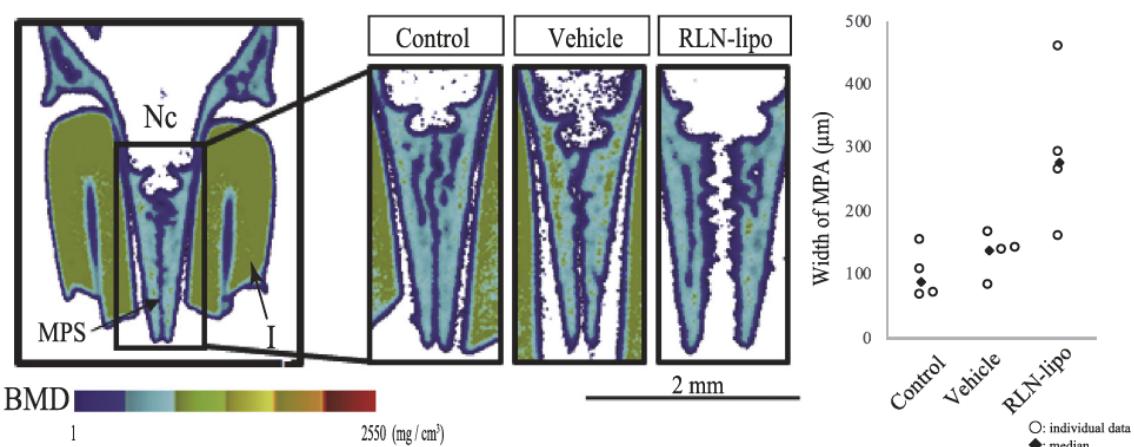


Figure 48 : Sections coronales reconstituées de l'état moyen des sutures palatinas médianas de rats dans les différents groupes d'étude après 7 jours d'expansion (173).

La largeur de la suture palatine médiane était significativement plus importante dans le groupe RLN-lipo que dans les 2 autres groupes après 7 jours d'expansion.

Au niveau histologique, MMP-1 était significativement présente en plus grande quantité dans le groupe RLN-lipo que dans les autres tout comme iNos, confirmant encore une fois l'action de la relaxine au niveau de la destruction de la matrice collagénique via les voies de signalisation activées par RXFP1.

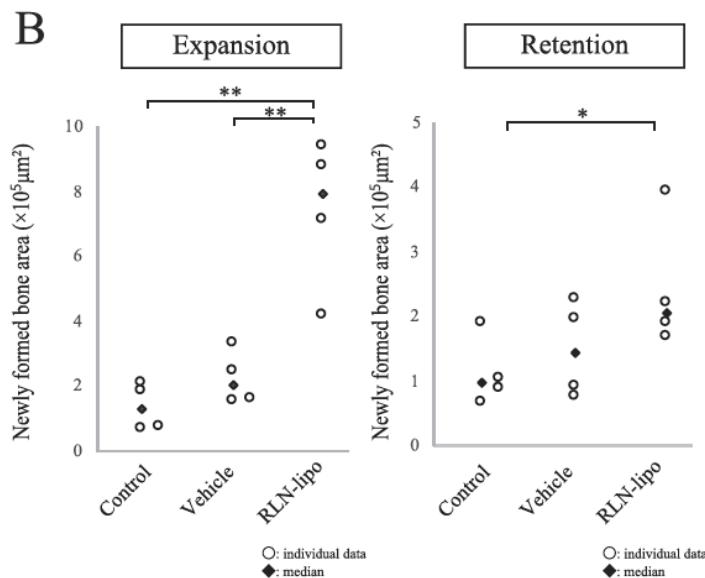


Figure 49 : Évaluation des nouvelles aires osseuses créées après expansion et rétention en fonction des différents groupes (173).

Après expansion et rétention, les nouvelles aires osseuses étaient en moyenne significativement plus nombreuses dans le groupe RLN-lipo que dans les deux autres groupes.

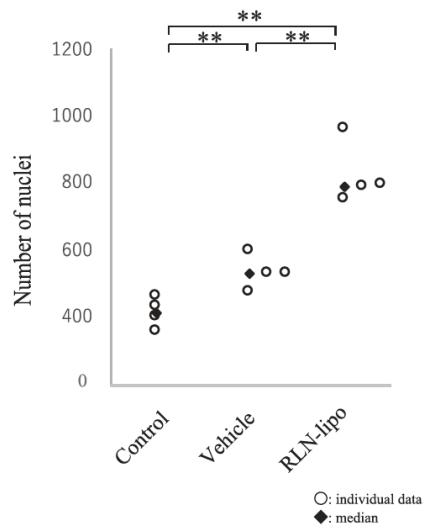


Figure 50 : Évaluation du nombre d'ostéoblastes présents au niveau des berges osseuses après expansion en fonction des différents groupes (173).

Le nombre d'ostéoblastes était significativement plus important au niveau des berges osseuses autour de la suture dans le groupe RLN-lipo que dans les deux autres.

3.2.2.2 Perspectives

Toutes ces recherches permettent ainsi d'avoir des certitudes sur les capacités qu'aurait la relaxine sur la modulation du métabolisme osseux en agissant à la fois sur :

- * Les ostéoblastes via RXFP2 en stimulant leur différenciation et leur production minérale ;
- * Les ostéoclastes via RXFP1 en ayant la capacité d'induire toute la chaîne de maturation ostéoclastique ;
- * Les sutures reliant les structures osseuses par la production de MMP permettant de dégrader et de renouveler ces tissus.

De plus, la relaxine n'est pas retrouvée au sein de ces cellules, ce qui permet de conclure qu'elles n'ont pas la capacité de produire le peptide et que donc son action ne peut être qu'endocrine c'est-à-dire par apport extérieur.

Ces actions sur le métabolisme osseux sont, bien entendu, extrêmement intéressantes pour notre pratique puisqu'elles permettraient de nous affranchir de nombreuses barrières squelettiques établies par des défauts ou la fin de la croissance de nos patients.

Nous allons désormais aborder deux applications cliniques d'utilisation de la relaxine qui nous permettraient de sortir d'impasses thérapeutiques ou d'éviter des gestes chirurgicaux lourds.

3.2.2.2.1 Apport aux fentes alvéolopalatines

Sans entrer dans une description précise de cette pathologie, il paraît désormais évident que des recherches cliniques doivent être effectuées quant à l'injection de relaxine au niveau de ces palais qui sont composés en grande partie de tissus fibreux cicatriciels ainsi que de manque d'os. On peut imaginer que la relaxine pourrait permettre :

- * Une diminution de la contractilité des tissus en présence et par conséquent une expansion plus rapide et un risque de récidive diminué ;
- * Une formation osseuse éventuelle notamment en cas de greffe avec une diminution de rejet et une meilleure formation de pont osseux.

