



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Retinoide -
Regulation der Genexpression und
ihre Relevanz in der Prävention ernährungsassoziierter
Erkrankungen

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer. nat.)

Verfasserin:	Ulrike Keller
Matrikel-Nummer:	0102216
Studienrichtung (lt. Studienblatt):	474 Ernährungswissenschaften
Betreuer:	Univ.-Prof. Dr. Jürgen König

Wien, im April 2008

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Nomenklatur, Struktur und chemische Eigenschaften.....	1
1.2	Aufnahme von Vitamin A.....	3
1.3	Biosynthese, Absorption, Metabolismus und Transport von Retinoiden.....	4
2	Wirkmechanismen der Retinoide und ihrer Kernrezeptoren.....	11
2.1	Überblick über die Kernrezeptoren.....	11
2.1.1	Die Struktur der Kernrezeptoren.....	11
2.1.2	Aktionsmechanismen.....	13
2.1.3	Transkriptioneller „cross-talk“.....	15
2.2	Retinsäurerezeptoren.....	16
2.2.1	Coaktivatoren und Corepressoren.....	18
2.2.2	Phosphorylierung der Retinoidrezeptoren.....	23
2.2.3	Degradation der Retinoidrezeptoren.....	24
2.2.4	Klassischer Pathway der Retinoid-Signalwirkung.....	26
2.2.5	Zielgene von RA.....	27
2.3	Orphan Rezeptoren und ihre Interaktionen mit Retinsäuresignalen.....	28
2.3.1	COUP-TFs (chick ovalbumin upstream promotor- transcription factors).....	29
2.3.2	Nur77 (NGFI-B, NR4A1).....	30
2.3.3	PPARs (Peroxisome proliferator-activated receptors).....	31
3	Retinoide in der Prävention ernährungsassoziierter Erkrankungen.....	35
3.1	Retinoide und Krebs.....	35
3.1.1	Molekulare Mechanismen.....	37
3.2	Retinoide und Teratogenität.....	49
3.3	Retinoide und das Nervensystem.....	50
3.3.1	RA in der Entwicklung des Nervensystems.....	50
3.3.2	RA in der Entwicklung des Auges.....	51
3.3.3	RA und der olfaktorische Pathway.....	51
3.3.4	RA in der Entwicklung des Innenohrs.....	52

3.3.5	RA und Alzheimer	53
3.4	RA und das Immunsystem	55
3.4.1	RA und Autoimmunerkrankungen	57
3.5	Retinoide und das cardiovaskuläre System	58
3.5.1	RA in und nach der Entwicklungsphase des Herzens	58
3.5.2	RA in der Regulation des Renin- Angiotensin Systems	60
3.5.3	Retinoide und Ductus Arteriosus	60
3.6	Retinoide in der Regulation des Energiemetabolismus	61
4	Schlussbetrachtung	64
5	Summary	65
6	Zusammenfassung	66
7	Literaturverzeichnis	67
8	Lebenslauf	84
9	Danksagung	85

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Strukturformeln der natürlichen Retinoide	2
Abbildung 2:	Absorption, Transport und Metabolismus von Retinoiden.	10
Abbildung 3:	Die Struktur der Kernrezeptoren	12
Abbildung 4:	Aktionsmechanismen der Kernrezeptoren.	14
Abbildung 5:	Der drei Schritte umfassende Mechanismus von Retinoidrezeptoren.	22
Abbildung 6:	Die Auswirkungen von Phosphorylierungen auf die RAR γ -vermittelte Transkription von Zielgenen.	27
Abbildung 7:	Transport von RA in der Zelle.	33
Abbildung 8:	Überblick über die Funktionen von Retinoiden	49
Abbildung 9:	Überblick über die mögliche Rolle von RA im adulten ZNS.	54
Abbildung 10:	Cardiovaskuläre Defekte bei Vitamin A Defizienz (VAD) bzw. Überschuss und Retinoid-Rezeptor Knockout-Embryos	59
Abbildung 11:	Wirkung des Retinaldehyds (Rald) als Transkriptionsregulator.	62

1 Einleitung

Die Verbindung der Forschungsfelder der Molekularbiologie und Ernährungswissenschaften gibt neue Einblicke in die direkte Beeinflussung der Genexpression durch Nutrienten. Eines der besten Beispiele bietet hier der Fortschritt im Bereich der Erforschung von Retinoiden und ihrer Regulation der Genexpression.

Vitamin A und seine bioaktiven Metaboliten haben pleiotrope Effekte in allen Geweben vertebrater Organismen. Dazu zählen Zellentwicklung, Proliferation, Differenzierung, Metabolismus und Apoptose. Die genregulatorische Fähigkeit von Retinsäure (*all-trans* und *9-cis*) bzw. ihrer Kernrezeptoren wird für die meisten dieser Funktionen verantwortlich gemacht.

Auf die teratogenen als auch kanzerogenen Auswirkungen eines Vitamin A-Mangels wurde sehr bald nach der Entdeckung des Vitamins geschlossen.

Derzeit werden laufend neue Studien publiziert, die dieses Wissen vertiefen und sich weiters mit dem Einfluss von Retinoiden auf diverse ernährungsassoziierte Erkrankungen, etwa im kardiovaskulären und metabolischen Bereich, auseinandersetzen.

Die hier vorgelegte Arbeit soll einerseits einen Einblick in die Wirkmechanismen und andererseits in das mögliche Wirkungsspektrum im Bereich ernährungsassoziiierter Erkrankungen geben.

1.1 Nomenklatur, Struktur und chemische Eigenschaften

Der Begriff "Retinoide" ist gemäß der IUPAC-IUB-Kommission (International Union of Pure and Applied Chemistry- International Union of Biochemistry) für Biochemische Nomenklatur (1982) wie folgt definiert:

„Retinoide gehören zu einer Klasse von Komponenten, die aus vier Isopreneinheiten bestehen, die in einer Kopf-Schwanz-Verbindung stehen; alle Retinoide können formell von einer monozyklischen Elternkomponente abgeleitet werden, die fünf C-C-Doppelbindungen und eine funktionelle Gruppe am azyklischen Ende des Moleküls enthalten.“

Ein Problem mit dieser Definition ergab sich aus der Tatsache, dass sich einige synthetische Verbindungen ohne die oben genannten Strukturanforderungen als sehr

viel aktiver in Retinoid-sensitiven Assays herausstellten. Sporn und Roberts (1985) schlugen daraufhin vor, dass „Retinoide eine Klasse von Substanzen sind, die spezifische biologische Antworten durch Bindung an und Aktivierung von Rezeptoren hervorrufen“.

In der Praxis findet man häufig eine Kombination dieser beiden Definitionen: Die Klasse von Retinoiden besteht aus Retinol-Analoga (mit oder ohne biologische Aktivität), aber auch aus verschiedenen Retinol-fernen Verbindungen, die biologische Vitamin A oder Retinoid-Aktivität aufweisen (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Der Begriff Vitamin A ist hingegen ungeeignet, die Klasse der Retinoide vollständig zu beschreiben.

Hierbei werden nur Retinoide berücksichtigt, die eine biologische Aktivität entsprechend der von Retinol besitzen (Sporn and Roberts 1985; Blomhoff et al. 1992).

Auch die 50 von etwa 600 Carotinoiden, die in Vitamin A gespalten werden können, werden zur Klasse von Vitamin A gezählt. Häufig in der Nahrung vorkommende Provitamin A Carotinoide sind α -Carotin, β -Carotin, γ -Carotin und β -Cryptoxanthin. Das *all-trans* Isomer dieser Carotinoide ist aktiver als das *cis* Isomer (Olson 2000).

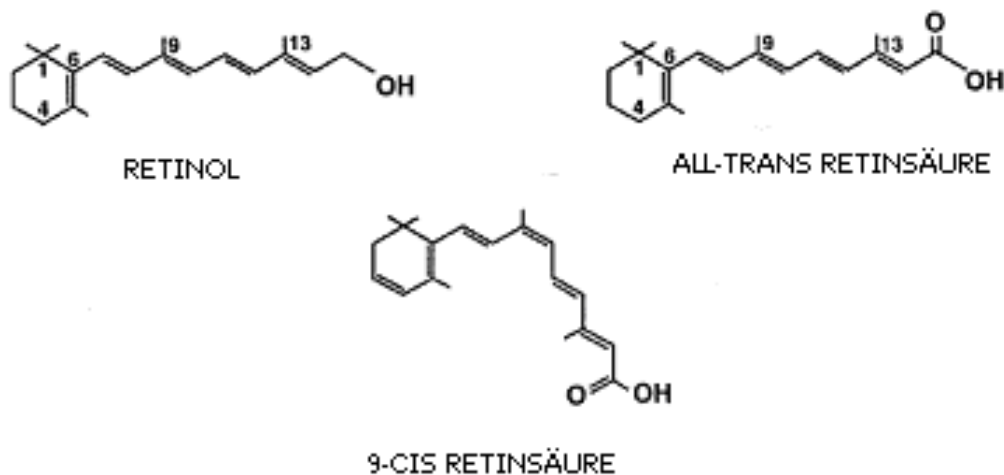


Abbildung 1: Strukturformeln der natürlichen Retinoide
mod. nach Ross et al. (2000)

Die Stammkomponente der Retinoide ist *all-trans* Retinol, ein primärer Alkohol mit einer molekularen Masse von 286. In den meisten Tiergeweben ist Retinyl-Palmitat die vorherrschende Speicherform der Retinoide. Weiters findet man auch die Fettsäureester Retinyl-Oleat und Retinyl-Stearat vor. Zu den Retinoiden der ersten Generation zählen neben *all-trans* Retinol *all-trans* Retinaldehyd (*all-trans* Retinal) und *all-trans* Retinsäure (*all-trans* RA, Tretinoin), die durch Oxidation des *all-trans* Retinols entstehen. Stellungen-Isomere sind von allen drei Verbindungen bekannt (Elmadfa und Leitzmann 1998; Blomhoff and Blomhoff 2005).

Die Struktur dieser Moleküle läßt sich generell in drei Abschnitte einteilen: Ein hydrophober β -Iononring, eine konjugierte Tetraen-Seitenkette und eine polare Endgruppe. Die biologische Aktivität hängt primär von der Anwesenheit des β -Iononringes ab. Aufgrund des großen hydrophoben Restes von Retinoiden sind diese Verbindungen nur schlecht wasserlöslich. *All-trans* Retinol und dessen Derivate sind stark instabil in der Gegenwart von Oxidantien und Licht, die zu einer oxidativen Degradation oder Isomerisierung führen. Die strukturelle Integrität in vivo wird zum Großteil durch Retinoid-bindende Proteine (Retinoid-binding proteins, RBPs) erreicht.

Viele dieser Proteine binden ihre Liganden in hydrophoben Einschlüssen und schirmen sie so effektiv von der wässrigen Umgebung ab. Weiters wird durch die Anwesenheit von Antioxidantien wie den Tocopherolen sowohl die Degradation als auch die Isomerisierung verhindert (Noy 1999). Im Vergleich mit *all-trans* Retinol und *all-trans* Retinal besitzt *all-trans* Retinsäure die höchste Wasserlöslichkeit (210 nM). Dies macht es möglich, dass *all-trans* Retinsäure als Morphogen einerseits durch hydrophile Phasen und andererseits durch lipophile Membranen diffundieren kann (Blomhoff and Blomhoff 2005).

1.2 Aufnahme von Vitamin A

Hohe Konzentrationen an Retinol finden sich in Leber, Milchprodukten, Hühnerei und Fettfischen wie Hering, Sardinen und Thunfisch. Nahrungsquellen für Provitamin A Carotinoide sind Karotten, grünes Blattgemüse, Mais, Tomaten, Papayas, Mangos, Aprikosen und Orangen. Die Farbe der Früchte ist jedoch nicht zwingend ein Indikator für die Provitamin A-Konzentration. Tomaten etwa sind besonders reich an Lycoplen,

das nicht in Vitamin A umgewandelt werden kann. Die grüne Farbe von Blattgemüsen hingegen camoufliert die gelbe Farbe der Carotinoide.

Die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden kann sehr stark schwanken. Die Absorptionsrate von β -Carotin (33%) etwa ist geringer als jene von Retinol. Weiters gehen, anders als theoretisch möglich, nicht zwei Retinolestermoleküle aus der Spaltungsreaktion hervor (Elmadfa und Leitzmann 1998).

Daher hat man sich auf die Konvention geeinigt, dass 6 μg all-trans β -Carotin oder 12 μg von anderen Provitamin A Carotinoiden in Lebensmitteln äquivalent zu 1 μg all-trans Retinol sind. Folglich ist die Aufnahme von Vitamin A in Form von μg Retinol Äquivalenten ausgedrückt (Olson 2000).

1.3 Biosynthese, Absorption, Metabolismus und Transport von Retinoiden

Vitamin A aus der Nahrung liegt primär als Retinylester, Retinol und in sehr kleinen Mengen als Retinsäure vor. Die Retinylester können nicht direkt aufgenommen werden, sondern müssen im Dünndarmlumen erst durch die pankreatische Triglyceridlipase und das intestinale Bürstenaummembranenzym Phospholipase B hydrolysiert werden, bevor sie wie das Retinol von den Mukosazellen aufgenommen werden können. (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Der Aufnahmeprozess benötigt die Emulgierung von Retinol durch Gallensalze und freie Fettsäuren (Goodmann and Blaner 1984).

