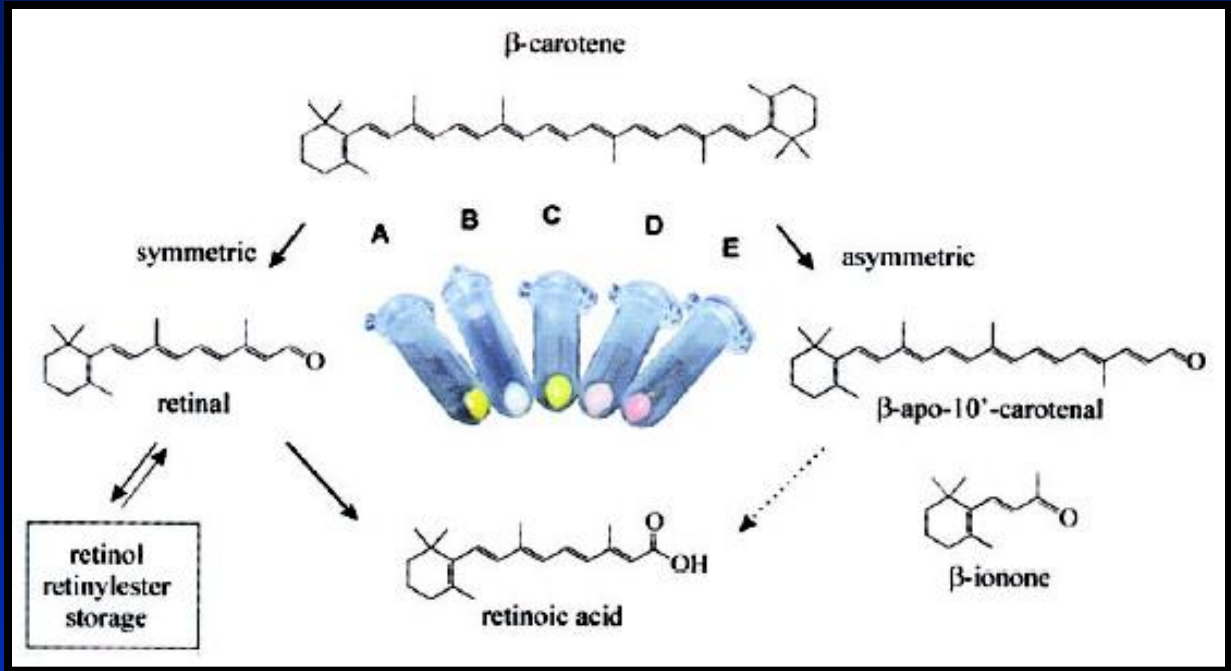


# **Biologie vitaminu A a jeho úloha ve fyziologii živočichů**

**E-mail: [jipa@sci.muni.cz](mailto:jipa@sci.muni.cz)**

**Tel: 532 146 223 / 116**

# KAROTENOIDY



 abscisic acid β-ionone safranal	 retinoic acid retinal retinol	 retinal 3-hydroxy-retinal 3-hydroxy-retinol
 <b>plants</b>	 <b>mammals</b>	 <b>arthropods</b>

von Linting, 2006

## RETINOIDY

- **Vitamin A** jsou obecně lipofilní látky podobné struktury a aktivity (**retinol, retinal, kyselina retinová**)
- Prekurzory retinoidů jsou karotenoidy, zejména  $\beta$ -karoten (~ 50 z >400 je využitelných)
- Nejdůležitějším derivátem je **kyselina retinová (RA)**, odvozená od **retinalu**

retinyl estery  $\leftrightarrow$  retinol (vit. A)  $\leftrightarrow$  retinal  $\leftrightarrow$  kyselina retinová (RA – retinoic acid)

- Tělo je přijímá v potravě, karotenoidy v rostlinné, vitamin A a jeho deriváty v živočišné

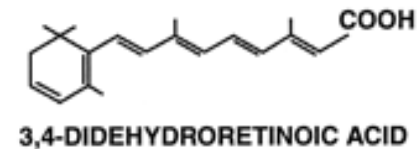
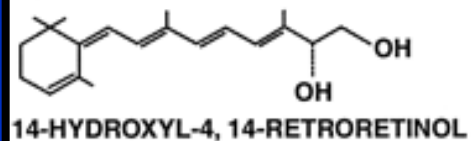
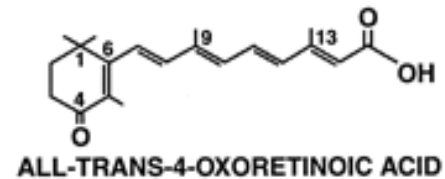
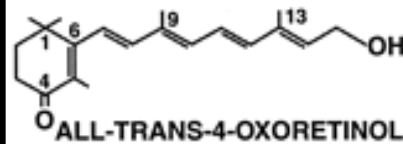
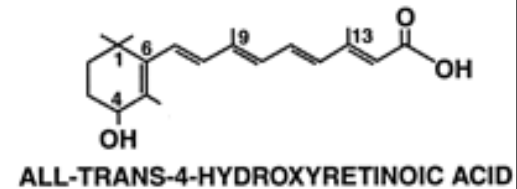
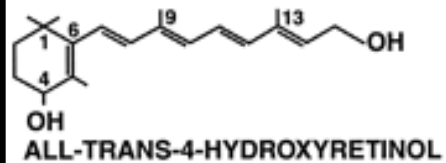
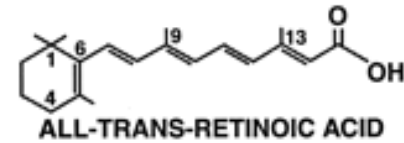
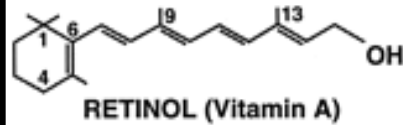
Retinol equivalent (RE) = retinol v potravě ( $\mu\text{g}$ ) +  $\frac{\beta\text{-karoten } (\mu\text{g})}{6}$  +  $\frac{\text{ostatní karotenoidy } (\mu\text{g})}{12}$

RE u žen ~ 800  $\mu\text{g}$  na den

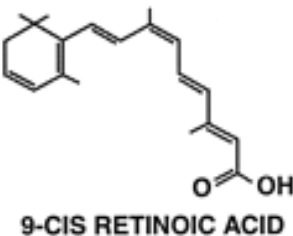
RE u mužů ~ 1000  $\mu\text{g}$  na den

# STRUKTURY NEJBĚŽNĚJŠÍCH PŘIROZENÝCH RETINOIDŮ

## Natural Retinoids



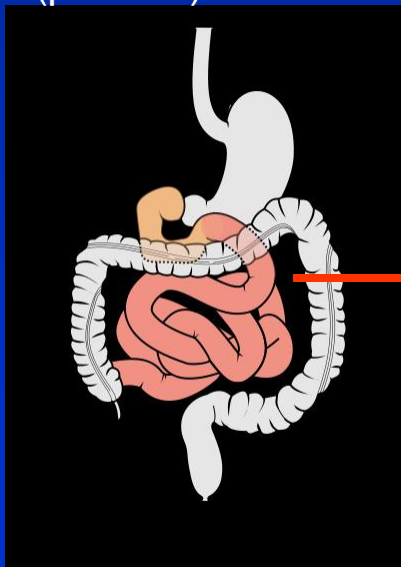
Ross, 2000



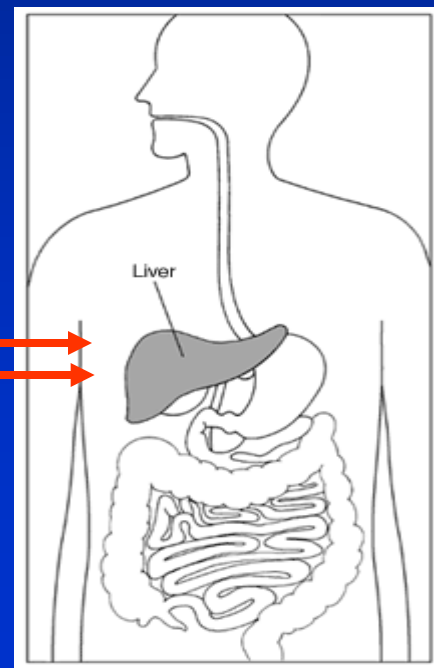
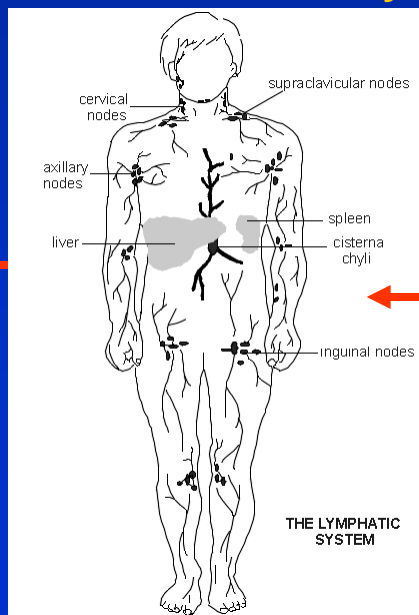
# Distribuce retinoidů v organismu

Retinoidy jsou resorbovány v tenkém střevě, v enterocytech se karotenoidy mění na aktivní retinoidy (retinyl estery), s lipidy a dalšími lipofilními látkami tvořícími chylomikrony jsou uvozeny do lymfatického systému odkud se postupně uvolňují do celkového tělního oběhu. Zásoba je vytvářena v játrech (50-85% celkového) v lipidových kapénkách ve hvězdicovitých buňkách jater.