3.2.2.2.2 Apport aux expansions transversales maxillaires

Les os maxillaires droit et gauche sont d'origine mésenchymateuse, dérivant des cellules de la crête neurale, et sont connectés entre eux par des connections fibreuses denses portant le nom de suture intermaxillaire. Durant l'enfance, cette suture est presque droite mais change de forme au cours du temps pour finalement former des interdigitations. Des ponts osseux finissent par se former rendant son expansion latérale impossible à la fin de l'adolescence. De ce fait, les patients orthodontiques adultes qui présentent une déficience transversale nécessitent une intervention invasive consistant en une disjonction chirurgicale assistée par un distracteur posé par l'orthodontiste. De plus, la rétention à long terme de ce gain transversal est nécessaire pour éviter toute récidive et ces distracteurs peuvent être laissés en bouche relativement longtemps entraînant un inconfort pour le patient et sa langue qui ne trouve plus sa place (173).

Il n'existe actuellement pas de solution pharmacologique pour le contrôle de la croissance de cette suture. La seule alternative à cette disjonction chirurgicale serait la pose d'un distracteur à appui osseux mais les risques liés à cette technique ainsi que le risque de récidive du gain obtenu sont encore méconnus.

Des injections de relaxine au niveau de cette suture, pour toutes les raisons qui ont déjà été évoquées, pourraient ainsi être une perspective plus qu'envisageable.

4 Conclusion

La relaxine-2 humaine est ainsi une hormone dont le champ d'action au sein du corps humain est extrêmement large. Elle joue son rôle principalement de façon endocrine par l'activation des récepteurs RXFP1, 2 et 3 aux localisations tissulaires multiples.

Elle a, à court ou moyen terme au niveau cellulaire, un effet à la fois vasodilatateur, anti-apoptotique, angiogénique, anti-inflammatoire et anti-fibrotique. Ces propriétés très intéressantes ont poussé les recherches médicales à l'utiliser pour le traitement de la sclérodermie ou encore de l'insuffisance cardiaque. Au niveau orthodontique, les chercheurs se sont acharnés à prouver son intérêt dans l'accélération des traitements ou la diminution de leur récidive, issues les plus rentables et les plus vendueuses dans notre domaine.

Néanmoins, les résultats n'ont pas été à la hauteur des attentes lors des essais cliniques menés chez l'Homme malgré la démonstration de la sûreté de son injection.

Cependant, de nouvelles découvertes sur sa capacité à moduler le métabolisme collagénique ou osseux poussent les recherches vers de nouvelles directions extrêmement prometteuses pour nous orthodontistes. En effet, l'utilisation de ce peptide pourrait nous permettre un meilleur contrôle des tissus cicatriciels, que ce soit pour le traitement des patients porteurs de fente ou comme adjuvant aux techniques chirurgicales parodontales diverses, mais aussi pour limiter les cicatrices gingivales résultant des accélérations de traitement par piézocision. Elle permettrait enfin de repousser les limites liées à la fin de croissance de nos patients grâce à ses actions désormais démontrées sur les sutures et la production osseuse.

Bibliographie

1. Hisaw FL. Experimental relaxation of the pubic ligament of the guinea pig. *Exp Biol Med.* Mai 1926;23(8):661-3.
2. Sherwood OD. Relaxin's Physiological Roles and Other Diverse Actions. *Endocr Rev.* Avr 2004;25(2):205-34.
3. Crawford RJ, Hudson P, Shine J, Niall HD, Eddy RL, Shows TB. Two human relaxin genes are on chromosome 9. *EMBO J.* Oct 1984;3(10):2341-5.
4. Bell RJ, Permezel M, MacLennan A, Hughes C, Healy D, Brennecke S. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the safety of vaginal recombinant human relaxin for cervical ripening. *Obstet Gynecol.* Sept 1993;82(3):328-33.
5. Zhao L, Roche PJ, Gunnerson JM, Hammond VE, Tregear GW, Wintour EM, et al. Mice without a functional relaxin gene are unable to deliver milk to their pups. *Endocrinology.* Janv 1999;140(1):445-53.
6. Liu C, Eriste E, Sutton S, Chen J, Roland B, Kuei C, et al. Identification of relaxin-3/INSL7 as an endogenous ligand for the orphan G-protein-coupled receptor GPCR135. *J Biol Chem.* Déc 2003;278(50):50754-64.
7. Hsu SY, Nakabayashi K, Nishi S, Kumagai J, Kudo M, Sherwood OD, et al. Activation of orphan receptors by the hormone relaxin. *Science.* Janv 2002;295(5555):671-4.
8. Bathgate RA, Ivell R, Sanborn BM, Sherwood OD, Summers RJ. International Union of Pharmacology LVII: recommendations for the nomenclature of receptors for relaxin family peptides. *Pharmacol Rev.* Mars 2006;58(1):7-31.
9. Novak J, Danielson LA, Kerchner LJ, Sherwood OD, Ramirez RJ, Moalli PA, et al. Relaxin is essential for renal vasodilation during pregnancy in conscious rats. *J Clin Invest.* Juin 2001;107(11):1469-75.
10. Geddes BJ, Summerlee AJ. The emerging concept of relaxin as a centrally acting peptide hormone with hemodynamic actions. *J Neuroendocrinol.* Juin 1995;7(6):411-7.
11. Ward DG, Thomas GR, Cronin MJ. Relaxin increases rat heart rate by a direct action on the cardiac atrium. *Biochem Biophys Res Commun.* Juill 1992;186(2):999-1005.
12. Ivell R, Bathgate RAD. Reproductive Biology of the Relaxin-Like Factor (RLF/INSL3)1. *Biol Reprod.* Sept 2002;67(3):699-705.
13. Bathgate RAD, Halls ML, van der Westhuizen ET, Callander GE, Kocan M, Summers RJ. Relaxin Family Peptides and Their Receptors. *Physiol Rev.* Janv 2013;93(1):405-80.
14. Wilkinson TN, Speed TP, Tregear GW, Bathgate RAD. Evolution of the relaxin-like peptide family. *BMC Evol Biol.* Févr 2005;5:14.