Das unveresterte Retinol wird in die Enterocyten durch einen sättigbaren Carrier-vermittelten Transport eingeschleust. Die dabei involvierten Proteine sind bis jetzt noch nicht charakterisiert (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Retinsäure aus der Nahrung wird von den Mukosazellen absorbiert und als solches in die portale Zirkulation gebracht, wo es, gebunden an Albumin, im Körper transportiert wird (Blaner and Olson 1994).

Provitamin A Carotinoide werden nach der Emulgierung von den Mukosazellen absorbiert. Dort wird β -Carotin durch das Enzym Carotin 15, 15'-Dioxygenase zu Retinal gespalten (Goodmann and Huang 1965; Olson and Hayaishi 1965).

Dieses cytosolische Enzym wird durch Gallensalze und die Menge an Retinoiden in der Nahrung beeinflusst (Van Vliet et al. 1996).

Carotinoide sind im ganzen Körper vorhanden, da sowohl Provitamin A Carotinoide als auch andere Carotinoide aus der Nahrung intakt absorbiert werden können.

Da die Leber, das Fettgewebe, die Lunge und andere Gewebe Carotin 15, 15'-Dioxygenase Aktivität besitzen (Olson and Hayashi 1965; Goodman and Blaner 1984) und aus Carotinoiden direkt Retinsäure ohne Retinal als Zwischenprodukt (Napoli and Race 1988) synthetisieren können, könnte die intakte Aufnahme von Carotinoiden aus dem Gastrointestinaltrakt ein wichtiger Stoffwechselweg für manche Gewebe sein, um ihren Retinoidbedarf zu decken (Vogel et al. 1999).

In den Enterocyten wird Retinol an CRBP II (cellular retinol-binding protein type II) gebunden. Die größte Menge an Retinol wird dort mit langkettigen Fettsäuren, vor allem Palmitinsäure, wiederverestert. Dies wird von dem Enzym Lecithin-Retinol-Acyltransferase (LRAT) katalysiert. LRAT benötigt den CRBP II-Retinol-Komplex als Substrat für die Veresterungsreaktion (Herr und Ong 1992).

Die Rolle von CRBP II ist also einerseits das löslich Machen von lipophilem Retinol, andererseits der Schutz vor Degradation und die Lenkung von Retinol zu LRAT. (Batten et al. 2004). Außerdem benötigt die intestinale Retinal Reduktase CRBP II, um Retinal in der Mukosazelle zu Retinol zu reduzieren (Vogel et al. 1999). Die Expression von CRBP II ist merklich beeinflusst von der Aufnahme von Fettsäuren aus der Nahrung (Takase et al. 1998; Surgua et al. 1995).

Die neu synthetisierten Retinylester werden zusammen mit Triglyceriden, Cholesterinester, Phospholipiden und anderen Lipiden aus der Nahrung in Chylomikronen, die Apolipoprotein B-48 beinhalten, verpackt und in das lymphatische System sezerniert (Vogel et al. 1999). Weiters wird unverestertes Retinol in die portale Zirkulation abgesondert (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Nach der Sekretion von Chylomikronen in die Lymphe kommt es durch Prozesse wie der Triacylglycerinhydrolyse und dem Austausch von Apolipoproteinen zur Bildung von Chylomikronen-Remnants. Fast alle Retinylester in den Chylomikronen bleiben den Partikeln bei der Umbildung zu Remnants erhalten (Blomhoff et al. 1990).

Die Chylomikronen-Remnants akquirieren das Apolipoprotein E (apoE). Dies ist essentiell, um danach wieder von den Parenchymzellen der Leber aufgenommen zu werden (Blomhoff et al. 1982; Williams et al. 1985; Hamilton et al. 1990).

Die Leber ist das Hauptorgan für die Speicherung und die Metabolisierung von Retinoiden (Vogel et al. 1999).

Die extra-hepatische Aufnahme von Chylomikronen-Remnants könnte auch wichtig für den Transport von Retinylestern und Carotinoiden zu Knochenmark, Zellen des peripheren Blutes, Milz, Fettgewebe, Skelettmuskeln und Niere sein (Paik et al. 2004).

Die Prozesse der Retinoidspeicherung und Metabolisierung in der Leber sind komplex und noch nicht vollständig geklärt (Blaner 1994).

Der hepatische Retinoidmetabolismus wird durch die Enzyme LRAT und Retinyl-Ester-Hydrolase (REH) mediiert, die Retinol mit langkettigen Fettsäuren verestern und Retinylester zu Retinol hydrolysieren. Weiters spielt auch CRBPI eine wichtige Rolle (Blaner and Olson 1994; Ong et al. 1994).

Um einer Nachfrage von Retinoiden aus Geweben nachzukommen, wird Retinol aus den hepatischen parenchymalen Zellen sezerniert (Vogel et al. 1999).

Die Retinylester werden in den Hepatocyten hydrolysiert. Unverestertes Retinol ist dann in der Lage, mit dem Retinol-Binding-Protein (RBP) zu assoziieren. Dieses Protein kommt in hohen Konzentrationen im hepatischen endoplasmatischen Reticulum vor (Newcomer and Ong 2000). Das Binden von Retinol an RBP initiiert eine Translokation von Retinol-RBP vom endoplasmatischen Reticulum zum Golgi-Komplex. Danach wird Retinol-RBP in das Plasma entlassen (Ronne et al. 1983). Zusätzlich wird ein Großteil des unveresterten Retinols auch in einen anderen Zelltyp der Leber, die perisinoidale Stellatumzelle, transferiert (Blomhoff et al. 1982; 1984).

Etwa 90% der gesamten Vitamin-A-Konzentration der Leber wird in den Stellatumzellen gelagert (Biesalski 2004). Diese Langzeitspeicher des Vitamins haben eine beinahe unbegrenzte Speicherkapazität. Die normalen Reserven von Retinylestern in den Stellatumzellen stellen eine adäquate Vitamin A Versorgung für mehrere Wochen bis Monate (Blomhoff et al. 1990). Mehr als 95% des Vitamin A in den Stellatumzellen liegen in Form von Retinylestern in cytoplasmatischen Lipidtröpfchen vor. CRBPI, ein zelluläres Bindungsprotein mit Homologie zu CRBPII, sowie LRAT sind in den hepatischen Stellatumzellen hoch exprimiert und spielen eine Schlüsselrolle

in der Speicherung von Retinylestern. Die extensive Speicherung von Retinylestern in den Stellatumzellen kombiniert mit der Fähigkeit der Zelle, die Retinoidmobilisierung zu kontrollieren, sichert eine gleich bleibende Blutplasma-Retinoidkonzentration von etwa 1-2 μM trotz der normalen Schwankungen in der täglichen Aufnahme an Vitamin A.

Die Mechanismen, die für die Mobilisierung von Retinol aus den Stellatumzellen verantwortlich sind, wurden noch nicht im Detail geklärt. Resultate von den Versuchen mit Knock-out Mäusen weisen auf eine Involvierung von RBP hin (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Nach der Aufnahme einer großen Menge von Vitamin A können interstitielle Zellen und Zellen von Lunge, Niere, und Darm von höheren Wirbeltieren Lipidtröpfchen mit Retinylestern akkumulieren. Diese extrahepatische Speicherung könnte für die lokale Versorgung von Organen mit einer hohen Nachfrage an Vitamin A wichtig sein (Nagy et al. 1997; Blomhoff and Wake 1991).

Plasma-Retinol ist an RBP assoziiert. Die Plasma-Konzentration von Retinol-RBP ist streng reguliert und wird trotz fluktuierender Aufnahme von Vitamin A auf 2 μM gehalten.

Nur im Falle eines schwerwiegenden Vitamin A Mangels, Protein, Energie- oder Zinkmangels, hormoneller Faktoren oder Stress als Folge bestimmter Krankheitszustände ist die Konzentration an Plasma Retinol-RBP erniedrigt (Soprano and Blaner 1994; Vogel et al. 1999). Etwa 95% des Plasma RBPs ist mit Transthyretin (TTR) assoziiert (Peterson 1971), eine Bindung, die die glomeruläre Filtration von Retinol vermindert. Das Retinol wird weiters in Assoziation mit RBP durch dessen hydrophobe Einschlüsse vor Oxidations- und Isomerisierungsprozessen abgeschirmt (Zanotti and Berni, 2004). RBP wird primär in den Parenchymzellen der Leber synthetisiert. Eine Vielzahl von Zellen anderer Gewebstypen hat jedoch auch die Fähigkeit zur RBP-Synthese (Soprano et al. 1986).

RBP scheint für die Mobilisierung von hepatischem Retinol ins Plasma und für die zelluläre Aufnahme von Retinol in die Retina, speziell wenn die Verfügbarkeit aus der

Nahrung gering ist, verantwortlich zu sein. RBP scheint jedoch nicht essentiell für die Aufnahme von Plasma-Retinol in die meisten anderen Gewebe zu sein.

Die Mechanismen für diese nicht-RBP-medierte zelluläre Aufnahme von Retinol sind noch nicht endgültig geklärt. Es könnte sich bei einer derartig kleinen Fraktion wie dem freien Retinol um passive Diffusion handeln (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Eine Anzahl von weiteren Retinoiden, wie *all-trans* Retinsäure, *13-cis* Retinsäure, *13-cis-4-oxo* Retinsäure und *all-trans* Retinoyl β -Glucuronid sind im Plasma in nanomolaren Konzentrationen (etwa 5-10 nM) vorhanden (Wyss and Bucheli 1997; Barua and Sidell 2004).

Mit der Ausnahme von *all-trans* β -Glucuronid werden diese Retinoide im Plasma an Albumin gebunden transportiert. Die Plasma-Konzentration des Großteils dieser Retinoide ist abhängig von der Aufnahmemenge von Vitamin A and steigt normalerweise auf das Zwei- bis Vierfache nach der Aufnahme einer großen Menge an Vitamin A an (Hartmann et al. 2005).

Es ist nicht bekannt ob die Plasma-Retinoide einfach einen Retinoid-Katabolismus reflektieren oder ob sie von den Zellen aufgenommen und eingesetzt werden. (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Carotinoide sind lipophil und werden gleichfalls im Plasma an Lipoproteine gebunden transportiert. Nach der Absorption treten sie assoziiert mit Chylomikronen in die Lymphe ein und werden so hauptsächlich zur Leber transportiert.

Die Carotinoide akkumulieren nicht in den Hepatocyten. Sie werden als Bestandteile von VLDL-Partikeln mobilisiert, die wiederum in VLDL-Remnants und LDL umgewandelt werden können (Parker 1996).

Weil viele Zelltypen die Fähigkeit haben, Retinol, Retinal und Retinsäure aus Provitamin A zu synthetisieren, könnte die Lipoprotein-medierte Aufnahme von Carotinoiden wichtig für die zellulären Funktionen von Vitamin A sein (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Es wird angenommen, dass aktive Retinoidmetabolite in den Zielzellen synthetisiert werden. Die Hauptquelle für die Synthese in höheren Wirbeltieren ist *all-trans* Retinol.

Weiters wird angenommen, dass die zelluläre Aufnahme von Lipoproteinen, die aus Retinylestern, Retinol und Carotinoiden bestehen, als auch die lokal gespeicherten Retinylester in den Fetttropfchen als Ausgangssubstanzen für die Retinsäuresynthese herangezogen werden. *All-trans* Retinsäure ist der bedeutendste zelluläre Retinoidmetabolit. Sie wird aus *all-trans* Retinol in einem zweistufigen Prozess synthetisiert (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Der Retinol-Aufnahme aus dem Plasma folgt die Bildung eines holo-CRBP-Komplexes, der darauf die Synthese von Retinylestern durch das Enzym LRAT anregt (Ong et al. 1988; Yost et al. 1988).

Der Retinol-CRBP-Komplex fördert zudem die Retinsäuresynthese, da er als Substrat für die Synthese des Zwischenproduktes Retinal fungiert (Boermann and Napoli 1995).

Die Enzyme, die die Oxidation von Retinol zu Retinal katalysieren, sind noch nicht eindeutig festgelegt. Studienergebnisse lassen darauf schließen, dass zwei bestimmte Enzymfamilien für diesen Schritt verantwortlich sind.

Cytosolische mittelkettige Alkoholdehydrogenasen (ADH), im speziellen ADH1, ADH3 und ADH4, scheinen CRBPI-gebundenes *all-trans* Retinol nicht zu oxidieren (Blomhoff and Blomhoff 2005).

Die zweite Enzymfamilie, die membrangebundenen, kurzkettigen Dehydrogenasen/Reduktasen (short-chain dehydrogenase/reductase, SDR), benötigt hingegen den CRBPI-*all-trans*-Retinol-Komplex als Substrat. Sie werden in vielen Vitamin-A sensiblen Zelltypen, oft in Koexpression mit CRBPI, exprimiert.

CRBPI agiert als Chaperon für Retinol und Retinal und lenkt diese zu deren metabolisierenden Enzymen (Everts et al. 2005).