**karoteny & retinoidy**  
(potrava)



**retinyl estery**



## Distribuce retinoidů v organismu

- 90% retinoidů je v těle v podobě retinyl esterů v lipidové složce chylomikronů, část jich může být i přímo v buněčných membránách.
- beta-karoteny mohou být navíc uloženy v tukové tkáni
- v případě potřeby (mobilizace zásob) je retinol uvolňován z jater do krve, vázaný s v hepatocytech syntetizovaným proteinem RBP (retinol vázající (binding) protein). Tento komplex (holo-RBP) se váže s transthyretinem (TTR, prealbumin), čímž je zabráněno vylučování retinolu v ledvinách. Takto v plasmě cirkulující retinol je připraven ke zpracování v cílových buňkách.
- K přeměně na koněčné funkční retinoidy dochází až v místě spotřeby.

**! Retinoidy tedy působí zejména autokrinně a parakrinně !**

## **Kyselina retinová (RA)**

**MORFOGEN & TERATOGEN**

**PLEIOTROPNÍ VLASTNOSTI**

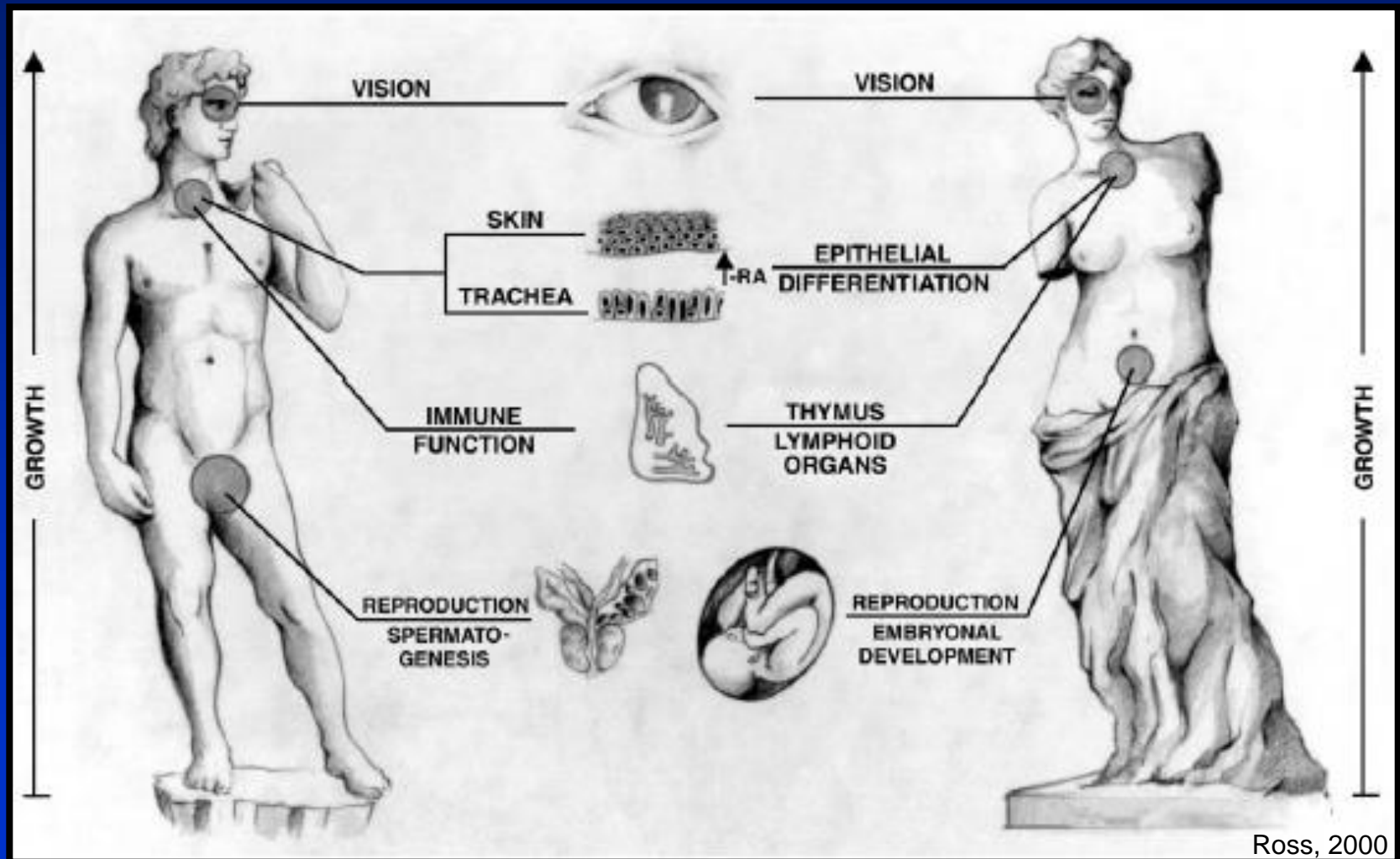
**V průběhu embryonálního vývoje je metabolismus RA nezbytný zejména pro formování tělní osy a segmentaci (*Hox geny*), vývoj CNS, očí, srdce, ledvin, pohlavních orgánů, a epitelů obecně.**

**U dospělců se pak podílí zejména na udržování homeostáze imunitního systému, epitelů a zrání pohlavních buněk (spermatogenezi).**

# Výběr nejvýznamnějších oblastí vyžadujících metabolismus retinolu/vit.A

## A) fotorecepce

## B) růst a vývoj organismu

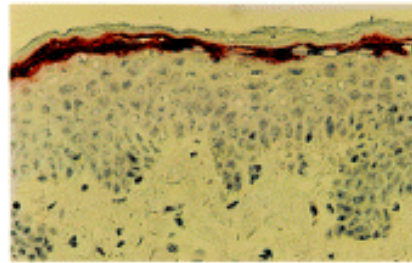
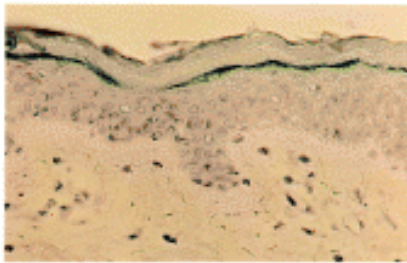




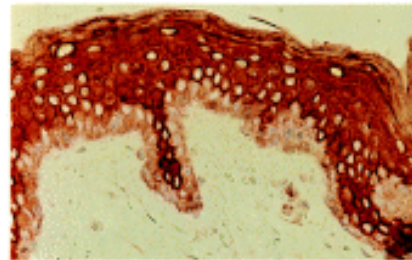
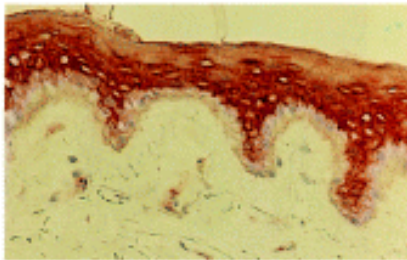
Control

All-trans RA

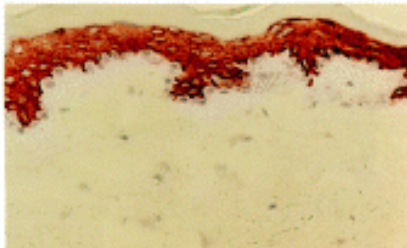
K4



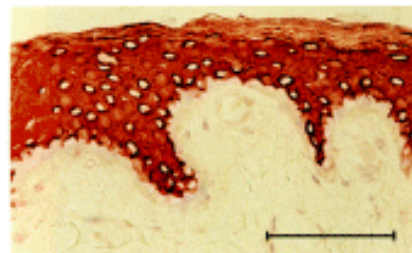
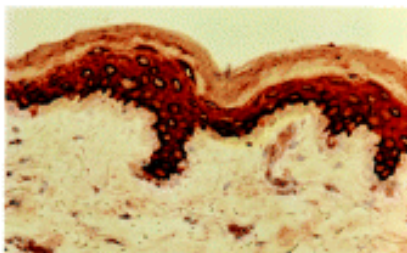
K2e