15. Eigenbrot C, Randal M, Quan C, Burnier J, O'Connell L, Rinderknecht E, et al. X-ray structure of human relaxin at 1.5 Å. Comparison to insulin and implications for receptor binding determinants. *J Mol Biol.* Sept 1991;221(1):15-21.
16. Hossain MA, Wade JD. Synthetic relaxins. *Curr Opin Chem Biol.* Oct 2014;22:47-55.
17. Bathgate RAD, Samuel CS, Burazin TCD, Layfield S, Claasz AA, Reytomas IGT, et al. Human Relaxin Gene 3 (*H3*) and the Equivalent Mouse Relaxin (*M3*) Gene: Novel members of the relaxin peptide family. *J Biol Chem.* Janv 2002;277(2):1148-57.
18. Palejwala S, Tseng L, Wojtczuk A, Weiss G, Goldsmith LT. Relaxin gene and protein expression and its regulation of procollagenase and vascular endothelial growth factor in human endometrial cells. *Biol Reprod.* Juin 2002;66(6):1743-8.
19. O'Byrne EM, Flitcraft JF, Sawyer WK, Hochman J, Weiss G, Steinert BG. Relaxin bioactivity and immunoactivity in human corpora lutea. *Endocrinology.* Mai 1978;102(5):1641-4.
20. Khan-Dawood FS, Goldsmith LT, Weiss G, Dawood MY. Human corpus luteum secretion of relaxin, oxytocin, and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab.* Mars 1989;68(3):627-31.
21. Gunnerson JM, Fu P, Roche PJ, Tregear GW. Expression of human relaxin genes: characterization of a novel alternatively-spliced human relaxin mRNA species. *Mol Cell Endocrinol.* Avr 1996;118(1-2):85-94.
22. O'Byrne EM, Steinert BG. Radioimmunoassay (RIA) of relaxin in sera of various species using an antiserum to porcine relaxin. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N.* Juin 1976;152(2):272-6.
23. Klonisch T, Hombach-Klonisch S, Buchmann J, Fischer B, Bergmann M, Steger K. Relaxin-like factor expression in a human ovarian Sertoli-Leydig cell tumor. *Fertil Steril.* Sept 1999;72(3):546-8.
24. Anand-Ivell RJK, Relan V, Balvers M, Coiffec-Dorval I, Fritsch M, Bathgate RAD, et al. Expression of the insulin-like peptide 3 (INSL3) hormone-receptor (LGR8) system in the testis. *Biol Reprod.* Mai 2006;74(5):945-53.
25. Hombach-Klonisch S, Hoang-Vu C, Kehlen A, Hinze R, Holzhausen H-J, Weber E, et al. INSL3 is expressed in human hyperplastic and neoplastic thyrocytes. *Int J Oncol.* Mai 2003;22(5):993-1001.
26. Lenglos C. Le système relaxine-3/RXFP3 dans la régulation de la prise alimentaire : effet de la diète, du stress et du facteur sexe. Thèse de doctorat 2^{ème} cycle, Québec, 2015.
27. Chassin D, Laurent A, Janneau JL, Berger R, Bellet D. Cloning of a new member of the insulin gene superfamily (INSL4) expressed in human placenta. *Genomics.* Sept 1995;29(2):465-70.
28. Mock P, Frydman R, Bellet D, Chassin D, Bischof P, Campana A, et al. Expression of pro-EPL peptides encoded by the insulin-like 4 (INSL4) gene in chromosomally abnormal pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab.* Oct 2000;85(10):3941-4.

29. Burnicka-Turek O, Shirneshan K, Paprotta I, Grzmil P, Meinhardt A, Engel W, et al. Inactivation of insulin-like factor 6 disrupts the progression of spermatogenesis at late meiotic prophase. *Endocrinology*. Sept 2009;150(9):4348-57.
30. Zeng L, Akasaki Y, Sato K, Ouchi N, Izumiya Y, Walsh K. Insulin-like 6 is induced by muscle injury and functions as a regenerative factor. *J Biol Chem*. Nov 2010;285(46):36060-9.
31. Hsu SY, Liang SG, Hsueh AJ. Characterization of two LGR genes homologous to gonadotropin and thyrotropin receptors with extracellular leucine-rich repeats and a G protein-coupled, seven-transmembrane region. *Mol Endocrinol Baltim Md*. Déc 1998;12(12):1830-45.
32. Halls ML, Bond CP, Sudo S, Kumagai J, Ferraro T, Layfield S, et al. Multiple binding sites revealed by interaction of relaxin family peptides with native and chimeric relaxin family peptide receptors 1 and 2 (LGR7 and LGR8). *J Pharmacol Exp Ther*. mai 2005;313(2): 677-87.
33. Hopkins EJ, Layfield S, Ferraro T, Bathgate RAD, Gooley PR. The NMR Solution Structure of the Relaxin (RXFP1) Receptor Lipoprotein Receptor Class A Module and Identification of Key Residues in the N-terminal Region of the Module That Mediate Receptor Activation. *J Biol Chem*. Nov 2006;282(6):4172-84.
34. Kern A, Hubbard D, Amano A, Bryant-Greenwood GD. Cloning, expression, and functional characterization of relaxin receptor (leucine-rich repeat-containing g protein-coupled receptor 7) splice variants from human fetal membranes. *Endocrinology*. Mars 2008;149(3):1277-94.
35. Muda M, He C, Martini PGV, Ferraro T, Layfield S, Taylor D, et al. Splice variants of the relaxin and INSL3 receptors reveal unanticipated molecular complexity. *Mol Hum Reprod*. Août 2005;11(8):591-600.
36. Scott DJ, Layfield S, Yan Y, Sudo S, Hsueh AJW, Tregear GW, et al. Characterization of novel splice variants of LGR7 and LGR8 reveals that receptor signaling is mediated by their unique low density lipoprotein class A modules. *J Biol Chem*. Nov 2006;281(46): 34942-54.
37. Kern A, Agoulnik AI, Bryant-Greenwood GD. The low-density lipoprotein class A module of the relaxin receptor (leucine-rich repeat containing G-protein coupled receptor 7): its role in signaling and trafficking to the cell membrane. *Endocrinology*. Mars 2007;148(3): 1181-94.
38. Liu C, Chen J, Sutton S, Roland B, Kuei C, Farmer N, et al. Identification of relaxin-3/INSL7 as a ligand for GPCR142. *J Biol Chem*. Déc 2003;278(50):50765-70.
39. van der Westhuizen ET, Christopoulos A, Sexton PM, Wade JD, Summers RJ. H2 relaxin is a biased ligand relative to H3 relaxin at the relaxin family peptide receptor 3 (RXFP3). *Mol Pharmacol*. Mai 2010;77(5):759-72.
40. Zhu J, Kuei C, Sutton S, Kamme F, Yu J, Bonaventure P, et al. Identification of the domains in RXFP4 (GPCR142) responsible for the high affinity binding and agonistic activity of INSL5 at RXFP4 compared to RXFP3 (GPCR135). *Eur J Pharmacol*. Août 2008;590(1-3):43-52.