Retinaldehydrogenase (RALDH) Isozyme wandeln Retinal in einer irreversiblen Reaktion zu Retinsäure um. Die zwei am besten untersuchten RALDH Isozyme, Typ 1 und 2, katalysieren die Reaktion zu Retinsäure sowohl mit freiem, als auch CRBP-gebundenem Retinal, mit dem letzteren jedoch wesentlich effizienter (Posch et al. 1992) Von RALDH4, das in der Leber und den Nieren von Mäusen exprimiert wird, gibt es Hinweise, dass es in die Bioynthese von 9-cis Retinsäure involviert ist (Lin et al. 2003).

Die primären Determinanten für die Produktionsmenge von Retinsäure und Retinylestern aus Retinol scheinen die Enzymaktivitäten von LRAT und RALDH zu sein. Retinsäure hat direkten und indirekten Einfluss auf die Syntheserate durch die Induktion der Transkription von CRBP und LRAT (Haq and Chytil 1988; Matsuura and Ross 1993), Veränderung der RALDH und RALDH-mRNA-Levels (Penzes et al. 1997) und durch Induktion des eigenen Metabolismus (Napoli, 1986; Williams and Napoli 1985; Kurlandsky et al. 1996).

In Organen wie dem Darm, der Leber, den Nieren und der Lunge wird Retinsäure aus β -Carotin ohne vorhergehende Oxidation zu Retinol synthetisiert (Napoli and Race, 1988; Hebuterne et al. 1996).

Beim Menschen mit einer potentiell hohen Gewebskonzentration an Carotinoiden könnte β -Carotin demnach eine Retinsäurequelle sein (Blomhoff and Blomhoff, 2005).

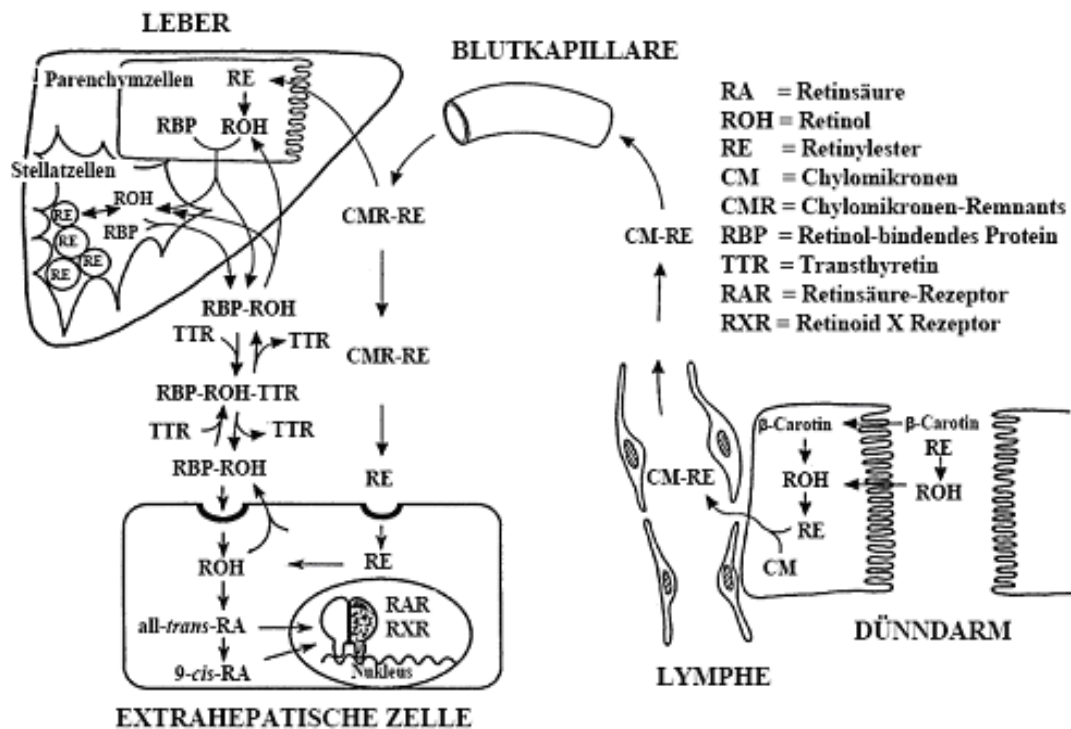


Abbildung 2: Absorption, Transport und Metabolismus von Retinoiden.

aus: Baltes (2002)

2 Wirkmechanismen der Retinoide und ihrer Kernrezeptoren

2.1 Überblick über die Kernrezeptoren

Im Unterschied zu Polypeptidhormonen, die an membrangebundene Rezeptoren binden und auf diese Weise Signal-Pathways zur Genregulierung aktivieren, assoziieren die meisten lipophilen Hormone direkt mit den Kernrezeptoren. Diese wirken als Liganden-induzierbare Transkriptionsfaktoren auf die Zielgene (Mangelsdorf et al. 1995).

Zu der Superfamilie der Kernrezeptoren gehören unter anderem Retinoide, 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ und „Orphan“-Rezeptoren mit unbekanntem Liganden (Robinson-Rechavi et al. 2003).

Die Rezeptoren werden in sechs Subfamilien unterteilt (Gronemeyer et al. 2004).

Eine dieser Familien bilden die Thyroidhormonrezeptoren (thyroid hormone receptors, TRs), Retinsäurerezeptoren (retinoic acid receptors, RARs), Vitamin D Rezeptoren (VDRs) und verschiedene „Orphan“-Rezeptoren. Zu der zweiten Subfamilie zählen die Retinoid X Rezeptoren (RXRs), Chicken ovalbumin upstream stimulators (COUPs), hepatocyte nuclear factor 4 (HNF4), Testis Rezeptoren (TR2) und Rezeptoren, die an der Entwicklung des Auges beteiligt sind (TLX und PNR) (Aranda and Pascual 2001).

2.1.1 Die Struktur der Kernrezeptoren

Wie andere Transkriptionsfaktoren weisen Kernrezeptoren eine modulare Struktur mit autonomen Funktionsdomänen auf, die zwischen zugehörigen Rezeptoren ohne Funktionsverlust ausgetauscht werden können.

Ein typischer Kernrezeptor besteht aus einer variablen NH₂-terminalen Region (A/B), einer konservierten DNA-bindenden Domäne (DBD, oder Region C), einer Verbindungsregion D und einer konservierten E-Region, die die Liganden-bindende Domäne (LBD) trägt (Abb. 3).

Die Rezeptoren besitzen zudem Regionen, die für die Aktivierung der Transkription benötigt werden. Diese liganden-unabhängige Aktivierungsfunktion (activation function, AF-1) ist in der hypervariablen A/B Region lokalisiert. Eine zweite, streng

ligandenabhängige transkriptionsaktivierende Region ist die AF-2 Domäne. Sie ist unter den Angehörigen der Kernrezeptorfamilie konserviert und befindet sich im COOH-Terminus der LBD.

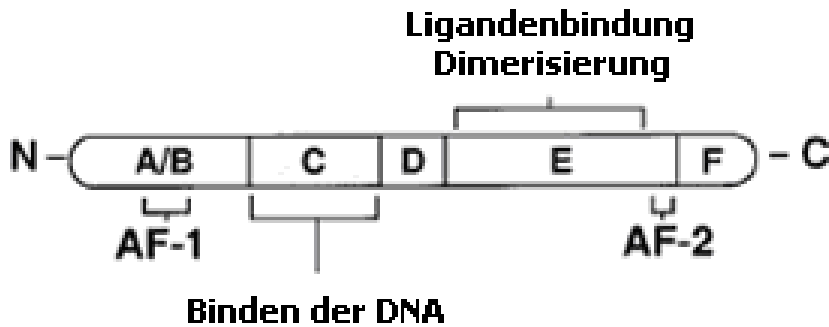


Abbildung 3: Die Struktur der Kernrezeptoren
mod. nach Aranda und Pascual (2001)

A/B Region

Hinsichtlich ihrer Größe und Sequenz ist diese modulare Region am meisten variabel. Sie besitzt in den häufigsten Fällen eine AF-1 Domäne. Die A/B Domäne zeigt Promoter- und zellspezifische Aktivität. Man vermutet, dass sie zur Aktionsspezifität der Rezeptorisoformen beiträgt.

Weiters ist sie der Hauptangriffspunkt für die Phosphorylierungen, die von unterschiedlichen Pathways vermittelt werden. Diese Modifizierung kann die Transkriptionsaktivität signifikant beeinflussen. RARs etwa können durch Cyclin-abhängige Kinasen phosphoryliert werden. Dies könnte für die ligandenabhängige bzw. -unabhängige Transaktivierung wichtig sein. MAPK-abhängige Phosphorylierung des RXRs kann auch die biologische Aktivität des Partnerrezeptors verändern (Aranda and Pascual 2001).

Die DNA-bindende Domäne C (DBD)

Die DNA-bindende Domäne C ist im Unterschied zur A/B Domäne hoch konserviert. Die DNA wird an dieser Stelle mit hoher Affinität gebunden (Aranda and Pascual 2001).

Die Hinge Region (D-Domäne)

Sie dient als Verbindung zwischen DBD und Liganden-bindender Domäne (LBD) und erlaubt die freie Rotation von DBD. Bei Anwesenheit eines Liganden oder Co-Repressoren stabilisiert sie die Rezeptorstruktur. Weiters beherbergt sie Kernlokalisierungssignale und auch Fragmente, deren Mutation die Interaktion von Co-Repressoren aufhebt (Aranda and Pascual 2001).

Die Liganden-bindende Domäne (LBD)

Die LBD ist eine multifunktionelle Domäne, die neben der Ligandenbindung auch die Homo- und Heterodimerisierung und die Interaktion mit Heat-shock proteins vermittelt. In einzelnen Fällen wird auch die reversible Unterdrückung der Transkription mediiert. Sie beherbergt das „signature motif, Ti“ und die C-terminale AF-2 (Aranda and Pascual 2001). Der untere Teil der LBD enthält die variable Region, welche die LBP (ligand-binding pocket) beherbergt (Bourguet et al. 2000). Die LBD beherbergt weiters auch Phosphorylierungsstellen (Bastien and Rochette-Egly 2004).

2.1.2 Aktionsmechanismen

Der ligandenlose Rezeptor kann entweder direkt im Kern lokalisiert sein oder erst durch das Binden eines Liganden vom Cytoplasma in den Kern wandern und dort mit Chromatin interagieren. Der Ligand kann in einem endokrinen Organ synthetisiert, in der Zielzelle aus einer Vorstufe oder Prohormon entstehen, oder auch ein endogener Metabolit in der Zelle sein (Abb. 4).

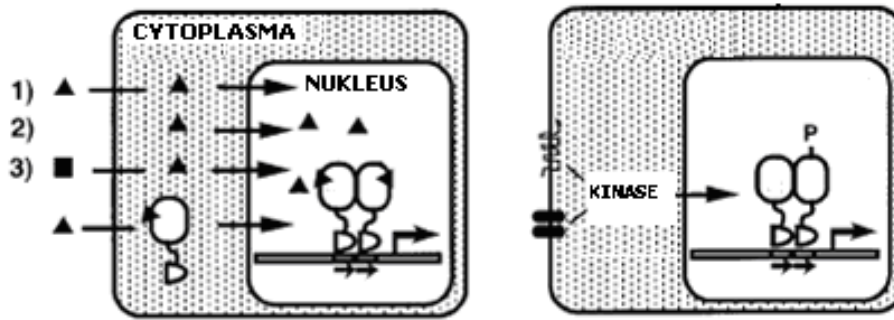


Abbildung 4: Aktionsmechanismen der Kernrezeptoren.

Links: Der Ligand kann durch drei verschiedene Wege entstehen.

- 1) ein aktiver Ligand oder ein Hormon wird in einem endokrinen Organ produziert und dringt in die Zelle ein,
- 2) der Ligand entsteht aus einer Vorstufe oder einem Prohormon in der Zielzelle und
- 3) der Ligand ist ein Metabolit, der in der Zielzelle synthetisiert wird.

Rechts: es existieren diverse ligandenunabhängige Pathways für die Kernrezeptorenaktivierung. Einige Rezeptoren sind konstitutiv aktiv, die Aktivität anderer wird durch alternative Wege moduliert, etwa durch Phosphorylierung.

mod. nach Aranda und Pascual (2001)

Die allgemein in Form von Dimeren aktiven Rezeptoren regulieren die Transkription durch das Binden an DNA-Sequenzen, die als positive oder negative hormone response elements (HREs) bezeichnet werden. Diese Elemente sind in den regulatorischen Sequenzen in der 5' flanking Region des Zielgens lokalisiert (Aranda and Pascual 2001). Bezüglich der Struktur von negativen HREs könnte die Position nahe des Transkriptionsinitiierungsortes oder auf der 3'-untranslatierten Region eine Rolle spielen.

Durch das Einwirken von Coregulatoren auf die Kernrezeptoren werden die Effekte des Rezeptors auf die Transkription vermittelt. Corepressoren sind in Nukleosom-Modifikationen involviert, die zur Verdichtung des Chromatins führen. Dies führt zu einer verstärkten physikalischen Barriere für das Andocken des Transkriptionspräinitiationskomplexes. Coaktivatoren hingegen sind für Modifikationen zur Auflockerung des Chromatins verantwortlich (Lefebvre et al. 2005). In Abwesenheit eines Liganden wird die Zielgenexpression unterdrückt, wenn eine Untereinheit des Rezeptors Corepressoren gebunden hat. Durch das Binden eines

Liganden durchläuft der Rezeptor eine Konformationsänderung. Darauf dissoziieren die Corepressoren, die Coaktivatoren werden rekrutiert und die Gene mit HREs werden aktiviert.