K1

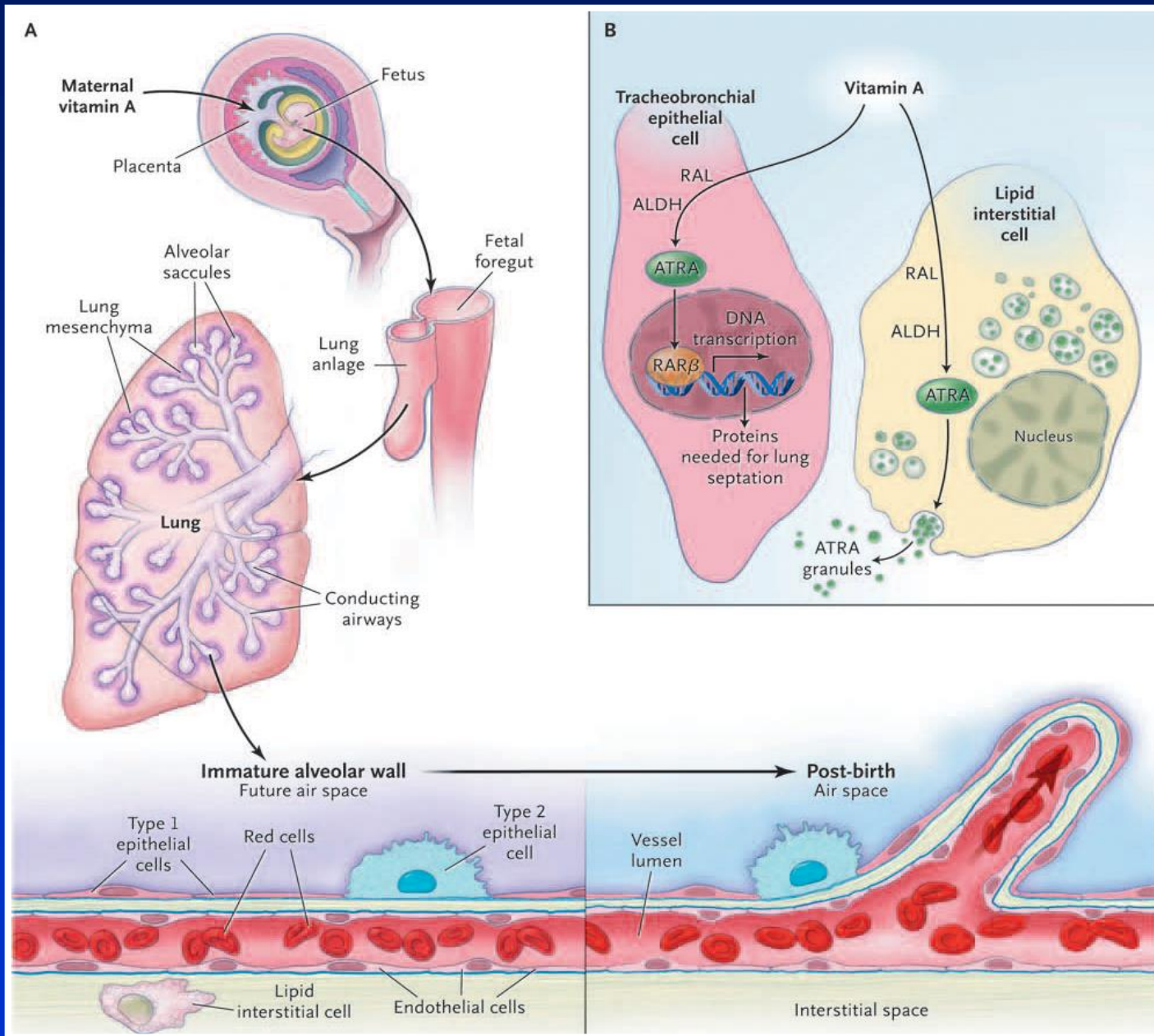


K10

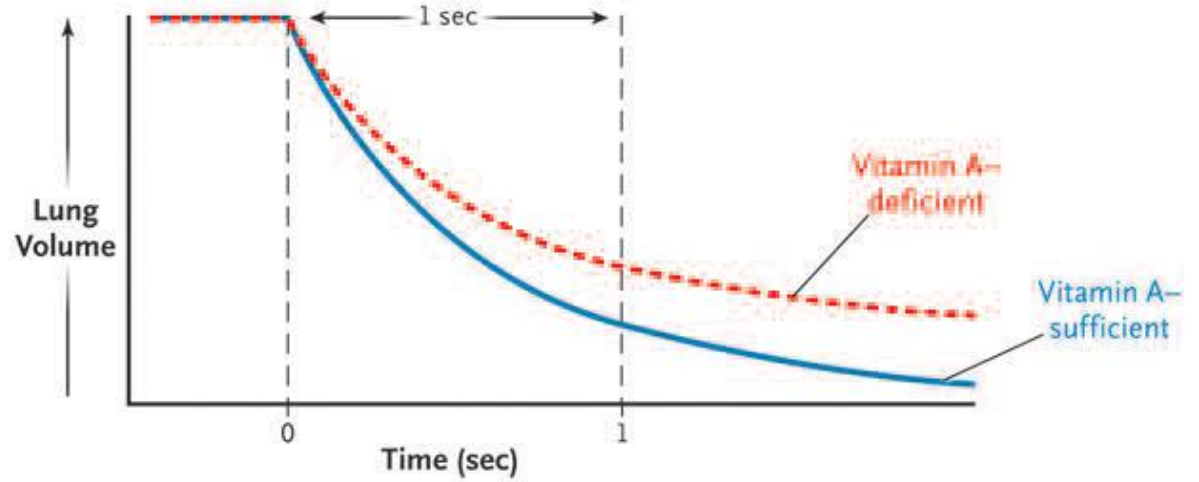
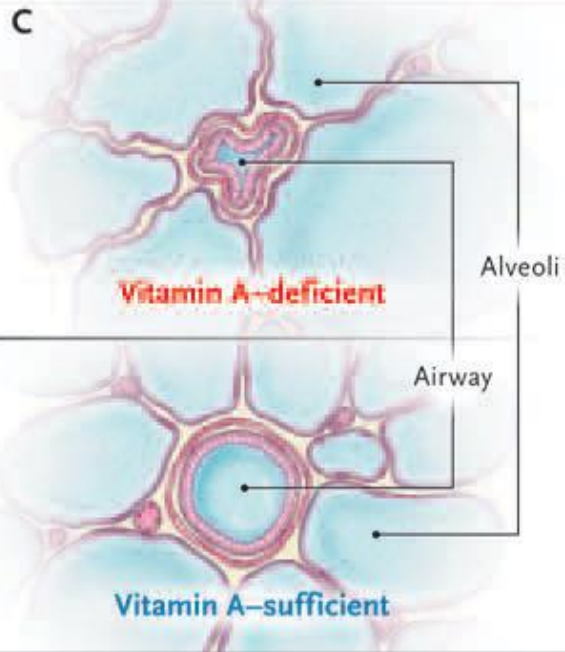