41. Bülesbach EE, Schwabe C. Functional importance of the A chain loop in relaxin and insulin. *J Biol Chem.* Mai 1994;269(18):13124-8.
42. Hossain MA, Rosengren KJ, Haugaard-Jönsson LM, Zhang S, Layfield S, Ferraro T, et al. The A-chain of human relaxin family peptides has distinct roles in the binding and activation of the different relaxin family peptide receptors. *J Biol Chem.* Juin 2008;283(25):17287-97.
43. Park J-I, Semyonov J, Yi W, Chang CL, Hsu SYT. Regulation of receptor signaling by relaxin A chain motifs: derivation of pan-specific and LGR7-specific human relaxin analogs. *J Biol Chem.* Nov 2008;283(46):32099-109.
44. Liu C, Chen J, Kuei C, Sutton S, Nepomuceno D, Bonaventure P, et al. Relaxin-3/insulin-like peptide 5 chimeric peptide, a selective ligand for G protein-coupled receptor (GPCR)135 and GPCR142 over leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 7. *Mol Pharmacol.* Janv 2005;67(1):231-40.
45. Del Borgo MP, Hughes RA, Bathgate RAD, Lin F, Kawamura K, Wade JD. Analogs of insulin-like peptide 3 (INSL3) B-chain are LGR8 antagonists in vitro and in vivo. *J Biol Chem.* Mai 2006;281(19):13068-74.
46. Kohsaka T, Min G, Lukas G, Trupin S, Campbell ET, Sherwood OD. Identification of specific relaxin-binding cells in the human female. *Biol Reprod.* Oct 1998;59(4):991-9.
47. Bond CP, Parry LJ, Samuel CS, Gehring HM, Lederman FL, Rogers PAW, et al. Increased expression of the relaxin receptor (LGR7) in human endometrium during the secretory phase of the menstrual cycle. *Ann N Y Acad Sci.* Mai 2005;1041:136-43.
48. Ivell R, Balvers M, Pohnke Y, Telgmann R, Bartsch O, Milde-Langosch K, et al. Immunoexpression of the relaxin receptor LGR7 in breast and uterine tissues of humans and primates. *Reprod Biol Endocrinol RBE.* Nov 2003;1:114.
49. Charafe-Jauffret E, Chaffanet M, Bertucci F, Ginestier C, Jacquemier J, deLapeyrière O, et al. Towards an integrated cellular and molecular: Definition of breast cancers. *Médecine Sci MS.* Juin 2007;23:626-32.
50. Osheroff PL, Phillips HS. Autoradiographic localization of relaxin binding sites in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Août 1991;88(15):6413-7.
51. Tan YY, Wade JD, Tregeair GW, Summers RJ. Quantitative autoradiographic studies of relaxin binding in rat atria, uterus and cerebral cortex: characterization and effects of oestrogen treatment. *Br J Pharmacol.* Mai 1999;127(1):91-8.
52. Sunn N, Egli M, Burazin TCD, Burns P, Colvill L, Davern P, et al. Circulating relaxin acts on subfornical organ neurons to stimulate water drinking in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Févr 2002;99(3):1701-6.
53. McKinley MJ, Allen AM, Burns P, Colvill LM, Oldfield BJ. Interaction of circulating hormones with the brain: the roles of the subfornical organ and the organum vasculosum of the lamina terminalis. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl.* Nov 1998; 25:S61-67.

54. Dschietzig T, Alexiou K, Kinkel H-T, Baumann G, Matschke K, Stangl K. The positive inotropic effect of relaxin-2 in human atrial myocardium is preserved in end-stage heart failure: role of G(i)-phosphoinositide-3 kinase signaling. *J Card Fail.* Févr 2011;17(2):158-66.
55. Piedras-Rentería ES, Sherwood OD, Best PM. Effects of relaxin on rat atrial myocytes. I. Inhibition of I(to) via PKA-dependent phosphorylation. *Am J Physiol. Avr* 1997;272(4 Pt 2):H1791-1797.
56. Piedras-Rentería ES, Sherwood OD, Best PM. Effects of relaxin on rat atrial myocytes. II. Increased calcium influx derived from action potential prolongation. *Am J Physiol. Avr* 1997;272(4 Pt 2):H1798-1803.
57. Ferlin A, Pepe A, Gianesello L, Garolla A, Feng S, Giannini S, et al. Mutations in the insulin-like factor 3 receptor are associated with osteoporosis. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* Mai 2008;23(5):683-93.
58. Hombach-Klonisch S, Bialek J, Radestock Y, Truong A, Agoulnik AI, Fiebig B, et al. INSL3 has tumor-promoting activity in thyroid cancer. *Int J Cancer.* Août 2010;127(3):521-31.
59. Matsumoto M, Kamohara M, Sugimoto T, Hidaka K, Takasaki J, Saito T, et al. The novel G-protein coupled receptor SALPR shares sequence similarity with somatostatin and angiotensin receptors. *Gene.* Mai 2000;248(1-2):183-9.
60. Boels K, Schaller HC. Identification and characterisation of GPR100 as a novel human G-protein-coupled bradykinin receptor. *Br J Pharmacol.* Nov 2003;140(5):932-8.
61. Unemori EN, Lewis M, Constant J, Arnold G, Grove BH, Normand J, et al. Relaxin induces vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis selectively at wound sites. *Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc.* Oct 2000;8(5):361-70.
62. Unemori EN, Erikson ME, Rocco SE, Sutherland KM, Parsell DA, Mak J, et al. Relaxin stimulates expression of vascular endothelial growth factor in normal human endometrial cells in vitro and is associated with menometrorrhagia in women. *Hum Reprod Oxf Engl.* Mars 1999;14(3):800-6.
63. Nguyen BT, Dessauer CW. Relaxin stimulates cAMP production in MCF-7 cells upon overexpression of type V adenylyl cyclase. *Ann N Y Acad Sci.* Mai 2005;1041:296-9.
64. Zhang Q, Liu S-H, Erikson M, Lewis M, Unemori E. Relaxin activates the MAP kinase pathway in human endometrial stromal cells. *J Cell Biochem.* 2002;85(3):536-44.
65. Ahmad N, Wang W, Nair R, Kapila S. Relaxin induces matrix-metalloproteinases-9 and -13 via RXFP1: induction of MMP-9 involves the PI3K, ERK, Akt and PKC-ζ pathways. *Mol Cell Endocrinol.* Nov 2012;363(1-2):46-61.
66. Mookerjee I, Hewitson TD, Halls ML, Summers RJ, Mathai ML, Bathgate RAD, et al. Relaxin inhibits renal myofibroblast differentiation via RXFP1, the nitric oxide pathway, and Smad2. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* Avr 2009;23(4):1219-29.