Neben der Aktivierung der Transkription durch das Binden von Kernrezeptoren an positive HREs ist ferner eine ligandeninduzierte Repression der Genexpression möglich. Nach dem Binden von Liganden an den Kernrezeptor wird folglich die Genexpression unterdrückt. Dies kann einerseits durch passive Inhibition, zum Beispiel durch das Konkurrieren um DNA-Bindungsstellen mit anderen Transaktivatoren, oder durch Bildung von transkriptionell inaktiven Heterodimeren geschehen.

Andererseits wird beim Binden des unbesetzten Rezeptors an negative HREs die Transkription erhöht, während bei der Assoziation mit dem Liganden diese Stimulierung aufgehoben wird. Es handelt sich hiermit auch um eine negative Regulation des Liganden.

Es gibt zudem Grund zu der Annahme, dass Corepressoren und Deacetylierungsaktivitäten in der negativen ligandenabhängigen Regulierung der Kernrezeptoren beteiligt sind. Thyroidhormonrezeptoren beispielsweise erhöhen die basale Aktivität der negativ regulierten Promotoren. Diese basale Aktivität wird durch Corepressoren und Histondeacetylasen zusätzlich verstärkt. Repression der basalen Transkription kann auch ligandenunabhängig auftreten. Unter Mitwirkung von Corepressoren führen ligandenlose Rezeptoren eine „silencing activity“ aus (Aranda und Pascual 2001).

2.1.3 Transkriptioneller „cross-talk“

Kernrezeptoren können die Genexpression auch durch positive oder negative Interferenz mit den Aktivitäten anderer Transkriptionsfaktoren, unabhängig von HREs, verändern. Dies wird als „transcriptional cross-talk“ bezeichnet (Aranda and Pascual 2001).

Die Rezeptoren binden hierbei nicht selbst an die Promotoren der Zielgene, die Activator Protein 1 (AP1)-, Nuclear Factor κ B (NF κ B)- oder cAMP response element-binding protein (CREB)-Bindungsstellen tragen. Hinter den Mechanismen werden

Protein-Protein Interaktionen zwischen den Rezeptoren und Transkriptionsfaktoren vermutet. Möglich wären auch Intermediärfaktoren, die die Rezeptoren an die Promotoren anknüpfen (Aranda and Pascual 2006).

Eines der bekanntesten Beispiele für den Cross-Talk zwischen Kernrezeptoren und AP1 Komplexen ist das Forschungsergebnis, dass einige Rezeptoren, darunter RAR, als ligandenabhängige Transrepressoren der AP1-Aktivität agieren können. Auf der anderen Seite kann AP1 die Transaktivierung durch Kernrezeptoren blockieren (Pfahl 1993).

Man nimmt an, dass viele der antiproliferativen Effekte von Liganden der Kernrezeptoren durch deren AP1-Aktivität vermittelt werden (Aranda and Pascual 2001).

In einigen Fällen kann der Cross-talk zwischen den Rezeptoren und AP1 das Binden eines Elementes involvieren, das sowohl Rezeptoren als auch den AP1-Komplex binden kann. Abhängig von dem Aufbau des AP1-Komplexes kann es entweder mit dem Rezeptor kooperieren oder antagonistisch wirken.

Eine weitere wichtige Verbindung zwischen Signal-Pathways stellt die Phosphorylierung von Kernrezeptoren dar (Perez-Juste and Aranda 1999).

Kinasen werden durch extrazelluläre Signale aktiviert, binden und phosphorylieren daraufhin die Oberflächenrezeptoren und beeinflussen so die Rezeptoraktivität (Aranda and Pascual 2001). Phosphorylierung kann einerseits die DNA-Bindungsaffinität durch eine Blockierung der Ligandenbindung an den Rezeptor reduzieren oder den Rezeptorabbau fördern. In anderen Fällen können Rezeptoren in Abwesenheit von den zugehörigen Liganden durch Phosphorylierung aktiviert werden.

Auch die Aktivität von Coaktivatoren und Corepressoren kann durch ihre Phosphorylierung verändert werden (Aranda und Pascual 2006).

2.2 Retinsäurerezeptoren

RA-Rezeptoren werden in zwei Klassen eingeteilt: die RARs (α , β , γ) werden von den *all-trans* oder *9-cis* Isomeren der Retinsäure aktiviert. Die RXRs (α , β , γ) werden nur von *9-cis* Retinsäure aktiviert. Jeder der drei Untertypen besitzt zudem verschiedene

Isoformen. Im Menschen wird die mRNA für RAR- α in den meisten Geweben exprimiert. Die Expression von RAR- β ist in Nervengewebe vorherrschend und auch wie RAR- γ in der Haut nachweisbar. RXR- β wird fast in allen Geweben gefunden, während RXR- α reichlich in der Leber, in den Nieren, der Milz und der Haut exprimiert wird. Die Expression von RXR- γ scheint im Großen und Ganzen auf die Muskeln und das Gehirn beschränkt zu sein (Xu et al. 2007).

Die Unterschiede zwischen den zwei Rezeptorklassen gehen über ihre Ligandenspezifität hinaus. Die RARs sind ligandenregulierte Rezeptoren, die ähnlich wie Vitamin D- und Thyroidhormonrezeptoren durch das Ligandenbinden zu Transkriptionsaktivatoren werden. Die RXRs dienen zusätzlich zu dieser Wirkungsweise als Hilfsfaktoren für viele Angehörige der Kernrezeptorenfamilie. Sie können mit anderen Kernrezeptoren (Thyroidhormonrezeptoren, Vitamin D-Rezeptoren, Peroxisome Proliferator-activated Receptors) heterodimerisieren und ohne Bedarf eines *9-cis* RA-Liganden die Affinität dieser Rezeptoren für ihre jeweiligen Response elements erhöhen (McCaffery et al. 2001; Chambon 1996). Weiters wurde die Heterodimerbildung zwischen RXRs und LXR, Farnesoid X Rezeptor (FXR), Pregnane X Rezeptor (PXR) NGFIB und Nurr1 berichtet (Chambon 1996).

Aus der Beobachtung, dass gereinigte RARs nicht mit hoher Effizienz an RAREs (Retinoic acid response elements) binden, folgten Experimente, die RXR β als Förderer der Bindungsaffinität zwischen RAR und RAREs identifizierten (Leid et al. 1992).

Die Rezeptorunterklassen und Isoformen sind in einer entwicklungs- und gewebsspezifischen Weise exprimiert. Dies deutet darauf hin, dass RARs und RXRs spezifische Aufgaben in der Regulation zell- und gewebsspezifischer Entwicklungsprozesse besitzen. Während die RARs und RXRs wie alle Angehörige der Kernrezeptorfamilie die typischen Domänen aufweisen, unterscheiden sie sich in ihren niedrigen Aminosäurehomologien in der Liganden-bindenden Domäne. Aus diesem Grund scheinen sie sich unabhängig voneinander entwickelt zu haben (Piedrafita and Pfahl 1999). Love et al. (2002) zeigten, dass die RXR-LBP (Ligand-binding pocket) eine globuläre Form aufweist. Hingegen ist die RAR-LBP eher linear. Dies begründet, warum RXRs nicht in der Lage sind, die langen *all-trans* RA Moleküle zu binden, wohingegen die flexibleren und kompakteren *9-cis* RA Moleküle sowohl an RARs als auch RXRs binden können (Love et al. 2002).

Die LBD von RXRs und RARs unterliegen, abhängig von der Struktur des jeweiligen Liganden, einer strukturellen Veränderung (Lefebvre et al. 1998). 11 bis 12 α -Helices wurden identifiziert, die eine multifunktionelle Domäne bilden. Sie ist in die Dimerisierung, Ligandenbindung und in die Rekrutierung der Coaktivatoren bzw. Corepressoren involviert (Lefebvre et al. 2005).

2.2.1 Coaktivatoren und Corepressoren

2.2.1.1 Die Familie der Coaktivatoren

Mehrere Proteine interagieren mit den Kernrezeptoren. Die am häufigsten vorkommenden Proteine werden als ERAPs (ER-associated proteins), RIPs (Receptor-interacting proteins), GRIPs (Glucocorticoid receptor interacting proteins) und als TRAPs (TR-associated proteins) bezeichnet. Auf eine potentielle Rolle dieser Proteine als Coaktivatoren für die Kernrezeptoren wurde durch die Ligandenabhängigkeit für die Interaktion mit den Rezeptoren geschlossen. Die Coaktivatoren interagieren nicht mit transkriptionell inaktiven Rezeptormutanten oder mit den Antagonisten-gebundenen Rezeptoren. Die p160 Familie ist eine große Coaktivatoren-Familie, deren drei Hauptvertreter SCR-1 (Steroid coaktivator 1), SCR-2 und SCR-3 sind (Aranda and Pascual 2001). Die SCR agieren in einer Liganden- und AF-2- abhängigen Weise und binden an Nichtsteroid- als auch an Steroid-Kernrezeptoren an der AF-2 Domäne jedes Monomers des Kernrezeptorendimers. Die SCR Proteine haben eine Reihe von LxxLL konservierten Motiven, die auch als Kernrezeptorenboxen in der Interaktionsdomäne des Kernrezeptors bezeichnet werden (Heery et al. 1997). Das Binden von Liganden an den RAR oder RXR eines RAR-RXR-Heterodimers initiiert die Rekrutierung eines SCR Proteins zu der hydrophoben LBD beider Rezeptoren. Ein einziger SCR kann folglich, in der Anwesenheit von RAR und RXR Liganden, an beide Rezeptoren eines RAR-RXR Heterodimers durch zwei Kernrezeptorenboxen binden (Germain et al. 2002). SCR Aktivatoren sind zudem in der Lage, Histone und Nucleosome zu acetylieren und so die Chromatinstruktur zu lockern. Dies erleichtert die DNA-Transkriptionsinitiierung (Ogryzko et al. 1996). Kim et al. (2003) beschreiben einen zweiten Coaktivator für p160 (CoCoA, coiled-coil coactivator), der eine bestimmte Domäne (bHLH-PAS) von p160 bindet und so die Transkriptionsaktivität von

Kernrezeptoren erhöht. Weiters kooperiert CoCoA synergistisch mit GRIP-1, CARM 1 und p300, um die Transkription zu verbessern.

Eine weitere Kategorie von Coaktivatoren wird als Cointegratoren bezeichnet. Ein Beispiel hierfür ist CBP/p300, ein großes nukleäres Protein, das sowohl mit Upstream Enhancers als auch mit dem grundlegenden Transkriptionsapparat an der Transkriptionsstartstelle interagieren kann (Janknecht and Hunter 1996). Weitere Studienergebnisse zeigen eine CBP/p300 Interaktion mit einer großen Vielfalt von Transkriptionsfaktoren. CBP/p300 bindet nicht nur direkt an den Kernrezeptor, sondern assoziiert auch mit der p160 Familie der Coaktivatoren durch eine COOH-terminale Region (Aranda and Pascual 2001). CBP/p300 weist überdies eine Histonacetyltransferase-Aktivität auf (Lefebvre et al. 2005) und könnte, durch die Trans-Aktivierung von Zielgenen von CREB, AP1 und den Kernrezeptoren, als Integrator von mehreren Signaltransduktionspathways im Zellkern bedeutend sein (Kamei et al. 1996).

Eine zusätzliche funktionelle Gruppe von Coaktivatoren ist der SWI/SNF-Komplex, ein ATP-abhängiger, Chromatin-umbildender Multiproteinkomplex (McGrane et al. 2007). Die generelle Rolle von SWI/SNF-Komplexen ist die Katalyse der Unterbrechung der Interaktion von DNA-Histonen, was das Gleiten von Nucleosomen entlang der DNA ermöglicht. Außerdem lässt die Rekrutierung dieser Komplexe durch ligandenaktivierte RARs und/oder RXRs auf einen essentiellen Schritt in der Transkriptionsaktivität von Retinoid-regulierten Promotoren schließen (Lefebvre et al. 2005). Auch CRABP II (cellular retinoic acid binding protein II) wird von Delva et al. (1999) als nuklearer Coaktivator gehandelt. CRABP II ist mit RAR α und RXR α in einer ligandenunabhängigen Weise assoziiert. Im Kern bindet dieser Proteinkomplex an RXR-RAR-spezifische Response Elements eines Retinsäurezielgens. Weiters wird in der Anwesenheit von Retinoiden, die Kernrezeptoren als auch CRABP II binden, eine Verbesserung der Transaktivierung von RXR α -RAR α -Heterodimeren bei der Beteiligung von CRABP II beobachtet (Delva et al. 1999). CRABP II ist als ligandenbindendes Protein durch den Unterschied in der Homologie kein klassischer Coaktivator (McGrane et al. 2007).