Účinek RA na epidermis

# Úloha RA ve vývoji plic

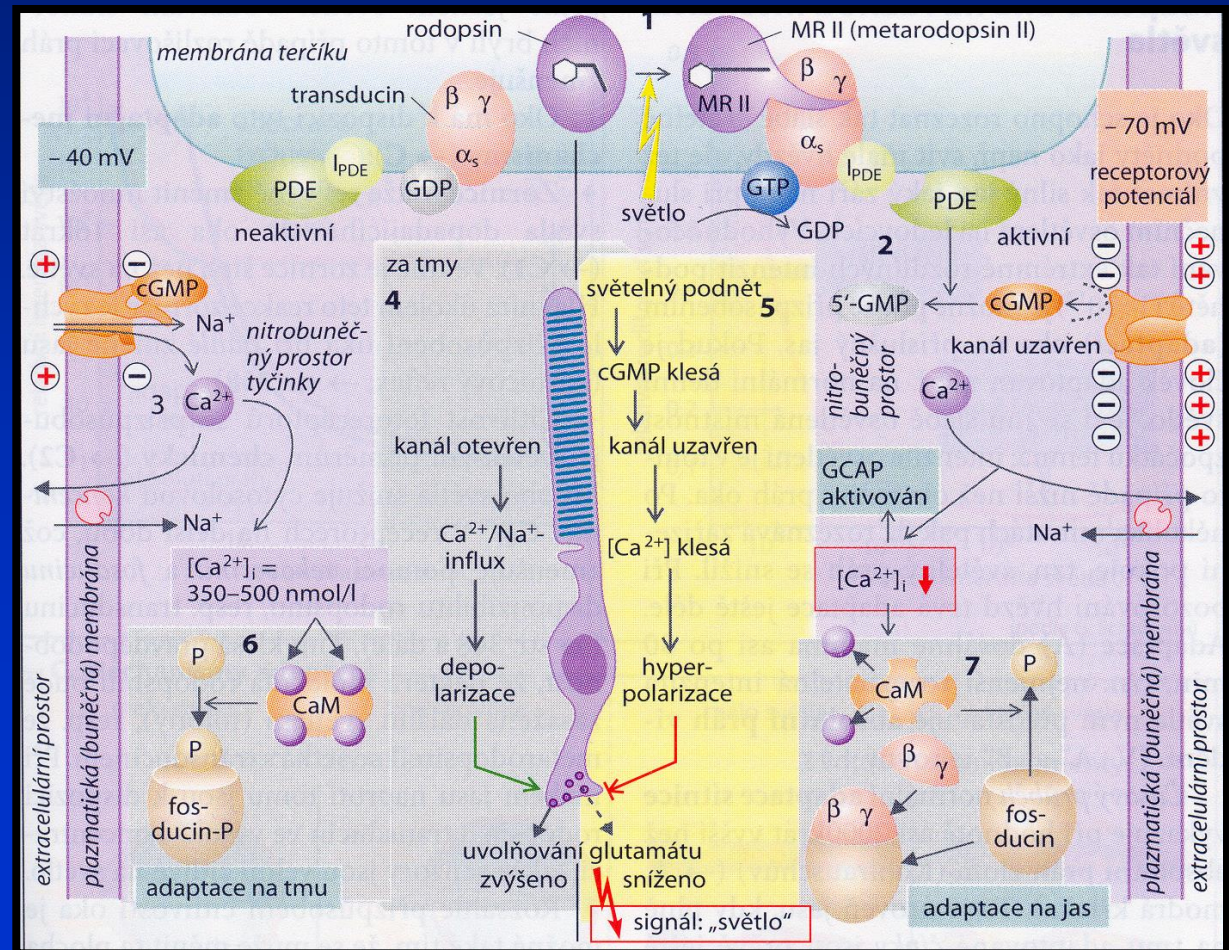
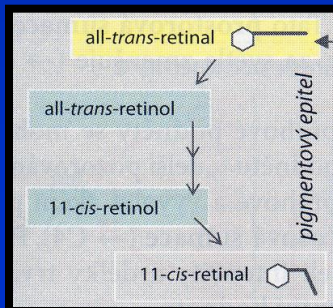
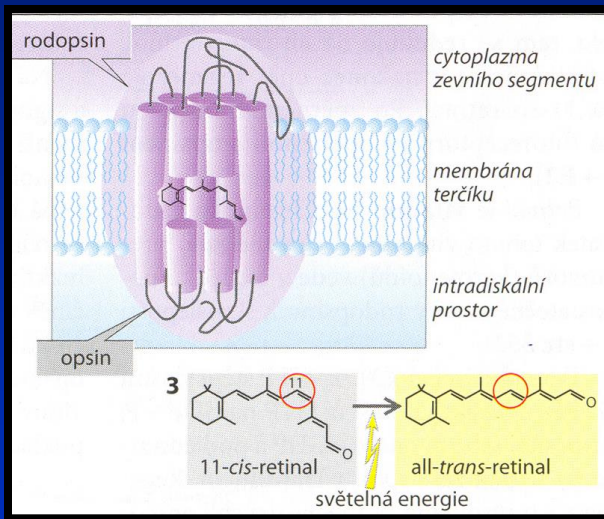


# Úloha RA ve vývoji plic



# ÚLOHA RETINOIDŮ VE FOTORECEPCI

retinyl estery  $\leftrightarrow$  retinol  $\leftrightarrow$  retinal  $\leftrightarrow$  kyselina retinová  
(vit. A) (RA – retinoic acid)



# **Mechanismy regulující účinky RA v buňce**

**- proteiny jejího metabolismu**

## **a) Enzymy**

**Metabolismus retinoidů, zejména oxidace.**

## **b) Retinoidy vázající proteiny**

**Zásoba v buňce, regulace jejich intracelulární koncentrace, transport.**

## **c) Jaderné receptory RA (transkripční faktory)**

**Realizace transkripce na RA závislých i nezávislých genů.**



# ENZYMY metabolismu RA

## ENZYMY - I

### Retinol dehydrogenázy : oxidace RETINOLU -> RETINALALDEHYD

Dvě skupiny alkoholdehydrogenáz, třída I a IV. Přitom třída I se zdá málo významná pro metabolismus retinoidů, oproti třídě IV, kterou lze detekovat v oblastech intenzivního metabolismu retinoidů od 10 dpc (myš). Pravděpodobně se ale uplatňují i membránově vázané alkohol dehydrogenázy (známe 2 co oxidují retinol), upřednostňují však pouze 9-cis isomery.

## ENZYMY - II

### 2) Retinaldehyd dehydrogenázy : oxidace RETINALDEHYDŮ -> KYSELINU RETINOVOU

Tato reakce může být katalyzována i aldehyd nebo xanthin oxidázami, ale převážně je řízena retinaldehyd dehydrogenázami. Byly identifikovány 3 typy, RALDH, které s liší specifitou k retinaldehydům a distribucí v organismu.

**RALDH1** (=AHD2, ALDH1) ačkoliv je relativně málo aktivní, je silně exprimována v retině, a tak prakticky všechna RA v retině je produktem tohoto enzymu. Dále je během embryogeneze exprimována ve středním mozku (mesencefalon) a v corpus striatum. Váže také androgeny a je možné, že tak zprostředkovává interakci mezi RA a androgenními jadernými receptory.

**RALDH2** je vysoce selektivní k retinaldehydům. Začíná se exprimovat již v průběhu gastrulace a odpovídá za produkci RA ve všech tkáních závislých na RA (mozek - zejména motoneurony, mícha, srdce, ledviny, pohlavní orgány,...). RALDH2 -/- embrya hynou v důsledku neuzavření nervové trubice a poruch ve vývoji srdce, přidavkem RA, lze tyto efekty potlačit.

**RALDH3** (=V1) je sice vysoce aktivní enzym, ale málo specifický k oxidaci retinaldehydům. U časných embryí je exprimována ve ventrální části retiny a v gangliích koncového mozku (telencephalon). Později je přítomen zejména v játrech a kůži. Společně s RALDH1 u embryí katalyzuje přeměnu gamma-aminobutyraldehydu na GABA.



## ENZYMY - III

**CYP26 (=P450RAI) : oxidace KYSELINY RETINOVÉ -> KYSELINU 4-OXORETINOVOU**

(Hydroxyláza kyseliny retinové, dvě formy CYP26A1 a CYP26B1)

**CYP26 je členem velké rodiny cytochromů P450. V současné době je jediným známým enzymem katabolizujícím RA. Exprese CYP26 je indukována RA, a je přítomen minimálně ve všech buňkách s metabolismem RA a v buňkách citlivých k působení RA. Jeho podíl na deaktivaci RA není však plně objasněn. Např. u žab, 4-oxoRA je silným aktivátorem receptorů RA a tak i buněčných regulací citlivých k RA.**

Je pravděpodobné, že enzymů metabolizujících retinoidy je více, avšak s menším významem než výše jmenovaní. Jejich exprese, podobně jako syntéza RA je v průběhu embryonálního vývoje velice dynamická v závislosti na typu tkáně a vývojovém období. Obecně je souhra v jejich expresi a aktivitě nezbytná pro segmentaci (zejména regulace **Hox** genů) vyvíjejícího se embrya.



## Retinoidy vázající proteiny

### 1) Intracelulární

#### a) Buněčný retinol vázající protein (CRBP – cellular retinol binding protein)

Váže retinol i retinaldehyd a chrání je před oxidacemi a světlem. Retinol vázaný na CRBP-1 však může být oxidován na retinaldehyd retinol dehydrogenázou.

Uvolněný retinaldehyd je pak přístupný pro oxidaci RALDH na RA.

#### b) Buněčný RA vázající protein (CRABP – cellular RA binding protein)

CRABP-I chrání RA před další metabolizací podobně jako CRABP-II, který je však přítomen nejen v cytoplasmě, ale i v jádře, asociuje s receptory pro RA a slouží tak i jako transkripční regulátor / kofaktor.

Je zajímavé, že absence **CRBP** a **CRABP** (knock-out myši) má minimální účinek na fenotyp organismu, na rozdíl od vypnutí některého z enzymů (viz. výše) nebo receptorů (viz. níže).

### 2) Vázané na membránu

**Megalin (gp330 / LRP-2)** - patří do rodiny LDL (low-density lipoprotein) receptorů. Je exprimován v membránách zejména epiteliálních buněk a slouží jako receptor pro **RBP** a **retinol** (a také sonic hedgehog (**Shh**)). Megalin zprostředkovává transport retinolu (vázaného jak na RBP tak LDL) skrze vrstvy epiteliálních buněk, ale i do jejich intracelulárního prostoru. V ledvinách se podílí i na transportu dalších lipofilních vitaminů (např vit. D + vit. D vázající protein, vit. B12 + transcobalamin). Komplex ligand – megalin je pohlcen procesem endocytózy a vzniklý endosom cestuje buňkou na místo určení.