67. Nistri S, Bani D. Relaxin receptors and nitric oxide synthases: search for the missing link. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. Févr 2003;1:5.
68. Nistri S, Chiappini L, Sassoli C, Bani D. Relaxin inhibits lipopolysaccharide-induced adhesion of neutrophils to coronary endothelial cells by a nitric oxide-mediated mechanism. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. Nov 2003;17(14):2109-11.
69. Bani-Sacchi T, Bigazzi M, Bani D, Mannaioni PF, Masini E. Relaxin-induced increased coronary flow through stimulation of nitric oxide production. *Br J Pharmacol*. Sept 1995;116(1):1589-94.
70. Failli P, Nistri S, Quattrone S, Mazzetti L, Bigazzi M, Sacchi TB, et al. Relaxin up-regulates inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide generation in rat coronary endothelial cells. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. Févr 2002;16(2):252-4.
71. Dschietzig T, Bartsch C, Richter C, Laule M, Baumann G, Stangl K. 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*. Janv 2003;92(1):32-40.
72. Heeg MHJ, Koziolek MJ, Vasko R, Schaefer L, Sharma K, Müller GA, et al. The antifibrotic effects of relaxin in human renal fibroblasts are mediated in part by inhibition of the Smad2 pathway. *Kidney Int*. Juill 2005;68(1):96-109.
73. Jeyabalan A, Novak J, Danielson LA, Kerchner LJ, Opett SL, Conrad KP. Essential role for vascular gelatinase activity in relaxin-induced renal vasodilation, hyperfiltration, and reduced myogenic reactivity of small arteries. *Circ Res*. Déc 2003;93(12):1249-57.
74. Massagué J. TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:753-91.
75. Masterson R, Hewitson TD, Kelynack K, Martic M, Parry L, Bathgate R, et al. Relaxin down-regulates renal fibroblast function and promotes matrix remodelling in vitro. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. Mars 2004;19(3):544-52.
76. Samuel CS, Unemori EN, Mookerjee I, Bathgate RAD, Layfield SL, Mak J, et al. Relaxin modulates cardiac fibroblast proliferation, differentiation, and collagen production and reverses cardiac fibrosis in vivo. *Endocrinology*. Sept 2004;145(9):4125-33.
77. Zhang J, Zhang X, Xie F, Zhang Z, van Dam H, Zhang L, et al. The regulation of TGF- β /SMAD signaling by protein deubiquitination. *Protein Cell*. Juill 2014;5(7):503-17.
78. Unemori EN, Amento EP. Relaxin modulates synthesis and secretion of procollagenase and collagen by human dermal fibroblasts. *J Biol Chem*. Juin 1990;265(18):10681-5.
79. Unemori EN, Pickford LB, Salles AL, Piercy CE, Grove BH, Erikson ME, et al. Relaxin induces an extracellular matrix-degrading phenotype in human lung fibroblasts in vitro and inhibits lung fibrosis in a murine model in vivo. *J Clin Invest*. Déc 1996;98(12):2739-45.

80. Bennett RG, Kharbanda KK, Tuma DJ. Inhibition of markers of hepatic stellate cell activation by the hormone relaxin. *Biochem Pharmacol*. Sept 2003;66(5):867-74.
81. Ho T-Y, Yan W, Bagnell CA. Relaxin-induced matrix metalloproteinase-9 expression is associated with activation of the NF-kappaB pathway in human THP-1 cells. *J Leukoc Biol*. Mai 2007;81(5):1303-10.
82. Singh S, Simpson RL, Bennett RG. Relaxin activates peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) through a pathway involving PPAR γ coactivator 1 α (PGC1 α). *J Biol Chem*. Janv 2015;290(2):950-9.
83. Kumagai J, Hsu SY, Matsumi H, Roh J-S, Fu P, Wade JD, et al. INSL3/Leydig insulin-like peptide activates the LGR8 receptor important in testis descent. *J Biol Chem*. Août 2002;277(35):31283-6.
84. van der Westhuizen ET, Werry TD, Sexton PM, Summers RJ. The relaxin family peptide receptor 3 activates extracellular signal-regulated kinase 1/2 through a protein kinase C-dependent mechanism. *Mol Pharmacol*. Juin 2007;71(6):1618-29.
85. Sasaguri K, Kikuchi M, Hori N, Yuyama N, Onozuka M, Sato S. Suppression of stress immobilization-induced phosphorylation of ERK 1/2 by biting in the rat hypothalamic paraventricular nucleus. *Neurosci Lett*. Juill 2005;383(1-2):160-4.
86. Ueyama E, Morikawa Y, Yasuda T, Senba E. Attenuation of fasting-induced phosphorylation of mitogen-activated protein kinases (ERK/p38) in the mouse hypothalamus in response to refeeding. *Neurosci Lett*. Nov 2004;371(1):40-4.
87. Roux PP, Blenis J. ERK and p38 MAPK-activated protein kinases: a family of protein kinases with diverse biological functions. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR*. Juin 2004;68(2):320-44.
88. Davis RJ. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell*. Oct 2000;103(2):239-52.
89. Shen C, Tsimberg Y, Salvadore C, Meller E. Activation of Erk and JNK MAPK pathways by acute swim stress in rat brain regions. *BMC Neurosci*. Sept 2004;5:36.
90. Liu C, Kuei C, Sutton S, Chen J, Bonaventure P, Wu J, et al. INSL5 is a high affinity specific agonist for GPCR142 (GPR100). *J Biol Chem*. Janv 2005;280(1):292-300.
91. Sarwar M, Du X-J, Dschietzig TB, Summers RJ. The actions of relaxin on the human cardiovascular system: Cardiovascular actions of relaxin. *Br J Pharmacol*. Mai 2017; 174(10):933-49.
92. Ivell R, Kotula-Balak M, Glynn D, Heng K, Anand-Ivell R. Relaxin family peptides in the male reproductive system-a critical appraisal. *Mol Hum Reprod*. Févr 2011;17(2):71-84.
93. Wahl LM, Blandau RJ, Page RC. Effect of hormones on collagen metabolism and collagenase activity in the pubic symphysis ligament of the guinea pig. *Endocrinology*. Févr 1977;100(2):571-9.