2.2.1.2 Corepressoren

Das Binden von Corepressoren verändert die AF-2 Domäne von Kernrezeptoren und rekrutiert einen großen Proteinkomplex mit Histondeacetylasen zu einem Zielgen (Nagy et al. 1999; Heinzel et al. 1997; Alland et al. 1997). Das hypoacetylierte Chromatin kondensiert darauf und der Zugang zur DNA wird den Transkriptionsfaktoren und der allgemeinen Transkriptionsmaschinerie verwehrt (Kouzarides 2002; Jenuwin and Allis 2001).

Zuallererst wurden NCoRs (Nuclear receptor corepressors) und SMRTs (Silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptors) als homologe Corepressoren von ligandenfreien Thyroidhormonrezeptoren identifiziert. Interessanterweise besitzt der NCoR, im Gegensatz zu dem SMRT, ein in Maus und Mensch konserviertes LXXLL Motiv, das zwischen den Repressordomänen 1 und 2 angeordnet ist und für die Interaktionsvermittlung von Kernrezeptoren wie RAR α von Bedeutung ist (Loinder and Söderström 2004). Beide NCoR und SMRT Proteine weisen vier autonome Repressionsdomänen auf und inhibieren die Transkription von Zielgenen durch das Binden von LBDs der Kernrezeptoren, wie auch RAR und RXR (Horwitz et al. 1996). RARs binden mit starker Affinität an den SMRT und mit schwacher Affinität an den NCoR. RXR scheint keine Präferenz zu zeigen. RAR Isotypen unterscheiden sich in den Affinitäten zu SMRT und NCoR voneinander (Wong and Privalsky 1998; Germain et al. 2002). Die biologischen Funktionen der NCoRs wurden durch Geninaktivierungsstudien bei Mäusen teilweise belegt. Eine NCoR^{-/-}-Mutation ist für den Embryo tödlich. Embryos zeigen eine gestörte Erythropoese, die zu einer schweren Anämie führt. Weiters werden eine gestörte Entwicklung der Thymocyten und neurale, hauptsächlich den Thalamus betreffende Defekte festgestellt (Lefebvre et al. 2005). Der SMRT kann demnach nicht die entscheidenden Funktionen des NCoRs ausgleichen. Yu et al. (2006) konnten zeigen, dass der SMRT eine gewisse Bedeutung für die zelluläre Behebung von DNA-Doppelstrangbrüchen besitzt.

2.2.1.3 Rekrutierung der Coaktivatoren

Durch die Repositionierung der Helix H12 an der LBD wird von den Helices 3,4 und 5 und der AF-2-aktivierenden Domäne eine hydrophobe Spalte gebildet, welche LXXLL Motive bindet. Die Interaktion wird durch 3 Leucine im α -helicalen LXXLL Motiv

sichergestellt, die ebenso eine hydrophobe Spalte ausbilden. Zudem wird die Interaktion durch Faktoren wie etwa durch bestimmte Reste um das LXXLL Motiv stabilisiert (Lefebvre et al. 2005).

2.2.1.4 Rekrutierung der Corepressoren

Im C-Terminus der Corepressoren finden sich zwei konservierte LXXI/HIXXXI/L Motive, die mit der LBD interagieren. Dieses Motiv ähnelt dem Coaktivatorenmotiv, was auf eine konservierte Interaktionsform von Coaktivatoren und Corepressoren mit der LBD schließen lässt. Der N-terminale Teil der Peptidsequenz des Corepressors dehnt sich und verdeckt dadurch die AF-2 AD Interaktionsfläche. Dies erklärt, warum sich das Binden von Coaktivatoren und Corepressoren gegenseitig ausschließt (Lefebvre et al. 2005).

Es ist wichtig festzuhalten, dass die Retinoidhormonrezeptoren sowohl im unterdrückten als auch im aktiven Stadium an ihre Zielgene gebunden bleiben. Das bedeutet, dass der Wechsel der Cofaktoren ohne Dissoziation des regulierenden Komplexes geschehen kann (Nagy et al. 1999).

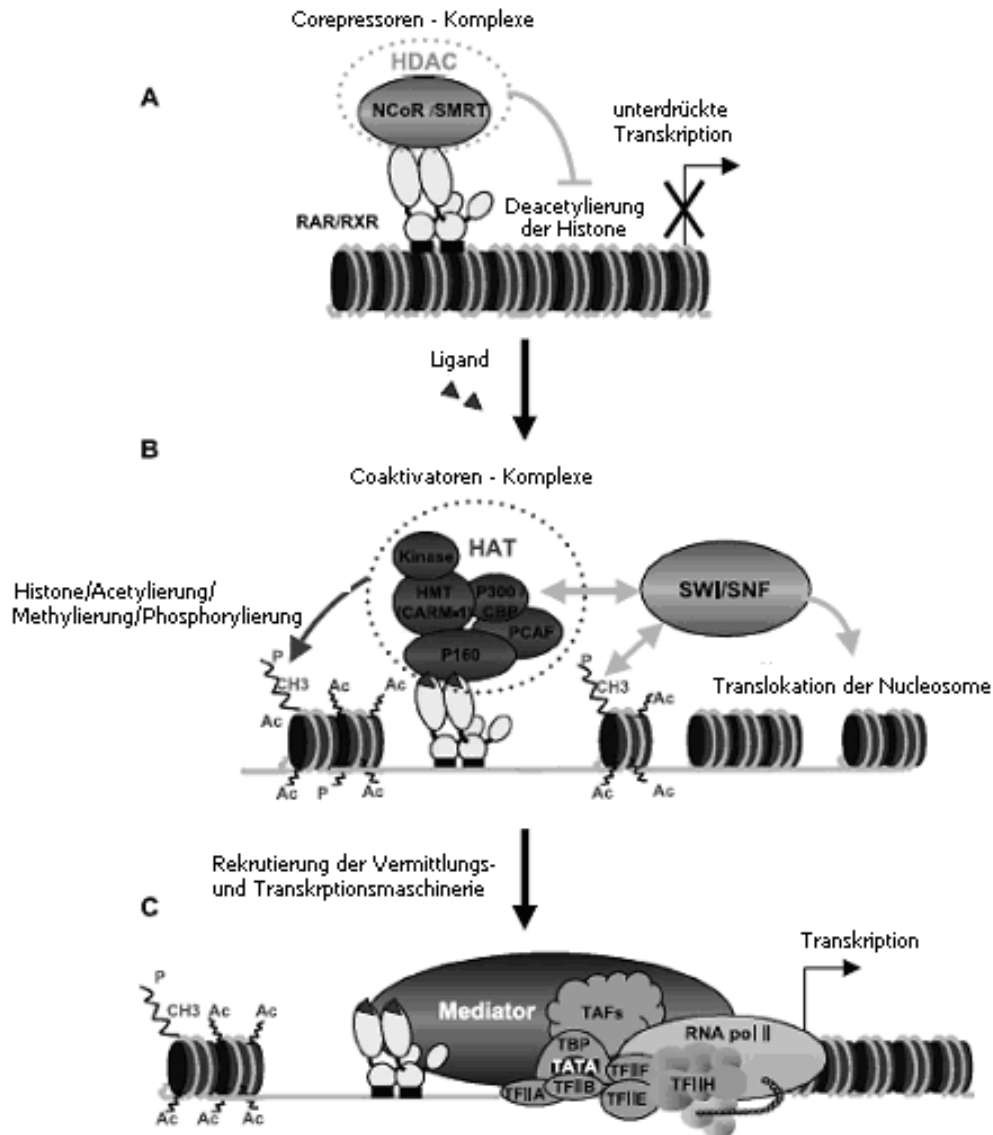


Abbildung 5: Der drei Schritte umfassende Mechanismus von Retinoidrezeptoren.

(A) In der Abwesenheit eines Liganden sind die Retinoidrezeptoren an Response elements gebunden, die im Promoter der Zielgene lokalisiert sind. Die Rezeptoren sind weiters mit Histon-Deacetylase-besitzenden Komplexen durch Corepressoren assoziiert. Die Transkription ist unterdrückt. (B) Wenn ein Ligand gebunden wird, dissoziieren die Corepressoren. Coaktivatoren werden rekrutiert, die mit Histon-Acetyltransferase-, Methyltransferase-, Kinase-aktiven oder ATP-abhängigen Komplexen assoziiert sind. Das verdichtete Chromatin wird gelockert. (C) Im dritten Schritt dissoziieren die Coaktivatoren und der SMCC-Mediator-Komplex tritt in Kraft. Der Mediator beschleunigt den Einzug der RNA-Polymerase II und der generellen Transkriptionsfaktoren zum Promotor. Die Folge ist die Transkriptionsinitiierung.

mod. nach Bastien and Rochette-Egly (2004)

2.2.2 Phosphorylierung der Retinoidrezeptoren

Die molekularen Aktionsmechanismen der Retinoide werden ferner durch die kovalenten Rezeptormodifikationen durch Phosphorylierungs- bzw. Dephosphorylierungsreaktionen erweitert. RARs und RXRs stellen für eine Vielzahl von Kinasen Substrate dar. Signal-Pathways, die unter anderem MAP-Kinasen (Mitogen-activated protein kinases), PI3K (Phosphatidylinositol-3-Kinase) und PKA (Cyclic AMP-dependent protein kinase) aktivieren, sind auch in die Kontrolle von Retinoid-vermittelter Transkription involviert. Die Phosphorylierung der Retinoidrezeptoren veranlasst sie zur Rekrutierung von Cofaktoren (Bastien and Rochette-Egly 2003). RARs werden von PKA an den Serinresten der LBD phosphoryliert (Rochette-Egly et al. 1995). Bei RXRs hingegen findet die Phosphorylierung an den Serin- und Thyrosinresten der LBD durch MAP-Kinasen statt (Lee et al., 2000; Matsushima-Nishiwaki et al. 2001). Weitere Phosphorylierungsstellen finden sich an der A/B Domäne und hier hauptsächlich an Serinresten. In kleinerem Ausmaß finden auch Phosphorylierungsreaktionen an der F Domäne statt (Hong and Privalsky 2000).

Zudem vollzieht sich ein cross-talk mit dem Retinoidrezeptoren-Transaktivierungsprozess durch die Phosphorylierung von Coaktivatoren und Corepressoren. Die Phosphorylierung von etwa SMRT führt zu einer Interaktionsinhibierung mit RARs und deren Transport vom Kern ins Cytoplasma. So kann die Phosphorylierung neben der *trans*-Aktivierung von Zielgenen auch in die darauffolgende Degradation oder in den Export des Retinoidrezeptors involviert sein. Phosphorylierung von z.B. p300/CBP und SCR-1 durch MAPKs und PKA verstärkt ihre Enzymaktivität als auch die Interaktion mit Retinoidrezeptoren und Histonacetylase (HAT)-Komplexen. Auch Histone und die RNA Polymerase II können phosphoryliert werden. Durch sie wird die Effizienz von HATs und HMTs (Histonmethyltransferasen) gesteigert, die die nahen Lysinreste acetylieren bzw. methylieren. Auch die GTFs (General transcription factors) können phosphoryliert werden (Bastien and Rochette-Egly 2004).

Alle Phosphorylierungsprozesse dienen der Ausbildung eines effizienteren Transkriptionsinitiationskomplexes und einer kontrollierten Reaktion.

2.2.3 Degradation der Retinoidrezeptoren

Der letzte bedeutende Schritt der Molekularmechanismen von Retinoiden umfasst die Degradation von Retinoidrezeptoren, welche die Ausschaltung des Retinoidsignals zur Folge hat. In eukaryoten Zellen ist der Ubiquitin-Proteasom-Pathway der Hauptmechanismus für die gezielte Degradation von kurzlebigen Regulationsproteinen und Transkriptionsfaktoren, wie auch bei RARs und RXRs (Kopf et al. 2000). Ein häufiges Merkmal von Proteasom-vermittelter Proteindegradation ist die kovalente Anlagerung von Ubiquitin an die Lysinreste der Proteine. Darauf folgend binden Polyubiquitinketten an das Zielprotein. Die ubiquitinierten Proteine werden erkannt und von dem 26s Proteasom, ein Proteasekomplex, abgebaut (Hershko and Ciechanover 1998; Laney and Hochstrasser 1999). Auch der Degradation geht eine Phosphorylierungsreaktion voran. Sie dient somit nicht nur der Assoziation und Dissoziation von Coregulatoren, sondern auch der Rekrutierung von Ubiquitinligasen. Kopf et al. (2000) berichten, dass RAR γ in einer retinsäureabhängigen Weise über den Ubiquitin-Proteasom-Pathway abgebaut wird. Diese Degradation benötigt die Phosphorylierung an der N-terminalen Region des Rezeptors und ist gänzlich abhängig von der Heterodimerisierung des ligandengebundenen RXRs. RAR α 1 und RXR α 1 werden im ligandengebundenen Zustand zerstört. Für ihre Degradation bedarf es jedoch zusätzlicher Voraussetzungen. Weiters wurde gezeigt, dass jeder Partner eines RXR/RAR Heterodimers die Degradation des jeweils anderen Partners moduliert. Dies lässt darauf schließen, dass RARs und RXRs eine wichtige Rolle in der Aktivitätskontrolle von RAR/RXR Heterodimeren spielen. (Kopf et al. 2000). Die Phosphorylierung könnte also eine *trans*-Aktivierung durch RAR γ als auch eine darauf folgende Degradation von RAR γ durch vermehrte Ubiquitinylierung bewirken. Dieses Modell ist bis jetzt nur eingeschränkt gültig, da es nur für RAR γ bewiesen ist (Gianni et al. 2002). Phosphorylierung könnte auch die Dissoziation von Retinoid-Rezeptor-gebundene Inhibitoren induzieren und dadurch die lokalen Lysinreste für den Angriff der Ubiquitinligasen freigeben (Bastien and Rochette-Egly 2004).