## Receptory RA

Receptor RA = RAR = retinoic acid receptor (RAR $\alpha$ , RAR $\beta$ , RAR $\gamma$  + isoformy)  
 RAR je aktivovaný jak *all-trans* RA, tak *9-cis* RA

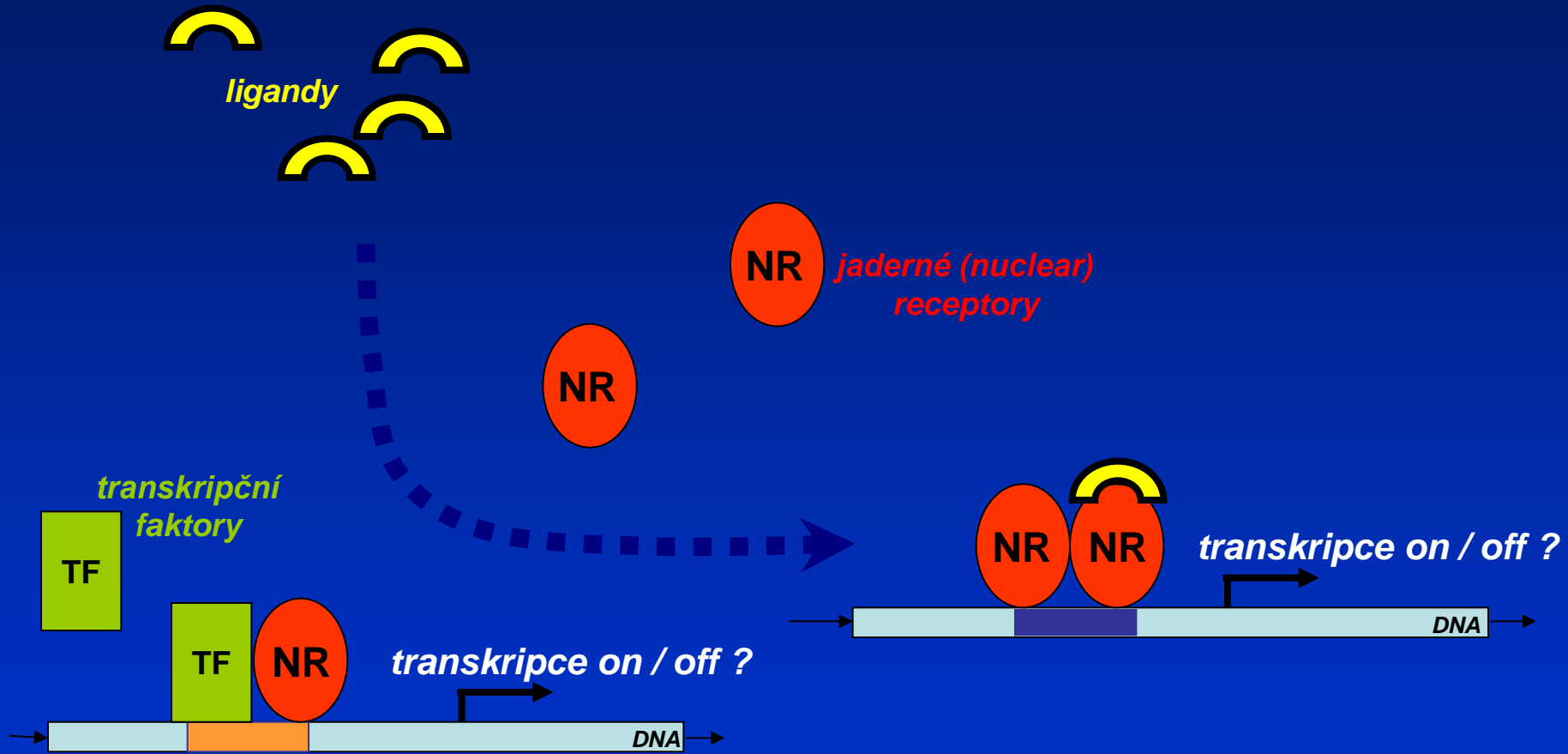
Receptor retinoidu X = RXR = retinoid X receptor (RXR $\alpha$ , RXR $\beta$ , RXR $\gamma$  + isoformy)  
 RXR je aktivovaný pouze *9-cis* RA

Gene	Major isoforms	Chromosomal location*		Ligand
		Human	Mouse	
RAR $\alpha$	$\alpha 1, \alpha 2$	17q21.1	11D	} <i>all-trans</i> and <i>9-cis</i> RA
RAR $\beta$	$\beta 1, \beta 2, \beta 3, \beta 4$	3p24	14	
RAR $\gamma$	$\gamma 1, \gamma 2$	12q13	15	
RXR $\alpha$	$\alpha 1, \alpha 2$	9q34.3	2	} <i>9-cis</i> RA
RXR $\beta$	$\beta 1, \beta 2$	6p21.3	17	
RXR $\gamma$	$\gamma 1, \gamma 2$	1q22-q23	1	

RA receptory patří do rodiny **jaderných receptorů** společně s **receptory thyroidních hormonů**, **receptorem vit. D**, receptory aktivujícími peroxisomové proliferátory (**PPARs**), jaterním X Receptorem (**LXR**), farsenoidovým receptorem (**FXR**) a se sirotčími (**orphan**) **receptory**. S těmi zde jmenovanými RXR tvoří také heterodimery regulující transkripci mnoha ontogeneticky významných genů.

Regulace genů řízených RA je zprostředkována jejími receptory, které zároveň slouží i jako transkripční faktory. Vytvářejí funkční homo (**RAR/RAR**, **RXR/RXR**) i heterodimery (**RAR/RXR**), přičemž heterodimery jsou výrazně transkripčně silnější/aktivnější. Jejich kombinace (48) jsou specifické pro konkrétní promotorové sekvence (response elements) v promotorech RA indukovaných genů.

# Signální dráha jaderných receptorů



# Příklady promotorových sekvencí s RAR/RXR vazebnými místy

TABLE 1. *Natural retinoic acid response elements*

1) mRAR $\alpha$ 2	5'(-59)GGCGAGTTCAGCAAGAGTTCAGCCGA(-34)-3' (136)
2) hRAR $\alpha$ 2	5'(-58)GGCGAGTTCAGCGAGAGTTCAGCCGC(-33)-3' (174)
3) mRAR $\beta$ 2	5'(-57)GAAGGGTTCACCGAAAGTTCAGTTCGC(-32)-3' (273)
4) hRAR $\beta$ 2	5'(-57)GTAGGGTTCACCGAAAGTTCAGTTCGC(-32)-3' (45, 86)
5) hRAR $\gamma$ 2	5'(-401)GGCCGGGTCAGGAGGAGGTGAGCGCGC(-375)-3' (174)
6) hADH3	5'(-280)ACAGGGGTCATTTCAGAGTTCAGTTTT(-305)-3' (59)
7) mCRBPI	5'(-1015)TAGTAGGTCAAAAAGTTCAGACAC(-993)-3' (259)
8) mLamBI	5'(-432)GAGGTGAGCTAGGTTAAGCCCTTAGAA AAAGGGTCAA(-468)-3' (290, 291)
9) hapoAI	5'(-192)AGGGCAGGGTCAAGGGTTCAGTGGG(-217)-3' (238)
10) mCP-H	5'(-147)CAGCAGGTCACTGACAGGGCATAGTA(-122)-3' (196)
11) rCRBPII	5'(-639)GCTGTTCACAGGTTCACAGGTTCAC AGGTTCACAGTTCA(-605)-3' (162)
12) hMCAD	5'(-341)GGGTTTGACCTTTCTCTCC GGGTAAAGGTGAAGG(-308)-3' 3'- CCCAAAGTGGAAAGAGAGGCCCATTTCCACTTCC-5' (228)
13) hLactoferrin composite element	
RARE	5'(-351)AAGTGTTCACAGGTCAAGGTAACCCAC(-326) (132)
ERE	TTCACAGTGTCCAGTTCCATTGGGTG
14) mCRABPII	
RARE1	5'(-1162)CCCCAGTTCACCAGGTTCAGGGCT(-1140)-3' (61)
RARE2	5'(-657)CTGTGACCTCTGCCCTTCT(-639)-3' (61)
15) rPEPCK	
RARE1	5'(-451)TGACCTTTGGCCGTGGGA(-434)-3' (143)
RARE2	5'(-351)GATCCGTCCCGGCCAGCCCTGTCTT TGACCCCCACCTGACAATTAAGGCAAGAGCCT(-295)-3 (244, 274)
16) mTGase (mTGRRE1)	5'(-1703)CATGGGGTCACTGTGAGAGGTCCAG TGGGTTCAGGATTA(-1751)-3' antisense (199)
17) mHox1.6	3'-enhancer 5'(-Sac-74)CAGGTTACCGAAAGTTCAAG(Sac-55)-3' (128)
18) mHoxb-1	3'-enhancer 5'-CTTAGAGGTAAAAAGGTTCAGCCCAG-3' (169, 269)
19) mHoxb-1	5'-repressor 5'-AGGGCAAGAGTTCA-3' (169, 269)
20) mSTAT1	5'(-274)TCGAGATGGGTTCAGGGTGATAAC(-252)-3' (114)
21) rDopamine D <sub>2</sub> receptor	5'(-71)CCTCG TGGCCAGGGTGACCCC(-51)-3' (288)