94. MacLennan AH, Green RC, Grant P, Nicolson R. Ripening of the human cervix and induction of labor with intracervical purified porcine relaxin. *Obstet Gynecol.* Nov 1986;68(5):598-601.
95. MacLennan AH, Nicolson R, Green RC, Bath M. Serum relaxin and pelvic pain of pregnancy. *Lancet Lond Engl.* Août 1986;2(8501):243-5.
96. Burger LL, Sherwood OD. Relaxin increases the accumulation of new epithelial and stromal cells in the rat cervix during the second half of pregnancy. *Endocrinology.* Sept 1998;139(9):3984-95.
97. Steinetz BG, Beach VL, Blye RP, Kroc RL. Changes in the composition of the rat uterus following a single injection of relaxin. *Endocrinology.* Sept 1957;61(3):287-92.
98. Krantz JC, Bryant HH, Carr CJ. The action of aqueous corpus luteum extract upon uterine activity. *Surg Gynecol Obstet.* Mars 1950;90(3):372-5.
99. Einspanier A, Müller D, Lubberstedt J, Bartsch O, Jurdzinski A, Fuhrmann K, et al. Characterization of relaxin binding in the uterus of the marmoset monkey. *Mol Hum Reprod.* Oct 2001;7(10):963-70.
100. Osheroff PL, Cronin MJ, Lofgren JA. Relaxin binding in the rat heart atrium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Mars 1992;89(6):2384-8.
101. Hurley WL, Doane RM, O'Day-Bowman MB, Winn RJ, Mojonnier LE, Sherwood OD. Effect of relaxin on mammary development in ovariectomized pregnant gilts. *Endocrinology.* Mars 1991;128(3):1285-90.
102. Hisaw FL, Hisaw FL, Dawson AB. Effects of relaxin on the endothelium of endometrial blood vessels in monkeys (*Macaca mulatta*). *Endocrinology.* Août 1967;81(2):375-85.
103. Seibold JR, Korn JH, Simms R, Clements PJ, Moreland LW, Mayes MD, et al. Recombinant human relaxin in the treatment of scleroderma. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* Juin 2000;132(11):871-9.
104. Bell RJ, Eddie LW, Lester AR, Wood EC, Johnston PD, Niall HD. Relaxin in human pregnancy serum measured with an homologous radioimmunoassay. *Obstet Gynecol.* Avr 1987;69(4):585-9.
105. Hayes ES, Curnow EC, Trounson AO, Danielson LA, Unemori EN. Implantation and pregnancy following in vitro fertilization and the effect of recombinant human relaxin administration in *Macaca fascicularis*. *Biol Reprod.* Nov 2004;71(5):1591-7.
106. Ghosh D, Stewart DR, Nayak NR, Lasley BL, Overstreet JW, Hendrickx AG, et al. Serum concentrations of oestradiol-17 β , progesterone, relaxin and chorionic gonadotrophin during blastocyst implantation in natural pregnancy cycle and in embryo transfer cycle in the rhesus monkey. *Hum Reprod Oxf Engl.* Mai 1997;12(5):914-20.
107. Ferlin A, Menegazzo M, Gianesello L, Selice R, Foresta C. Effect of relaxin on human sperm functions. *J Androl.* Juin 2012;33(3):474-82.

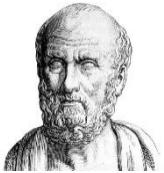
108. Samuel CS, Tian H, Zhao L, Amento EP. Relaxin is a key mediator of prostate growth and male reproductive tract development. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* Juill 2003;83(7):1055-67.
109. Lindheimer MD, Barron WM, Davison JM. Osmoregulation of thirst and vasopressin release in pregnancy. *Am J Physiol.* Août 1989;257(2 Pt 2):F159-169.
110. Johnson MR, Brooks AA, Steer PJ. The role of relaxin in the pregnancy associated reduction in plasma osmolality. *Hum Reprod Oxf Engl.* Mai 1996;11(5):1105-8.
111. Omi EC, Zhao S, Shanks RD, Sherwood OD. Evidence that systemic relaxin promotes moderate water consumption during late pregnancy in rats. *J Endocrinol.* Avr 1997; 153(1):33-40.
112. Ma S, Roozendaal B, Burazin TCD, Tregear GW, McGaugh JL, Gundlach AL. Relaxin receptor activation in the basolateral amygdala impairs memory consolidation. *Eur J Neurosci.* Oct 2005;22(8):2117-22.
113. Way SA, Leng G. Relaxin increases the firing rate of supraoptic neurones and increases oxytocin secretion in the rat. *J Endocrinol.* Janv 1992;132(1):149-58.
114. Conrad KP, Novak J. Emerging role of relaxin in renal and cardiovascular function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* Août 2004;287(2):R250-261.
115. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* Févr 2004;350(7):672-83.
116. Unemori E, Sibai B, Teichman SL. Scientific rationale and design of a phase I safety study of relaxin in women with severe preeclampsia. *Ann N Y Acad Sci.* Avr 2009;1160:381-4.
117. Haase N, Golic M, Herse F, Rugor J, Linz D, Solano ME, et al. Relaxin Treatment in an Ang-II-Based Transgenic Preeclamptic-Rat Model. *PloS One.* 2016;11(3):e0150743.
118. Bani D, Failli P, Bello MG, Thiemermann C, Bani Sacchi T, Bigazzi M, et al. Relaxin activates the L-arginine-nitric oxide pathway in vascular smooth muscle cells in culture. *Hypertens Dallas Tex* 1979. Juin 1998;31(6):1240-7.
119. Jeyabalan A, Novak J, Doty KD, Matthews J, Fisher MC, Kerchner LJ, 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.* Janv 2007;148(1):189-97.
120. Jeyabalan A, Kerchner LJ, Fisher MC, McGuane JT, Doty KD, Conrad KP. Matrix metalloproteinase-2 activity, protein, mRNA, and tissue inhibitors in small arteries from pregnant and relaxin-treated nonpregnant rats. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. Juin 2006;100(6):1955-63.
121. Teerlink JR, Metra M, Felker GM, Ponikowski P, Voors AA, Weatherley BD, 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 Lond Engl.* Avr 2009;373(9673):1429-39.