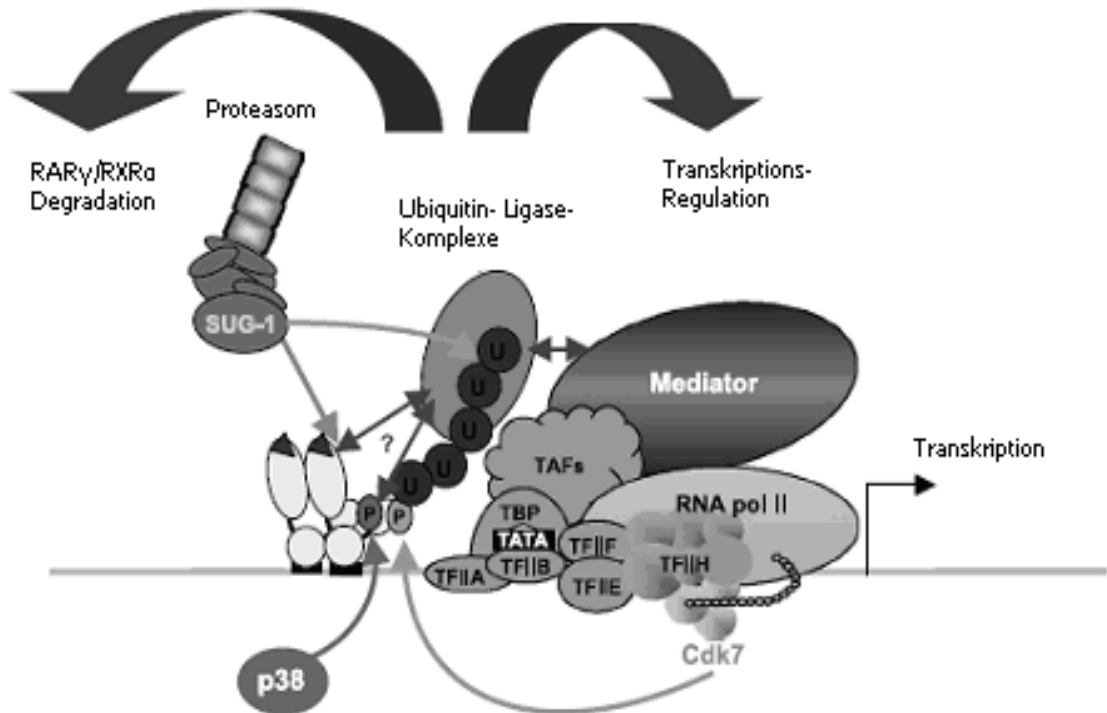


Abbildung 6: Die Auswirkungen von Phosphorylierungen auf die RAR γ -vermittelte Transkription von Zielgenen.

Ein Teil des Liganden-gebundenen RAR γ 2, der mit RXR α heterodimerisiert ist, wird von der cdk7 Untereinheit von TFIID an einem Serinrest in der AF-1 Domäne phosphoryliert. Daraufhin führt die Retinsäure-induzierte Aktivität von p38MAPK zur Phosphorylierung des zweiten Serinrestes. Phosphorylierung dieser zwei Serine ist ein Schritt, der auf der einen Seite die Transkription, auf der anderen Seite die Degradation von RAR γ durch 26s Proteasome kontrolliert. Die Phosphorylierung könnte durch die Rekrutierung von Ubiquitin-Ligase-Komplexen wirken. Eine zweite Theorie schlägt vor, dass die Phosphorylierung die Dissoziation von Inhibitoren induziert. Dadurch würden die Lysinreste für Ubiquitinligasen verfügbar sein. Man vermutet, dass Oligo-Ubiquitylierung transkriptionsmodulierend wirkt, während die Poly-Ubiquitylierung die Umschaltung auf die Degradation signalisiert.

mod. nach Bastien and Rochette-Egly (2004)

2.2.4 Klassischer Pathway der Retinoid-Signalwirkung

Im Einklang mit ihrer unabhängigen Entwicklung sind die Aufgaben von RARs und RXRs auch sehr verschieden. Die RARs scheinen hauptsächlich für die Vitamin A Signaltransduktion verantwortlich zu sein. Um aber ein Retinoidsignal in die transkriptionelle Aktivierung eines Gens zu konvertieren, müssen die RARs mit RXRs heterodimerisiert sein (Piedrafita and Pfahl 1999).

Hinsichtlich der molekularen Mechanismen hat sich so schließlich ein klassischer Pathway abgezeichnet. Es handelt sich um *all-trans* RA mit einem Dimer aus einem RAR und einem RXR und einem mehr oder weniger gleichartigen DNA Response Element. Der klassische RA-Pathway umfasst Ligandenbindung, Rezeptordimerisierung, DNA-Bindung und die daraus resultierende transkriptionelle Modulation des Gens, dessen regulatorisches Element gebunden worden ist (Balmer und Blomhoff 2002). In vivo Studien mit knockout Mäusen und Studien mit Zelllinien lieferten die Beweise für die essentielle Rolle der RXR-RAR Heterodimere für die Retinoid Signaltransduktion (Kastner et al. 1997; Chiba et al. 1997).

Die Invalidierung des RAR α 1 Gens, das für die am meisten vorkommende Isoform von RAR α kodiert, brachte Mutantenmäuse ohne grobe Veränderung ihres Phänotypes hervor. Die Mäuse zeigten Testisdegeneration, und sehr wenige Homozygoten, die einige Merkmale einer Vitamin A Defizienz aufwiesen, überlebten über zwei Monate hinaus (Li et al. 1993; Lufkin et al. 1993). Geninaktivierung des RAR β -Gens ergab wachstumsfähige Mäuse, die empfindlich auf die teratogenen Effekte von Vitamin A ansprachen (Luo et al. 1995). RAR β ^{-/-}-Mäuse sind fruchtbar, weisen eine normale Lebensdauer auf und zeigen homeotische Missbildungen der Halswirbel (Ghyselinck et al. 1997) sowie ein starkes Defizit der neuronalen Plastizität, was eine beeinträchtigte Entwicklung der räumlichen Wahrnehmung und Gedächtnisfähigkeit bewirkt (Chiang et al. 1998). RAR β 12 null Mäuse sind auch lebensfähig, zeigen jedoch Augenfehler, die an Vitamin A defiziente Tiere erinnern. Auffallend ist ein besonders ausgeprägter Defekt des Glaskörpers (Mendelsohn et al. 1994; Grondona et al. 1996). RAR γ 1 Null Mutanten zeigen die meisten Defekte vergleichbar mit denen der RAR γ Mutanten. Hier kam es zu Wachstumseinschränkungen und Ringknorpelabnormalitäten (Subbarayan et al. 1997). Interessanterweise weisen RAR γ Mutanten auch bei Retinoidbehandlung der

Mutter keine Neuralrohrdefekte auf (Iulianella et al. 1999). Die Entfernung des RXR α Gens, als auch das Abschneiden der C-terminalen Aktivierungsfunktion, sind Mutationen die letal auf den Embryo wirken (Kastner et al. 1994; Mascrez et al. 1998; Sucov et al. 1994) Auch die Inaktivierung des RXR β -Gens ist für den Embryo zu 50% letal. Überlebende Männchen sind, bedingt durch die Ansammlung von ungesättigten Lipiden in den Sertoli Zellen, unfruchtbar (Kastner et al. 1996). Inaktivierung des RXR γ ^{-/-}-Gens bei Mäusen folgte eine verminderte Expression des Dopaminrezeptors D2, was auf eine Rolle des Retinoid-Pathways in der Kontrolle der Fortbewegung hindeutet (Samad et al. 1997; Krezel et al. 1998).

Compound Mutanten, bei denen eine Null Mutation eines bestimmten RAR Isotypes (α , β oder γ) mit einer RXR α Null Mutation, einer RXR α af1^o Mutation, RXR α af2^o Mutation oder RXR α af^o Mutation assoziiert wurde, zeigten alle Abnormalitäten der RAR Double-Mutanten (Mascrez et al. 2001; Mark and Chambon 2003; Kastner et al. 1995), die zum Tod im Uterus oder kurz nach der Geburt und zu zahlreichen Entwicklungsabnormalitäten, wie Missbildungen des Kopfes, Rückenwirbel und Gliedmaßen und Abnormalitäten des Nackens, des Rumpfes und der abdominalen Region, führten (Mendelsohn et al. 1994). Ein Überblick über die die Phentypen von RAR/RXR Compound Mutanten hat zudem gezeigt, dass RXR α der Isotyp mit der größten Bedeutung in der Embryogenese ist (Kastner et al. 1997).

2.2.5 Zielgene von RA

Balmer und Blomhoff (2002) haben 532 Gene identifiziert, die als regulatorische Ziele in der Anwesenheit von RA dienen. Von diesen werden im zellulären Zusammenhang unbestreitbar 27 Gene durch den klassischen Pathway kontrolliert (Kategorie 1 Gene). Weitere 105 Gene können auf transkriptionellem Level in weniger als sechs Stunden nach einer Gabe von 1 μ M RA oder weniger moduliert werden, Sie werden als potentielle Kategorie 3-Kandidaten verstanden, da andere Indikatoren von direkter Regulierung bis jetzt noch nicht entdeckt worden sind (Kategorie 2 Gene). 124 Gene scheinen in dem von Balmer und Blomhoff untersuchten Rahmen indirekt reguliert zu werden. Neun weitere Gene (*Adh1*, *BTK*, *FSCN2*, *Hif9c*, *ISBSP*, *ITGB7*, *LPL*, *Ranbp1* und *Slc9a2*) werden in der Literatur diskutiert. Die Beweislage für eine Regulierung dieser Gene durch Retinsäure auf transkriptioneller Ebene ist jedoch nicht stark

(Kategorie 0 Gene). Die verbleibenden 267 Gene werden durch RA auf irgendeine Art reguliert, allerdings lässt das derzeitige Datenmaterial keine Zuordnung zu direkter oder indirekter Kontrolle zu (Kategorie 1).

Im Hinblick auf die Regulationsrichtung sind im untersuchten Kontext 311 Gene fast immer up-reguliert, 109 sind fast immer down-reguliert und der Rest ist variabel. Gene, die direkt durch RA kontrolliert werden, sind up-reguliert. Diese Gene sind keine einheitliche oder voraussagbare Gruppe, weder in der Funktion noch in der Sequenz. Zwei Untergruppen verdienen besondere Aufmerksamkeit. Zum einen sind dies Gene, die in irgendeiner Weise in Verbindung mit dem Metabolismus, der Funktion oder der mutmaßlichen evolutionären Entwicklung der Retinoide gebracht werden (*RARA*, *RARB*, *RARG*, *Pbp1*, *CRABP2*, *ADHIC*, *ADHIC*, *CRYAB*, *Drd2*), zum anderen Gene, die homeobox Domänen tragen (*Hoxa1*, *HOXA4*, *Hoxb1*, *Hoxb4*, *Hoxd4*, *Cdx1* und *Pit1*). Die Kategorie 2-Gene, die in der Anwesenheit von RA mehr oder weniger schnell up- oder downreguliert werden, kodieren für nahezu alle Proteintypen. Einige Domänenbauweisen tauchen jedoch immer wieder unter den Kategorie 2 und Kategorie 3 Genen auf. Neben 11 Homeobox Domänen werden auch sechs Zinkfingerproteine, von denen fünf Kernrezeptoren mit sowohl c4 Zinkfingerdomänen als auch Kernrezeptor-Ligandenbindende Domänen sind. Fünf der 132 Gene in den beiden Kategorien sind von der Lipocalin/cytosolischen Fettsäure-bindenden Proteinfamilie und fünf tragen Domänen, die Tyrosinkinase katalytisch oder eukaryotische Proteinkinase katalytisch sind. Drei Gene kodieren für helix-loop-helix DNA-bindende Domänensequenzen und drei kodieren für kurzkettige Dehydrogenasen und drei Gene tragen TGF- β Propeptid Domänen (Balmer und Blomhoff 2002).

2.3 Orphan Rezeptoren und ihre Interaktionen mit Retinsäuresignalen

Als Orphan Rezeptoren werden jene Kernrezeptoren klassifiziert, die mit einem hoch affinen, jedoch bis heute unidentifizierten Liganden wechselwirken (Mc Caffery et al. 2001).