Consensus

5'-	G	T					A	T								
	G		T	C	A	(X)	G	G	T	C	A	3'				
	A	G					G	G								
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6				



## Srovnání některých defektů vyvolaných nedostatkem RA (RAD), oproti vyřazení jednotlivých receptů RAR nebo RXR

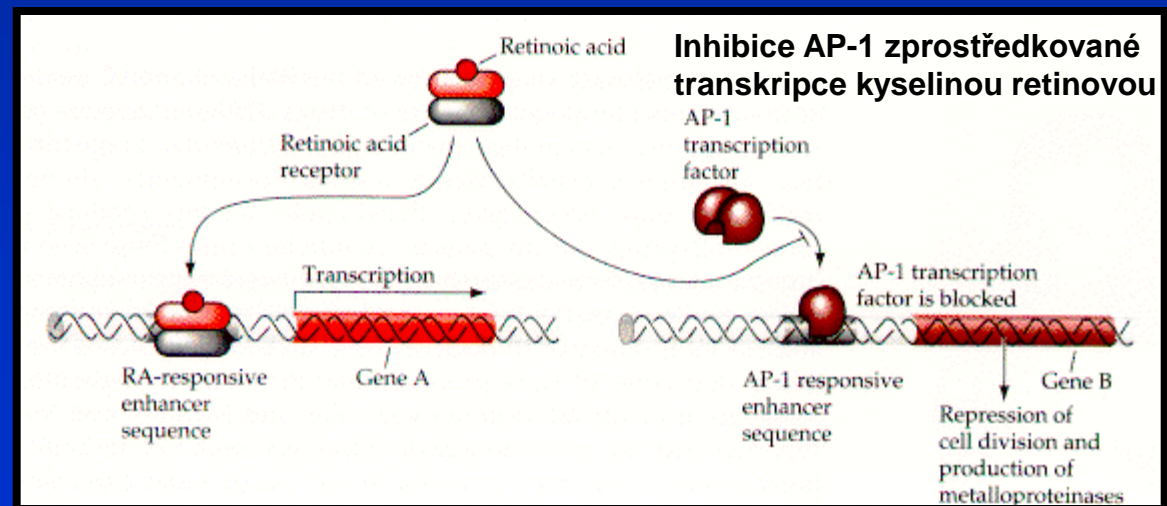
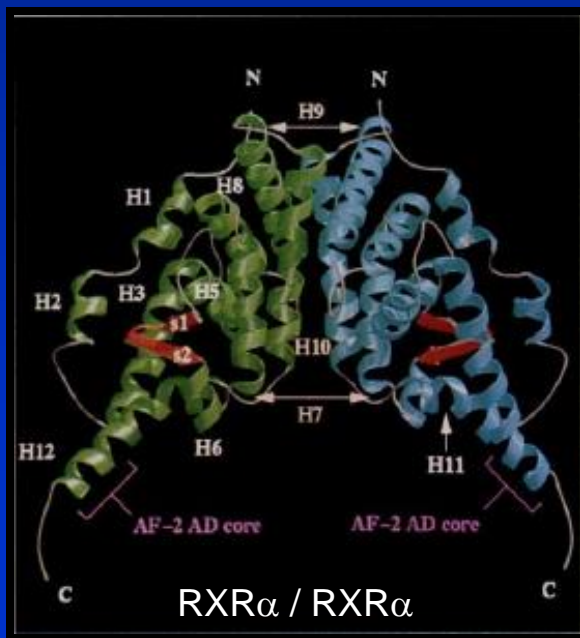
	RAD	RAR $\alpha$ / $\gamma$	RAR $\alpha$ / $\beta$ 2	RAR $\beta$ 2/ $\gamma$ (2)	RXR $\alpha$	RAR $\alpha$ /RXR $\alpha$	RAR $\gamma$ /RXR $\alpha$
<b>Eye</b>							
Microphthalmia	+	+ <sup>a</sup>	-	-	+ <sup>a</sup>	NR <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>
Lens elongation/fiber anomaly	+	+ <sup>b</sup>	-	-	-	-	-
Lens cell apoptosis	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Neural retina apoptosis	+	NR	NR	+	NR	NR	NR
Intraretinal gap	+	+ <sup>c</sup>	-	+ <sup>c</sup>	-	$\pm$ <sup>c</sup>	$\pm$ <sup>c</sup>
Absent choroid fissure	+	-	-	-	-	-	-
Thickened precorneal stroma	+	+	-	+ <sup>d</sup>	+	-	+
Heart defects	+	+	+	-	+	+	+
Abnormal limb shape	+	+	-	-	-	-	-
Absent tracheal-esophageal septum	+	-	+	-	-	-	-
Absent cranial flexure	+	-	NR	NR	NR	NR	NR
<b>Head and nervous system</b>							
Hindbrain defects	+	+ <sup>a</sup>	-	-	NR	NR	NR
Frontonasal hypoplasia, cell death	+	+	-	-	-	-	-
Mandibular hypoplasia, cell death	$\pm$	-	-	-	-	-	-
Cranial nerve hypoplasia, absence	+	+ <sup>f</sup>	-	-	NR	NR	NR
Brain hypoplasia	+ <sup>g</sup>	+ <sup>h</sup>	-	-	-	-	-

NR, not reported or assessed. <sup>a</sup> Also smaller ventral retina. <sup>b</sup> Not detailed; one instance of absent lens. <sup>c</sup>  $\pm$  indicates retinal eversion, no obvious gap. <sup>d</sup> Poorly differentiated. <sup>e</sup> Open rhombencephalon. <sup>f</sup> Motor nuclei of CNVI only. <sup>g</sup> Thinning of marginal layer. <sup>h</sup> Small cerebral hemispheres, collapsed ventricles. [Data from Smith and co-workers (47, 258), Grondona et al. (75a), Kastner et al. (98), Lohnes and co-workers (139, 140), Mendelsohn et al. (183), and Sucov et al. (271).]

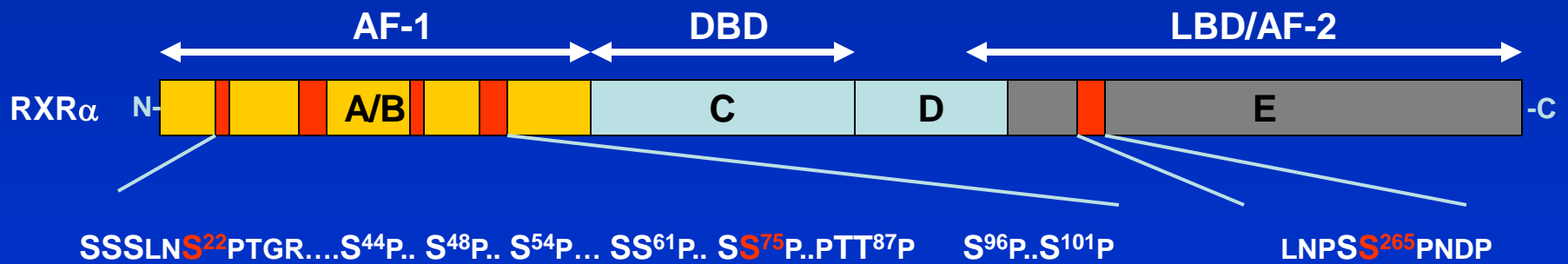
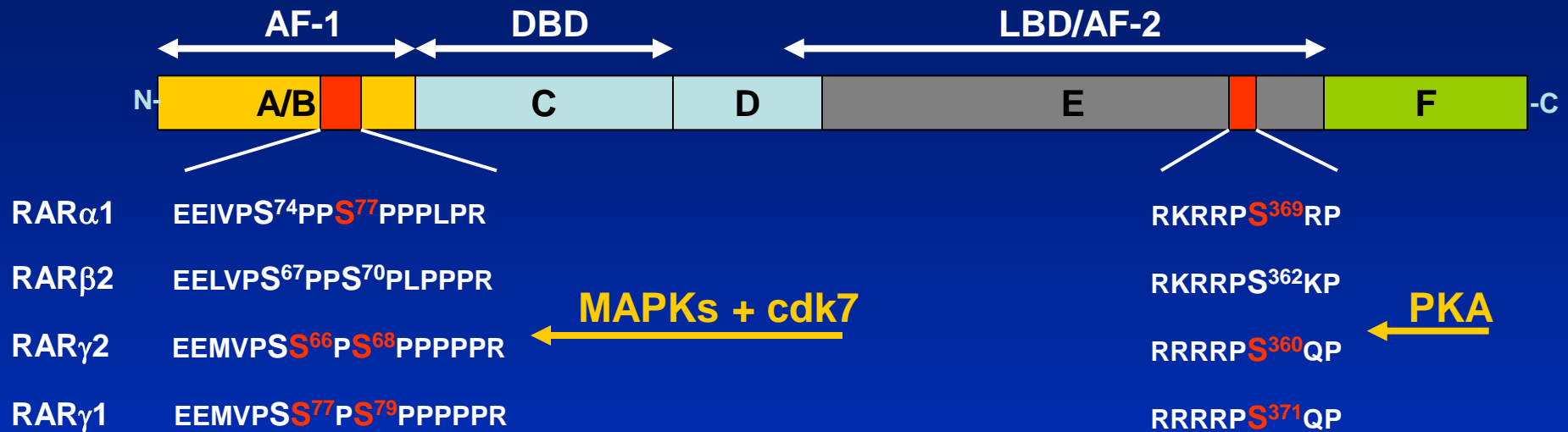
Obecně vyřazení jednotlivých isoform receptorů (homozygoti  $-/-$   $RAR\alpha1$ ,  $RAR\beta2$  nebo  $RAR\gamma2$ ) nemá žádný zásadní účinek na fenotyp takových zvířat. Po vyřazením jednotlivých subtypů, však již můžeme pozorovat různé malformace a nedostatečnosti. Z RAR se jeví nejvýznamnější  $RAR\gamma$ . Větší účinek má vyřazení RXR, které je způsobeno pravděpodobně jejich úlohou při vytváření heterodimerů s ostatními jadernými receptory.  $RXR\alpha -/-$ , hyne 13.5-16.5 dpc, z důvodu nedostatečně vyvinutého srdce, má také nedostatečně vyvinuté oči.  $RXR\beta -/-$  je viabilní ale samci jsou sterilní.