122. Bani D, Masini E, Bello MG, Bigazzi M, Sacchi TB. Relaxin protects against myocardial injury caused by ischemia and reperfusion in rat heart. *Am J Pathol*. Mai 1998;152(5): 1367-76.
123. Dschietzig T, Richter C, Bartsch C, Laule M, Armbruster FP, Baumann G, et al. The pregnancy hormone relaxin is a player in human heart failure. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. Oct 2001;15(12):2187-95.
124. Dschietzig T, Teichman S, Unemori E, Wood S, Boehmer J, Richter C, et al. Intravenous recombinant human relaxin in compensated heart failure: a safety, tolerability, and pharmacodynamic trial. *J Card Fail*. Avr 2009;15(3):182-90.
125. Metra M, Teerlink JR, Cotter G, Davison BA, Felker GM, Filippatos G, et al. Effects of Serelaxin in Patients with Acute Heart Failure. *N Engl J Med*. 22 2019;381(8):716-26.
126. Erikson MS, Unemori EN. Relaxin clinical trials in systemic sclerosis. *Relaxin 2000: Proceedings of the Third International Conference on Relaxin and Related Peptides*. 2001.
127. Samuel CS, Zhao C, Bathgate RAD, Bond CP, Burton MD, Parry LJ, et al. Relaxin deficiency in mice is associated with an age-related progression of pulmonary fibrosis. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. Janv 2003;17(1):121-3.
128. Samuel CS, Zhao C, Bond CP, Hewitson TD, Amento EP, Summers RJ. Relaxin-1-deficient mice develop an age-related progression of renal fibrosis. *Kidney Int*. Juin 2004;65(6): 2054-64.
129. Stewart DR. Scar Prevention and Cosmetically Enhanced Wound Healing Using Relaxin. *Ann N Y Acad Sci*. Avr 2009;1160(1):336-41.
130. Yun IS, Kang E, Ahn HM, Kim YO, Rah DK, Roh TS, et al. Effect of Relaxin Expression from an Alginate Gel-Encapsulated Adenovirus on Scar Remodeling in a Pig Model. *Yonsei Med J*. 2019;60(9):854.
131. Feng S, Agoulnik IU, Bogatcheva NV, Kamat AA, Kwabi-Addo B, Li R, et al. Relaxin promotes prostate cancer progression. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. Mars 2007;13(6):1695-702.
132. Silvertown JD, Symes JC, Neschadim A, Nonaka T, Kao JCH, Summerlee AJS, et al. Analog of H2 relaxin exhibits antagonistic properties and impairs prostate tumor growth. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. Mars 2007;21(3):754-65.
133. Kamat AA, Feng S, Agoulnik IU, Kheradmand F, Bogatcheva NV, Coffey D, et al. The role of relaxin in endometrial cancer. *Cancer Biol Ther*. Janv 2006;5(1):71-7.
134. Binder C, Simon A, Binder L, Hagemann T, Schulz M, Emons G, et al. Elevated concentrations of serum relaxin are associated with metastatic disease in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. Sept 2004;87(2):157-66.

135. Hombach-Klonisch S, Bialek J, Trojanowicz B, Weber E, Holzhausen H-J, Silvertown JD, et al. Relaxin enhances the oncogenic potential of human thyroid carcinoma cells. *Am J Pathol.* Août 2006;169(2):617-32.
136. Fu P, Shen P-J, Zhao C-X, Scott DJ, Samuel CS, Wade JD, et al. Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 8 in mature glomeruli of developing and adult rat kidney and inhibition by insulin-like peptide-3 of glomerular cell proliferation. *J Endocrinol.* Mai 2006;189(2):397-408.
137. Tanaka M, Iijima N, Miyamoto Y, Fukusumi S, Itoh Y, Ozawa H, et al. Neurons expressing relaxin 3/INSL 7 in the nucleus incertus respond to stress. *Eur J Neurosci.* Mars 2005;21(6):1659-70.
138. McGowan BMC, Stanley SA, Smith KL, White NE, Connolly MM, Thompson EL, et al. Central relaxin-3 administration causes hyperphagia in male Wistar rats. *Endocrinology.* Août 2005;146(8):3295-300.
139. Sutton SW, Shelton J, Smith C, Williams J, Yun S, Motley T, et al. Metabolic and neuroendocrine responses to RXFP3 modulation in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci.* Avr 2009;1160:242-9.
140. Bathgate RAD, Lin F, Hanson NF, Otvos L, Guidolin A, Giannakis C, et al. Relaxin-3: improved synthesis strategy and demonstration of its high-affinity interaction with the relaxin receptor LGR7 both in vitro and in vivo. *Biochemistry.* Janv 2006;45(3):1043-53.
141. Nicozisis JL, Nah-Cederquist H-D, Tuncay OC. Relaxin affects the dentofacial sutural tissues. *Clin Orthod Res.* Nov 2000;3(4):192-201.
142. Stewart DR, Sherick P, Kramer S, Breining P. Use of Relaxin in Orthodontics. *Ann N Y Acad Sci.* Mai 2005;1041(1):379-87.
143. Liu ZJ, King GJ, Gu GM, Shin JY, Stewart DR. Does Human Relaxin Accelerate Orthodontic Tooth Movement in Rats? *Ann N Y Acad Sci.* Mai 2005;1041(1):388-94.
144. Madan MS, Liu ZJ, Gu GM, King GJ. Effects of human relaxin on orthodontic tooth movement and periodontal ligaments in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* Janv 2007;131(1):8.e1-8.e10.
145. Henneman S, Bildt MM, Degroot J, Kuijpers-Jagtman AM, Von den Hoff JW. Relaxin stimulates MMP-2 and alpha-smooth muscle actin expression by human periodontal ligament cells. *Arch Oral Biol.* Févr 2008;53(2):161-7.
146. Lorimier S, Kemoun P. Histophysiologie du parodonte. *EMC - Médecine buccale* 2012; 7(6):1-23 [Article 28-090-C-10]
147. Takano M, Yamaguchi M, Nakajima R, Fujita S, Kojima T, Kasai K. Effects of relaxin on collagen type I released by stretched human periodontal ligament cells. *Orthod Craniofac Res.* Nov 2009;12(4):282-8.

148. Hirate Y, Yamaguchi M, Kasai K. Effects of Relaxin on Relapse and Periodontal Tissue Remodeling after Experimental Tooth Movement in Rats. *Connect Tissue Res.* Juin 2012;53(3):207-19.
149. McGorray SP, Dolce C, Kramer S, Stewart D, Wheeler TT. A randomized, placebo-controlled clinical trial on the effects of recombinant human relaxin on tooth movement and short-term stability. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* Févr 2012;141(2):196-203.
150. Teissier N, Bennaceur S. Traitement primaire des fentes labiales et palatines. 2019;15.
151. Talmant J-C, Talmant J-C, Lumineau J-P. Fentes labiales et palatines. Traitement primaire. *EMC - Tech Chir - Chir Plast Reconstr Esthét.* Janv 2011;6(3):1-26.
152. Mercier J. Traitement des fentes congénitales labio-alvéolo-maxillaires et vélopalatines. *Wwwem-Premiumcomdatatraitespem04-17593* [Internet]. [cité 19 janv 2020]; Disponible sur: <https://www-em-premium-com.lama.univ-amu.fr/article/10121/resultatrecherche/1>
153. Bennaceur S, Touré R, André CV, Guenane Y, Teissiier N. La cheiloplastie secondaire dans le traitement des fentes labio-palatines. *Ann Chir Plast Esthét.* Nov 2019;64(5-6):413-31.
154. Talmant JC, Talmant JC, Lumineau JP. Traitement secondaire des fentes labio-palatines. *Ann Chir Plast Esthét.* Oct 2016;61(5):360-70.
155. Nichter LS, Abrams RS. Keloid formation after cleft lip repair. *Plast Reconstr Surg.* Nov 1988;82(5):923-4.
156. Franchi G, Neiva-Vaz C, Picard A, Vazquez M-P. Injections d'acides hyaluroniques au niveau de visages atteints de malformations faciales. Étude préliminaire de l'assouplissement des zones cicatricielles et de l'amélioration esthétique. *Ann Chir Plast Esthét.* Juin 2018;63(3):197-204.
157. Sebaoun J-DM, Surmenian J, Dibart S. [Accelerated orthodontic treatment with piezocision: a mini-invasive alternative to conventional corticotomies]. *Orthod Francaise.* Déc 2011;82(4):311-9.
158. Charavet C, Lecloux G, Bruwier A, Rompen E, Maes N, Limme M, et al. Localized Piezoelectric Alveolar Decortication for Orthodontic Treatment in Adults: A Randomized Controlled Trial. *J Dent Res.* Août 2016;95(9):1003-9.
159. Charavet C, Lecloux G, Jackers N, Albert A, Lambert F. Piezocision-assisted orthodontic treatment using CAD/CAM customized orthodontic appliances: a randomized controlled trial in adults. *Eur J Orthod.* Sept 2019;41(5):495-501.
160. Charavet C, Lambert F, Lecloux G, Le Gall M. Traitement orthodontique accéléré par corticotomies : quelles sont les alternatives minimalement invasives ? *Orthod Fr.* Mars 2019;90(1):5-12.
161. Charavet C, Lecloux G, Jackers N, Maes N, Lambert F. Patient-reported outcomes measures (PROMs) following a piezocision-assisted versus conventional orthodontic treatments: a randomized controlled trial in adults. *Clin Oral Investig.* déc 2019;23(12):4355-63.