Beweise für die transkriptionelle Aktivität gibt es im Großen und Ganzen im Hinblick auf ihre Inhibition der Zellproliferation. Konträr dazu ist die Beobachtung, dass

Retinsäure in bestimmten Geweben das Überleben der Zelle eher fördert als inhibiert (Schug et al. 2007). Retinsäure ist etwa wichtig für das Überleben von Neuronen (Jacobs et al. 2006). Eine Studie liefert zusätzliche Beweise für eine beschleunigte Bildung von Hautkrebs (Verma et al. 1982). Obwohl Retinsäure eine entscheidende Rolle in der Erhaltung der Hautintegrität spielt, zeigten RAR α -, RAR γ - und RAR β -Null Mutantenmäuse eine normale Keratinocytenproliferation. Dies lässt darauf schließen, dass Retinsäurewirkmechanismen in der Haut über einen RAR-unabhängigen Pathway ablaufen müssen (Schug et al. 2007). Als Beispiele für Orphan-Rezeptoren, die mit Kernrezeptoren wie RARs und RXRs interagieren, werden hier die Gruppe der COUP-TFs, nur77 (NGFI-B, NR4A1) und die Gruppe der PPARs behandelt.

2.3.1 COUP-TFs (chick ovalbumin upstream promotor-transcription factors)

Studien belegen, dass COUP-TFs in die Regulation der Retinoidantworten involviert ist (Wu et al. 1997; Lin et al. 2000). COUP-TF wird von den Genen COUP-TF I und COUP-TF II kodiert. Obwohl COUP-TFs zuallererst als Transkriptionsaktivatoren des chicken ovalbumin Gens charakterisiert wurden, werden sie als Transrepressoren für andere Hormonrezeptoren wie RAR, TR, VDR, PPAR als auch HNF4 (Hepatocyte nuclear factor 4) gehandelt. Vier Mechanismen wurden bis jetzt beschrieben, die für die repressiven Effekte von COUP-TFs in Frage kommen. Erstens können sie durch das Konkurrieren mit PPAR, VDR, TR und RAR um Bindungsstellen die Induktion der Expression von Zielgenen unterdrücken. COUP-TFs binden an eine Vielzahl von Response elements, die DR1 (Direct repeat 1), DR3, DR4 und DR5 des AGGTCA Motivs. Die Repression wird hierbei durch eine erhöhte Expression von RAR aufgehoben. Zweitens werden durch das Konkurrieren um RXR mit anderen Kernrezeptoren die verfügbaren Konzentrationen an RXR vermindert. COUP-TFs bilden zudem Heterodimere mit RARs und stören so ihre Funktion. Drittens unterdrücken COUP-TFs die basale Transkriptionsaktivität. Sie besitzen eine aktive Silencing Domäne am C-Terminus der vermuteten LBD. Diese Repressordomäne kann zu einer heterologen GAL4 DBD transferiert werden. (Park et al., 2003). Shibata et al. (1997) zeigen, dass Corepressoren wie NCoR und SMRT mit COUP-TFs interagieren. Ferner assoziieren COUP-TFs durch ihre C-terminalen Repressionsdomänen mit Histonacetylasen. Folglich können COUP-TFs durch diesen beobachteten

Mechanismus an einem ligandenlosen RAR/RXR Heterodimer die Transkription unterdrücken (Perlmann and Evans 1997). Viertens können COUP-TFs auch als positive Regulatoren für viele verschiedene Gene wirken. Dies kann wiederum durch das Binden an DNA Response Elements der Kernrezeptoren, durch das Binden an DNA Elemente, oder durch Protein-Protein-Interaktionen mit DNA-gebundenen Faktoren geschehen. Die genauen Mechanismen dieser Funktionsdualität sind noch ungeklärt. Sie könnten von dem Bestand der Coregulatoren abhängen, die mit COUP-TFs interagieren (Park et al. 2003).

Wu et al. (1997) demonstrieren, dass COUP-TFs für die Retinsäuresensibilität in bestimmten Lungenkrebszellen benötigt werden. Um zu untersuchen in welchem Ausmaß COUP-TFs in der Regulation der RAR β -Expression beteiligt sind, analysierten Lin et al. (2000) die Expressierung von COUP-TFs in verschiedenen Krebszelllinien. Die Gruppe konnte überzeugende Hinweise für den Bedarf an COUP-TFs liefern, um gemeinsam mit Retinsäure die RAR β -Expression zu induzieren, das Wachstum der Krebszellen zu inhibieren und die Apoptose einzuleiten. Das Expressionsende von COUP-TFs wird als Hauptfaktor für die verminderte bzw. fehlende RAR β -Expression in Krebszellen beschrieben. Weiters wurde gezeigt, dass COUP-TFs synergistisch die Retinsäure-abhängige RAR α Transaktivierungsfunktion im RAR β -Promoter erhöhen. Dies geschieht durch das Binden von COUP-TFs an das direct repeat 8 (DR-8) Element im Promotor, was die Interaktion von RAR α mit seinem Coaktivator CBP (CREB binding protein) verbessert (Lin et al. 2000).

2.3.2 Nur77 (NGFI-B, NR4A1)

Nur77 wird von einer Reihe von Wachstumsförderern wie Growth Factors und Phorbolestern induziert und vermittelt Wachstumssignale (Wu et al. 1997). Nur77 bindet als Monomer an sein Recognition Element (NRBE), das aus einem half-site binding motif (AGGTCA) von RAR/TR/VDR mit zwei zusätzlichen Adenin-Nucleotiden am 5'-Ende (AAAGGTCA) besteht (Wilson et al. 1991). Diese Sequenzen werden auch im RAR β -Genpromoter gefunden und sind im Retinsäure Response Element β RARE lokalisiert. Nur77 ist folglich befähigt, an das β RARE in heterodimerisierter Form mit RXR zu binden (Perlmann and Jansson, 1995). Dies legt

nahe, dass nur77 in die Regulation der RAR β Genexpression involviert ist und als Interaktionsvermittler zwischen Retinoid- und Wachstumssignalen fungiert (LeBlanc and Stunnenberg 1995). Wu et al. (1997) zeigten, dass nur77 die Transaktivierungsaktivität von RAREs in einer Retinsäure- und RAREs- unabhängigen Weise signifikant verbessert. Der desensibilisierende Effekt von nur77 auf RAREs beruht auf der Inhibition des Bindens von COUP-TF RARE durch direkte Protein-Protein-Interaktionen. In menschlichen Lungenkrebszellen wird der Verlust der Retinsäuresensibilität mit einer Überexpression von nur77 und/oder mit einer niedrigen Expression von COUP-TF assoziiert. Durch eine höhere Expression von COUP-TFs kann die Sensibilität wieder hergestellt werden. Dieser Mechanismus wird als wichtig für die Regulation der Retinoidsensibilität in Lungenkrebszellen und für den Cross-Talk zwischen Wachstumsfaktoren und Vitamin A Signaltransduktionspathways in der Zelle gesehen (Wu et al. 1997).

Es gibt weiters Hinweise für eine Beteiligung von nur77 und Retinoiden an der Signalkaskade, die durch Administration von Dopamin-D₂-Rezeptor-Antagonisten ausgelöst wird. Das derzeit vorhandene Datenmaterial deutet auf eine Beteiligung von nur77 und Retinoiden in der Ausbildung von akuter EPS (Parkinson) und Enkephalin-Opioid-Genexpression hin, das durch konventionelle Neuroleptika induziert wird (Ethier et al. 2004).

2.3.3 PPARs (Peroxisome proliferator-activated receptors)

Alle drei PPAR Isomere (PPAR α , PPAR β/δ , PPAR γ) sind in die mit dem Fettsäuremetabolismus assoziierten Genexpression involviert (Grimaldi 2007). Die PPAR Mechanismen werden auch mit der Regulation des Glucosemetabolismus und der Kontrolle von Entzündungsreaktionen in Verbindung gebracht (Barish et al. 2006; Ziouzenkova and Plutzky 2004). PPAR α reguliert wahrscheinlich die Triglyceridsynthese, verschiedene Aspekte des Lipoproteinmetabolismus und Lipoproteintransportes als auch die peroxisomale und adaptive mitochondrielle β -Oxidation (Michalik 2006). PPAR γ wird als Regulator der Fettsäurespeicherung in Adipocyten und der eigentlichen Adipogenese gesehen (Rosen 1999). Die biologischen Funktionen von PPAR β/δ sind noch nicht gänzlich aufgeklärt, man hat jedoch ihre

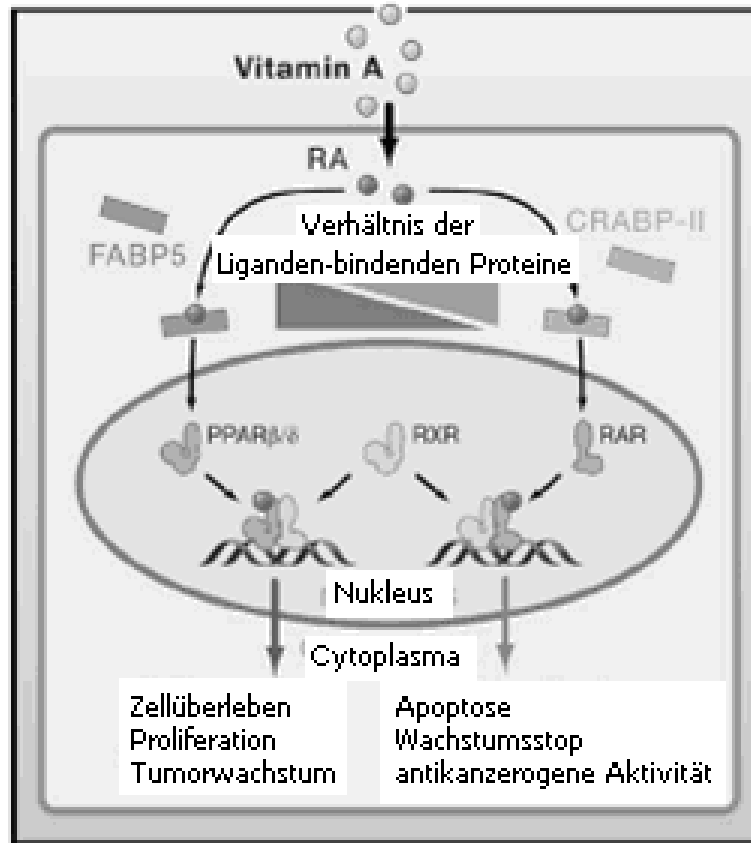
Vermittlereigenschaften bei der Differenzierung von Keratinocyten und Oligodendrocyten beobachtet (Tan et al. 2001; Saluja et al. 2001). Zudem wird PPAR β/δ als ein wichtiger Regulator der Fettsäureoxidation in Muskel und Fettgewebe gesehen (Barish et al. 2006).

Da diese Rezeptoren in beinahe allen Geweben exprimiert werden, stellt sich die Frage, welche Liganden an PPARs in Geweben binden, die die Aktivierung durch Retinsäure nicht unterstützen (Kliwer et al. 1994). Durch die viel größeren ligandenbindenden Taschen von PPAR β/δ wird angenommen, dass die Rezeptoren mit mehreren Liganden, wie langkettigen Fettsäuren und Eicosanoiden, interagieren (Xu et al. 1999; Bucco et al. 1997). Die Retinsäure-bindenden Proteine CRABP-I und CRABP-II schwächen bzw. erhöhen die zelluläre Antwort auf Retinsäuresignale (Dong et al. 1999). Beide Retinsäure-bindenden Proteine gehören zu einer evolutionär konservierten Familie, zu der auch neun FABPs (fatty acid-binding proteins) zählen (Chmurzynska 2006). Einige FABPs, wie FABP4 (adipocyte FABP) transportieren Liganden zu den PPARs und erhöhen die Aktivitäten von PPAR β/δ und PPAR γ (Tan et al. 2002). Auch die PPARs und RARs gehören derselben Typ-2 Klasse der Kernrezeptorsuperfamilie an (Michalik et al. 2006). Dies deutet auf eine Koevolution der Fettsäure- wie auch Retinoid-bindenden Familien parallel zu den RAR- und PPAR-Familien hin (Michalik et al. 2007).

Shaw et al. (2003) zeigten, dass Retinsäure PPAR β/δ mit nanomolarer Affinität bindet, die mit der Affinität von anderen PPAR-Liganden vergleichbar ist. Retinsäure moduliert die Konformation des Rezeptors, fördert die Interaktion mit dem Coaktivator SRC-1 und aktiviert die PPAR β/δ -vermittelte Transkription.

Durch PPAR β/δ vermittelte Retinsäuresignale haben gewichtige funktionelle Auswirkungen, wie das von Schug et al. (2007) beobachtete Einleiten von antiapoptotischen Aktivitäten. Die Bindungsaffinität des CRABP-II/RAR Pathways zu Retinsäure übersteigt jene des FABP5/PPAR β/δ Pathways. Die Aktivierung von PPAR β/δ durch Retinsäure wird demnach nur in Zellen mit einem hohen FABP5/CRABP-II Verhältnis auftreten. Dies wurde von Schug et al. (2007) mittels menschlicher Brustkrebszelllinien (MCF-7), Keratinocyten und NaF Zellen nachgewiesen. MCF-7 Zellen mit einem niedrigen FABP5/CRABP-II Verhältnis antworten auf Retinsäure mit der Aktivierung von RAR. In Keratinocyten und NaF-Zellen wird hingegen PPAR β/δ

aktiviert, da sie ein hohes FABP5/CRABP-II Verhältnis aufweisen. Ein hohes FABP5/CRABP-II Verhältnis hebt die durch Retinsäure ausgelöste Upregulation von



RAR Zielgenen auf. Sehr effiziente RAR Ziele, wie das Retinsäure-abbauende Cyp26a, trotzen der gedämpften Antwort. Kritische Funktionen, die durch RARs vermittelt werden, sind demnach im Hintergrund der dominanten PPARβ/δ Antwort aktiv (Shug et al. 2007).