# Interakce transkripční aktivity RA a některých drah transdukce signálu

Aktivní komplex **RAR/RXR** v mnoha případech působí jako represor v promotorech rozpoznávaných také **AP-1** (Jun/Fos komplexy) a **Smad** proteiny (TGF $\beta$  rodina). Na druhou stranu, aktivita RA receptorů může být modifikována jejich fosforylací na serinových a threoninových zbytcích **serin/threonin kinázami**. A to zejména **MAPK** kinázami (**Erk**; **JNK1,2**; **p38**), protein kinázou A (**PKA**) a na cyklinu H závislou **cdk7**. Tyto postranslační modifikace RA receptorů vedou k další variabilitě v možnostech regulovat RAR/RXR řízenou transkripci jak pozitivně, tak negativně a to i za nepřítomnosti ligandu (RA). Modifikují, zejména interakce s dalšími proteiny transkripčního komplexu. Některé fosforylace (např. p38  $\rightarrow$  RAR $\gamma$ ) indukují degradaci daných receptorů)



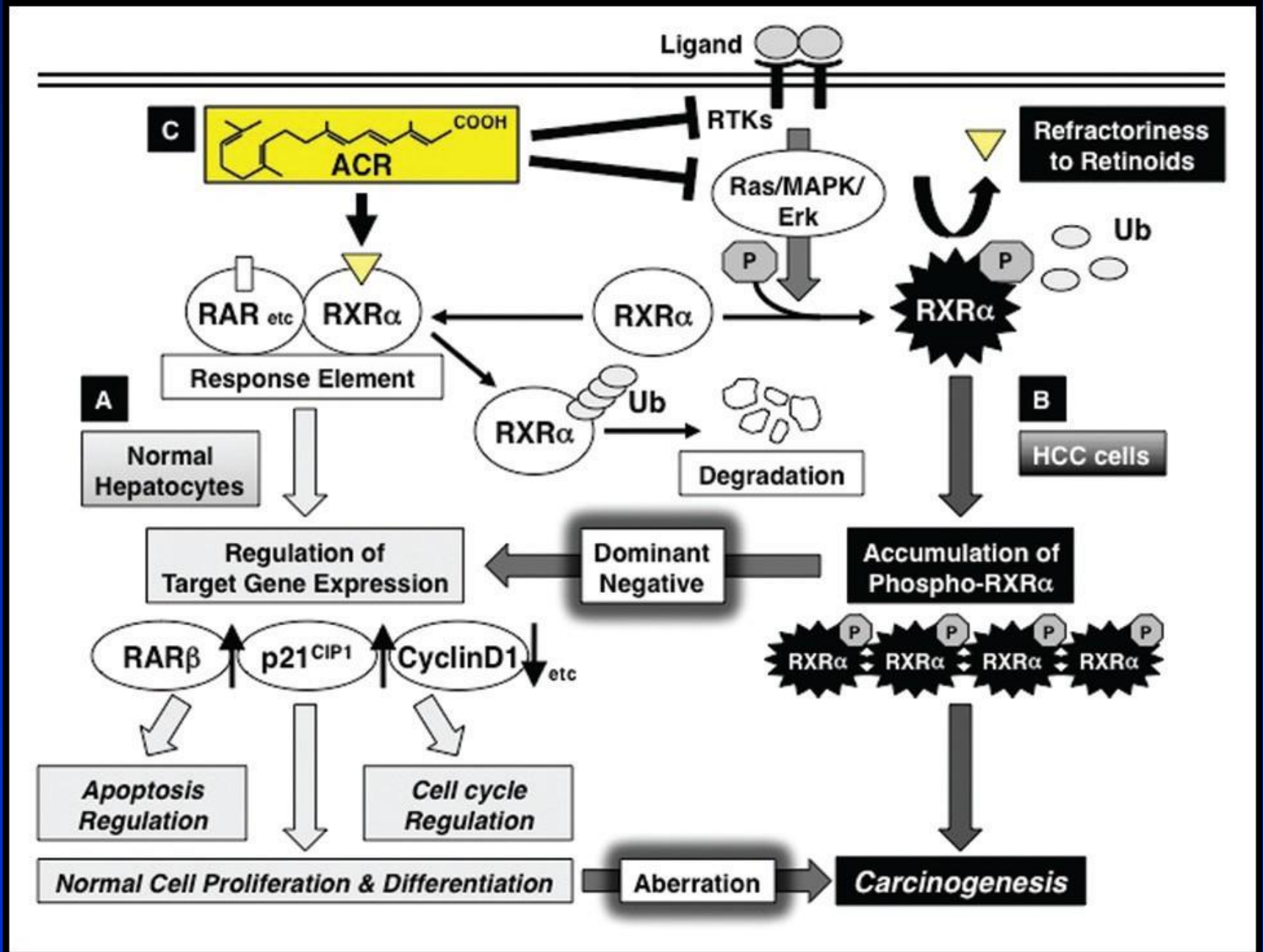
Serinové a threoninové zbytky fosforylované (■) u RAR/RXR receptorů, ukázány jsou i potencionálně fosforylovatelné (čísla)



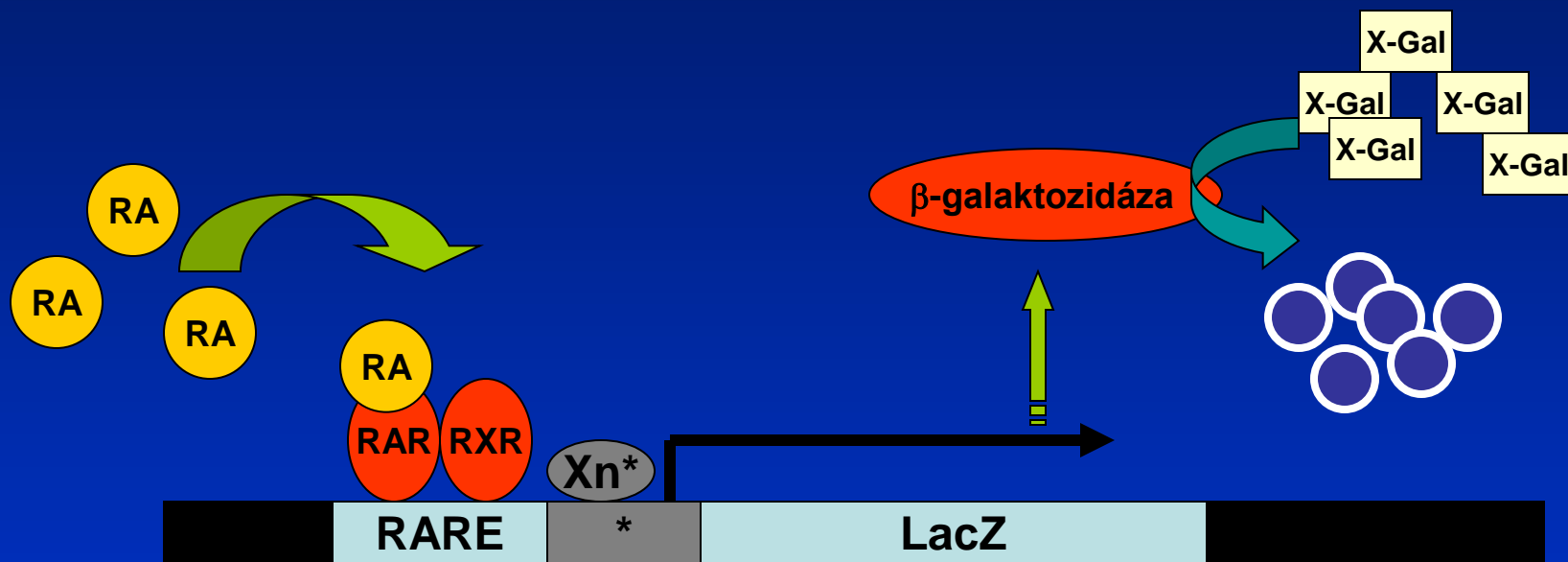
AF-1 (A/B doména) – oblast regulující aktivaci transkripce, nezávisle na ligandu  
 DBD (C doména) – DNA vázající doména (DNA-binding domain)  
 LBD/AF-2 (D/E doména) – oblast regulující aktivaci transkripce, závislé na ligandu