162. Nevesny C. Le traitement orthodontique: peut-on réellement l'accélérer? Thèse de 2^{ème} cycle, Marseille, 2019.
163. Monnet-Corti V, Pignoly M, Goubron C, Fouque C, Melloul S, Lugari H. Chirurgie plastique parodontale : indications et techniques. EMC - Médecine buccale 2019;14(3):1-16 [Article 28-642-A-10].
164. Veyssiere A, Kun-Darbois JD, Paulus C, Chatellier A, Caillot A, Bénateau H. Diagnostic et prise en charge de l'ankyloglossie chez le jeune enfant. Rev Stomatol Chir Maxillo-Faciale Chir Orale. Sept 2015;116(4):215-20.
165. Klockars T, Pitkäranta A. Pediatric tongue-tie division: Indications, techniques and patient satisfaction. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. Oct 2009;73(10):1399-401.
166. Zaidi M. Skeletal remodeling in health and disease. Nat Med. Juill 2007;13(7):791-801.
167. Ferlin A, Pepe A, Faccioli A, Gianesello L, Foresta C. Relaxin stimulates osteoclast differentiation and activation. Bone. Févr 2010;46(2):504-13.
168. Gazzero E, Canalis E. Bone morphogenetic proteins and their antagonists. Rev Endocr Metab Disord. Juin 2006;7(1-2):51-65.
169. Tsuji K, Bandyopadhyay A, Harfe BD, Cox K, Kakar S, Gerstenfeld L, et al. BMP2 activity, although dispensable for bone formation, is required for the initiation of fracture healing. Nat Genet. Déc 2006;38(12):1424-9.
170. Moon J-S, Kim S-H, Oh S-H, Jeong Y-W, Kang J-H, Park J-C, et al. Relaxin augments BMP-2-induced osteoblast differentiation and bone formation. J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res. Juill 2014;29(7):1586-96.
171. Duarte C, Kobayashi Y, Kawamoto T, Moriyama K. RELAXIN enhances differentiation and matrix mineralization through Relaxin/insulin-like family peptide receptor 2 (Rxfp2) in MC3T3-E1 cells in vitro. Bone. Août 2014;65:92-101.
172. Duarte C, Kobayashi Y, Morita J, Kawamoto T, Moriyama K. A preliminary investigation of the effect of relaxin on bone remodelling in suture expansion. Eur J Orthod. 01 2017;39(3):227-34.
173. Kamimoto H, Kobayashi Y, Moriyama K. Relaxin 2 carried by magnetically directed liposomes accelerates rat midpalatal suture expansion and subsequent new bone formation. Bone Rep. Juin 2019;10:100202.



SERMENT MEDICAL

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'HIPPOCRATE.

Je promets et je jure, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine Dentaire.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

J'informerai mes patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des connaissances pour forcer les consciences.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois déshonoré et méprisé de mes confrères si j'y manque.

VIEILLARD Pierre – La relaxine : état des lieux et applications au domaine orthodontique

Th. : Chir. dent. : Marseille : Aix-Marseille Université : 2020

Rubrique de classement : Orthopédie Dento-faciale

Résumé :

La relaxine-2 humaine, plus simplement dénommée relaxine, est une hormone polypeptidique synthétisée dans les organes sexuels masculins et féminins. Elle agit sur ses récepteurs, les RXFPs, dont la localisation au sein du corps humain est ubiquitaire et dont l'activation induit un ensemble de réactions intracellulaires se traduisant par le déclenchement de nombreuses voies de signalisation. La relaxine possède, entre autres, des effets vasodilatateurs, anti-apoptotiques, anti-fibrotiques, angiogéniques et anti-inflammatoires. Au niveau orthodontique, elle a été testée à plusieurs reprises dans l'accélération des traitements ou la diminution de la récidive mais ces recherches n'ont abouti à aucune commercialisation ou protocole d'utilisation concret. Les recherches à son égard se dirigent plus désormais vers la capacité qu'elle aurait à accélérer la cicatrisation et moduler le métabolisme des tissus mous et squelettiques. Ces propriétés lui permettraient de grandement faciliter la prise en charge de patients porteurs de fentes ou chez qui nos possibilités thérapeutiques sont largement réduites par la fin de leur croissance.

Mots clés :

Relaxine

Cicatrisation

Fentes labio-alvéolo-palatinas

Suture intermaxillaire

VIEILLARD Pierre – Relaxin: overview and applications in the orthodontic field

Abstract:

Human relaxin-2, more simply referred to as relaxin, is a polypeptide hormone produced in the male and female sexual organs. It acts on its receptors, the RXFPs, whose localization within the human body is ubiquitous and whose activation induces a set of intracellular reactions resulting in the triggering of numerous signaling pathways. Relaxin has, inter alia, vasodilator, anti-apoptotic, anti-fibrotic, angiogenic and anti-inflammatory effects. At the orthodontic level, it has been tested several times in the acceleration of treatments or the reduction of relapse but these researches did not lead to any marketing or concrete protocol of use. Research is now directed more towards the ability it would have to accelerate healing and modulate the metabolism of soft and skeletal tissues. These properties would allow relaxin to greatly facilitate the care of patients clefted or whose therapeutic possibilities are greatly reduced by the end of their growth.

MeSH:

Relaxin

Healing

Cleft lip and palate

Midpalatal suture

Adresse de l'auteur :

63 rue de la République

13002 MARSEILLE