JNK1 + JNK2

# Jedna z možných interakcí metabolismu RA s promocií nádorového onemocnění



# System pro detekci RA v buňkách/tkáních (RARE-LacZ reportér)

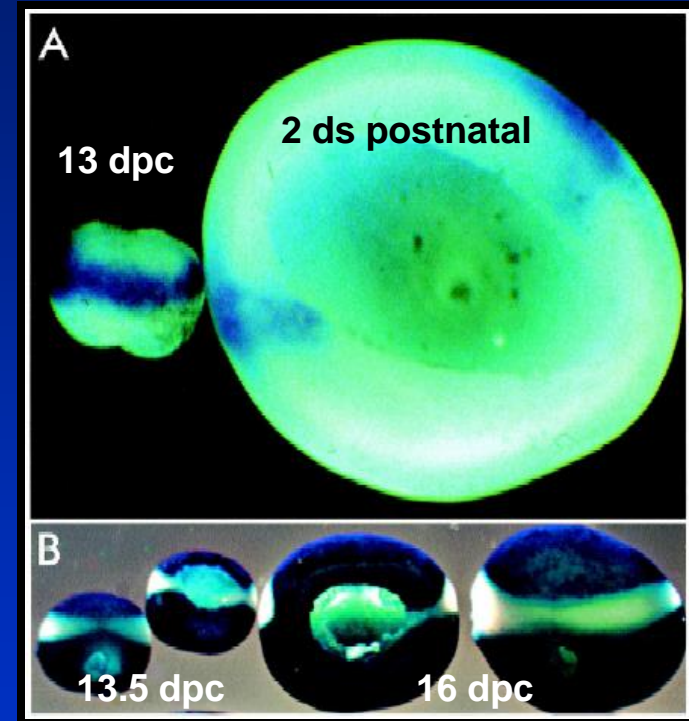
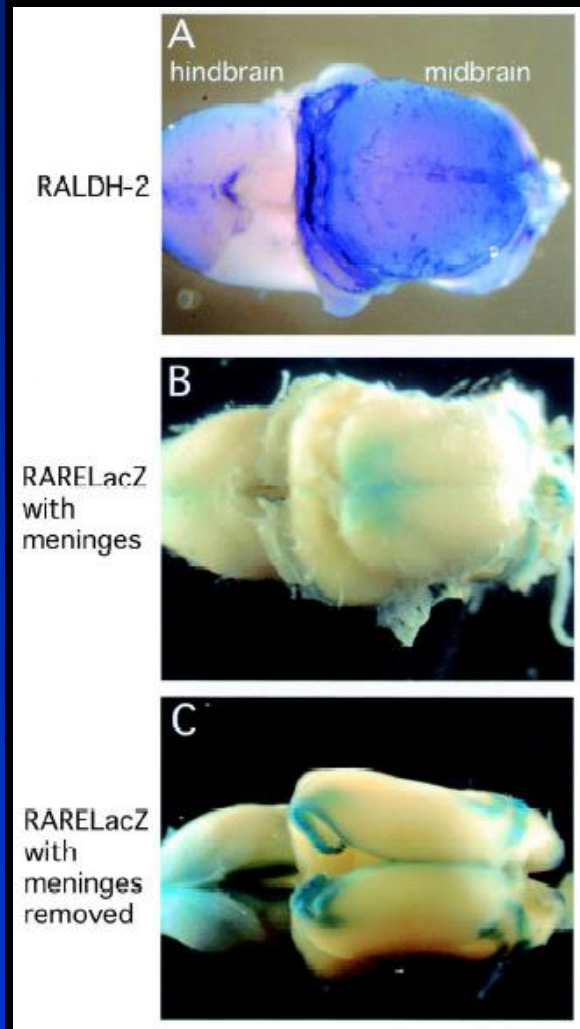


\*další faktory/sekvence nezbytné pro funkci promotoru

## Expese a aktivita RALDH-2 v mozku myšního embrya (16 dpc)

A) In situ hybridizace mRNA RALDH-2

B + C) RARE aktivita (RARE-LacZ reporter)



Detekce exprese CYP26 (in situ mRNA hybridizace) v retině (A) a RARE aktivita (RARE-LacZ reporter) v embryonální retině (čelní a zadní pohled)(B)

## ❖ **Klinické využití kyseliny retinové a jejich derivátů**

- **kožní onemocnění** (viz. Tab.1 další slide)
- **různá onkologická onemocnění** – stále předmětem výzkumu
- **akutní promyelocytická leukémie**  
(spojeno s translokací  $RAR\alpha$  -> potlačení jeho fce)
- **včetně retinoidů také inhibitory degradace RA**
  - inhibitory cytochromu P450/CYP26 (zejména dermatologie)

## ❖ **Experimentální využití kyseliny retinové**

- **vděčné diferenciační činidlo, induktor diferenciace mnoha typů nádorových buněk, ale i embryonálních kmenových a jim příbuzných buněk**



## Retinoidy využívané v dermatologii

**Tabulka 1. Přehled retinoidů používaných v dermatologii**

Generický název	Firemní názvy, formy	Způsob aplikace	Indikace
<b>Tretinoin</b> I. generace	Retin A <sup>®</sup> , crm 0,5% a 0,025% Locacid <sup>®</sup> , crm. 0,05%, roztok 0,1% Aiol <sup>®</sup> , crm. 0,05%, lotio 0,05% Aknemycin plus <sup>®</sup> , roztok 0,025% + erytromycin	lokální	acne vulgaris keratosis pilaris aktinické keratózy photoaging
<b>Isotretinoin</b> I. generace	Roaccutane <sup>®</sup> , cps. 20 a 10 mg Aknenormin <sup>®</sup> , cps. 20 a 10 mg Curacné <sup>®</sup> , tbl. 40, 20, 10 a 5 mg Isotrexin <sup>®</sup> , gel (kombinace s erytromycinem)	systemová i lokální	acne conglobata, acne papulopustulosa – torpidní formy, acne keloidea Daiš: rosacea, pyoderma faciale, gramnegativní folikulitis, hidradenitis suppurativa, steatocystoma multiplex, syndrom bazocelulárního névu
<b>Acitretin</b> II. generace	Neotigason <sup>®</sup> , cps. 25 a 10 mg	systemová	psoriasis vulgaris generalizovaná, pustulózní nebo palmoplantární, psoriasis arthropathica Daiš: keratoderma palmoplantaris, ichthyosis, m. Darier, pityriasis rubra pilaris, lichen planus, syndrom bazocelulárního névu
<b>Adapalen</b> III. generace	Differine <sup>®</sup> , krém, gel 0,1%	lokální	acne vulgaris
<b>Tazaroten</b> III. generace	Tazorac <sup>®</sup> , gel 0,05% a 0,1%	lokální	psoriasis vulgaris

## Literatura ke studiu

1. Clagett-Dame, M., and L. A. Plum. 1997. Retinoid-Regulated Gene Expression in Neural Development. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression* 7:299-342.
2. Clagett-Dame, M., and H. F. DeLuca. 2002. The Role of Vitamin A in Mammalian Reproduction and Embryonic Development. *Annu. Rev. Nutr.* 22:347-381.
3. Maden, M., and M. Hind. 2003. Retinoic Acid, A Regeneration-Inducing Molecule. *Developmental Dynamics* 226:237-244.
4. McCaffery, P., and U. C. Drager. 2000. Regulation of retinoic acid signaling in the embryonic nervous system: a master differentiation factor. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 11:233-249.
5. McCarthy, R. A., and W. S. Argraves. 2003. Megalin and the neurodevelopmental biology of sonic hedgehog and retinol. *J. Cell Science* 116:955-960.
6. Napoli, J. L. 1999. Interactions of retinoid binding proteins and enzymes in retinoid metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta* 1440:139-162.
7. Rochette-Egly, C., and P. Chambon. 2001. F9 embryocarcinoma cells: a cell autonomous model to study the functional selectivity of RARs and RXRs in retinoid signaling. *Histol Histopathol* 16:909-922.
8. Ross, S. A., P. J. McCaffery, U. C. Drager, and L. M. De Luca. 2000. Retinoids in Embryonal Development. *Physiological Reviews* 80:1021-1054.

**Shulman2005 RXR x metabolic syndrome**