Abbildung 7: Transport von RA in der Zelle.

RA wird in der Zelle, abhängig von ihrem Verhältnis, entweder von CRABP-II oder FABP5 transportiert. In einem Zelltyp mit hoher CRABP-II- und niedriger FABP5-Expression aktiviert RA den RAR. Ist das Verhältnis umgekehrt wird der PPARβ/δ aktiviert. Dies führt zu entgegengesetzten Wirkungen. In beiden Situationen ist RXR der Dimerisierungspartner.

mod. nach Michalik and Wahli (2007)

Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die Erhaltung der Hautintegrität, die Proliferation von basalen Keratinocyten und das Überleben dieses Zelltyps während der

Wundheilung durch ein hohes Expressionslevel von FABP5 und die dadurch ausgelöste Aktivierung von PPAR β/δ erfolgen. Weiters muss festgehalten werden, dass die erhöhte Expression von FABP5 und die folgende Aktivierung von PPAR β/δ die Tumorgenese von verschiedenen Krebsarten begleitet (Shug et al. 2007).

Scribner et al. (2007) demonstrieren, dass PPAR α an den funktionellen PEPCK-Promoter in der Leber in vivo binden kann. PPAR/RXR Heterodimere sind in der Lage, als Antwort auf spezifische Liganden als auch 9-*cis* und all-*trans* Retinsäure, Zielgene wie PEPCK zu aktivieren. Scribner et al. berichten weiters über einen Rückgang an PPAR α -mRNA und PPAR α -Proteinen in Vitamin-A-defizienter Leber. Da PPAR α für die zelluläre Antwort in der Leber auf das Fasten benötigt wird, werden bei PPAR α KO Mäusen Charakteristika metabolischer Disregulation, wie etwa einer Fettleber, beobachtet. Diese gleichen denen von Vitamin A-defizienten Mäusen, was unter anderem auf eine gestörte PPAR α -Signalwirkung unter Vitamin A Mangel hindeutet.

3 Retinoide in der Prävention ernährungsassoziierter Erkrankungen

3.1 Retinoide und Krebs

Eine Verbindung zwischen Vitamin A und der Krebsentstehung wurde sehr bald nach der Entdeckung des Vitamins und seiner chemischen Struktur dargelegt. 1925 stellten Wolbach und Howe durch präklinische Studien fest, dass Vitamin-A defiziente Nagetiere reversible Plattenepithel-Metaplasien der Lungen entwickelten, die denen von Raucherlungen ähnelten (Smith and Saba, 2005). In den 50er und 60er Jahren belegten einige Studien das vermehrte Auftreten von spontanen und chemisch induzierten Tumoren in Vitamin A-defizienten Tieren.

Die Studien, die sich mit dem Krebspräventionspotential von Vitamin A bzw. β -Carotin befassen, sind widersprüchlich.

Eine follow-up Studie aus Japan weist auf eine signifikante Reduktion des Mortalitätsrisikos bei bestimmten Krebsarten (Lungen-, Magen-, kolorektaler und Leberkrebs) als auch kardiovaskulären Erkrankungen bei hohen Serumkonzentrationen an Carotinoiden mit Provitamin A-Aktivität hin (Ito et al. 2006). Eine Case-Control Studie aus den USA fand ein höheres Risiko für präinvasive Läsionen der Zervix bei Frauen mit den niedrigsten Konzentrationen an Serumretinol im Vergleich zu den Frauen in der höchsten Quartile (Yeo et al. 2000). Batieha et al. (1993) hingegen fanden in ihrer Case-Control Studie keine Beziehung zwischen den Serumretinolkonzentrationen und der Entwicklung von Gebärmutterhalskrebs (Batieha et al. 1993).

Eine follow-up Studie aus Taiwan zeigt eine inverse Dose-Response Beziehung zwischen den prädiagnostischen Serumretinolkonzentrationen und der Entwicklung von hepatozellulären Karzinomen. Das Odds Ratio für ein Leberzellkarzinom bei Männern mit einer Retinolkonzentration im niedrigsten Tertil war 9.0 (95% Konfidenzintervall, 2.1-39.1) verglichen mit denen im höchsten Tertil, auch nach der Adjustierung der Determinanten Rauchen, Alkoholkonsum und Lebererkrankungen. (Yu et al. 1995). Wald et al. (1986) berichtigen in dieser Studie ihre vorher getroffene Aussagen, dass niedrige Serumretinolkonzentrationen mit einem erhöhten Krebsrisiko

einhergehen. Sie folgern, dass ein niedriger Serumretinolspiegel eine metabolische Konsequenz und nicht ein Wegbereiter der Krebsentstehung ist (Wald et al. 1986). Eine Studie mit postmenopausalen Frauen, die sich unter anderem mit dem Effekt der Aufnahmemenge von Vitamin A aus Lebensmitteln und Supplementen auf die Inzidenz von Brustkrebs beschäftigt, gibt keine Hinweise für eine Assoziation von Brustkrebs und der Aufnahme von Vitamin A (Nissen et al. 2003). Auch das Datenmaterial der Nurses' Health Study II lässt auf keine starke Beziehung zwischen der Aufnahme von Vitamin A und Carotinoiden und einem reduziertem Brustkrebsrisiko bei prämenopausalen Frauen schließen. Die Aufnahme von Vitamin A und Carotinoiden ist jedoch mit einem reduzierten Brustkrebsrisiko unter Rauchern assoziiert (Cho et al. 2003).

Natürlich dürfen die Studien über den Einfluss von Vitamin A und der Krebsentstehung nicht überinterpretiert werden, da Carotinoide wichtige Antioxidantien sind und zudem Marker für die Aufnahme von Obst und Gemüse darstellen, deren sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe synergistisch wirken könnten (Willett 1994).

Eine signifikante Anzahl an Studien belegt, dass die Expression von RAR β in vielen verschiedenen Tumorarten wie Lungen-, Plattenepithelkarzinom, Brust-, Magen- und Prostatakrebs durch Deletion, Mutation oder Methylierung in der Promotersequenz unterdrückt ist (Niles 2004). Über die letzten drei Jahrzehnte sind Retinoide einer gründlichen Untersuchung als chemopräventive Mittel unterzogen worden. Neben hunderten von synthetischen Derivaten zeigen auch *all-trans* Retinsäure, *13-cis* Retinsäure, *9-cis* Retinsäure und Retinylpalmitat tumorantagonistische Aktivitäten (Smith and Saba 2005).

In manchen Tumoren kann Retinsäure die Expression von RAR β induzieren, was eine Wachstumsunterdrückung zur Folge hat. Weiters wird auch von einer erniedrigten Expressionsrate von RAR γ in Tumoren berichtet (Niles 2004).

In einer klinischen Studie mit einer begrenzten Anzahl an renalen Karzinom-Patienten, die mit *13-cis* Retinsäure und Interferon- α behandelt wurden, erhöhten sich die Levels an RAR β in Tumoren, die auf die Therapie ansprachen (Lotan et al. 1995).

Man muss jedoch in Betracht ziehen, dass Retinoid-abhängige Zelldifferenzierung nicht unbedingt mit Zelltod und Apoptose assoziiert werden kann, denn in manchen Fällen

wurde auch eine gegenteilige Wirkung festgestellt (Lomo et al. 1998). Der Verlust der RAR- β 2 Expression etwa korreliert beim Menschen meist mit einer erhöhten Karzinogenese, während die RAR- β 4 Expression in wenigen Studien mit der Entwicklung von verschiedenen Krebsarten in Verbindung gebracht wird. RAR β 4-transgene Mäuse entwickelten eine Hyper- und Neoplasie in verschiedenen Geweben. Weiters wurde durch die Induktion der RAR- β 4-Expression das Wachstum der Tumorzellen ohne RAR β 2-Expression verstärkt (Xu 2007).

Groß angelegte randomisierte Studien in Europa und den USA haben gezeigt, dass sich moderate Dosierungen von natürlichen und synthetischen Retinoiden als ineffektiv in der Umkehrung prämaligener Tumore oder im Unterdrücken des Wiederauftretens von primären Tumoren erwiesen (Hennekens et al. 1996; Van Zandwijk et al. 2000). Diesem und weiteren Problemen wie der lokalen und systemischen Toxizität kann mit verschiedenen Kombinationstherapien entgegengewirkt werden. Wie schon erwähnt modulieren all-*trans* Retinsäure und ihre Derivate die Aktivität einer Vielzahl von Genen und intrazellulären Pathways. Auf der anderen Seite wird auch die Aktivität von RARs durch verschiedene Wege, wie etwa die Kinasenkaskaden, kontrolliert (Garattini et al. 2007)

Die RAR/RXR Heterodimere stellen die Hauptvermittler der Retinsäuresignale dar. Alle Signalpathways, die durch Ligandeneinfluss entweder aktiviert oder unterdrückt werden, sind noch nicht beschrieben. Durch die Ergebnisse der vorhandenen Studien können jedoch die immer wieder beschriebenen Signaltransduktionspathways als wichtig erachtet werden. Diese werden in den folgenden Absätzen näher erörtert. Ausnahmebeobachtungen legen nahe, dass der Einfluss von Retinsäure auf die Pathways, die eine Schlüsselrolle in der Signaltransduktion einnehmen, zellabhängig ist. Dies ist für den Einsatz von Retinoiden in der Prävention und Behandlung von Krebs zu beachten (Niles 2004).

3.1.1 Molekulare Mechanismen

3.1.1.1 MAP Kinasen

Beweise für eine Beeinflussung der MAP-Kinasen Pathways durch Retinoide konnten erbracht werden (Niles 2004). MAPKs sind eine Enzymgruppe, die eine Vielzahl von

extrazellulären Signalen in die Zelle weiterleitet (Chang and Karin 2001). ERKs (Extracellular regulated kinases), p38MAPK und JNK (Jun N-terminal kinase) sind die drei Typen von MAP Kinasen (Garattini et al. 2007). Antworten auf Wachstumsfaktoren, Stress und Differenzierungsfunktionen werden alle mit der Modifikation von MAP-Kinase-Pathways in Verbindung gebracht. ERKs werden oft mit der Transduktion von mitotischen Signalen, die von Wachstumsfaktoren ausgesendet werden, assoziiert. Sie werden, je nach Zelltyp, von Retinoiden entweder aktiviert oder inhibiert (Garattini et al. 2007). Die Aktivierung von ERKs dürfte bei einer Induktion der Differenzierung von F9 Teratokarzinomzellen des primitiven Endoderms in der Maus eine wichtige Rolle spielen. Weitere Differenzierung in parietal endodermalen Zellen ist bei der ERK-Aktivierung jedoch behindert (Verbejen et al. 1999). Die Behandlung von menschlichen Brustkrebszellen mit Retinsäure reduziert die Phosphorylierung von ERK, was für die wachstumsinhibierenden Effekte in den Zellen verantwortlich gemacht wurde (Nakagawa et al. 2003).

Es gibt auf der anderen Seite Beweise aus Studien, die eine ERK-Aktivierung unter Einfluss von Retinsäure nahe legen. Yen et al. (1998) zeigten, dass die Behandlung von menschlichen myeloblastischen HL-60 Leukämiezellen mit Retinsäure eine verlängerte ERK2-Aktivierung zur Folge hatte. Weiters wurde gezeigt, dass Retinsäure eine MEK (Mitogen-activated protein extracellular kinase)-abhängige ERK2 Aktivierung auslöste, was eine Zelldifferenzierung und Wachstumsinhibition induzierte. Der Bedarf für aktivierte ERK2, um die Differenzierung und G₁ – G₀ Stop zu induzieren, scheint auf den frühen Teil der Retinsäure-induzierten metabolischen Kaskade beschränkt zu sein.

Dedieu and Lefebvre (2006) identifizierten in einer Studie mit menschlichen Brustkrebszellen den MEK/ERK Pathway als den AP1-regulierenden. Dies stimmt mit Studien überein, die die MEK/ERK-Aktivität als Krebszellen-inhibierend erachten. Alique et al. (2007) schließen aus ihren Studienergebnissen, dass die erhöhte RAR- β -Expression und die erhöhte extrazellulär regulierte ERK1/2 Phosphorylierung in all-*trans* RA-inkubierten menschlichen Neuroblastomzellen (SH-SY5Y) durch eine all-*trans* RA-Aktivierung von RARs und ERK1/2 erfolgt. Noch ist nicht geklärt, ob die negativen oder positiven Auswirkungen von all-*trans* RA auf den ERK-Signalpathway der Aktivierung von RAR/RXR-Komplexen zugrunde liegt (Garattini et al. 2007).

Ein weiterer MAP Kinase Pathway, der JNK involviert, wird ebenfalls von Retinsäure reguliert. Dieser Pathway wird, abhängig vom Zelltyp, für Stress-, Wachstums- und/oder Apoptosevermittlung in Verbindung gebracht (Garattini, et al. 2007). Die Aktivierung von AP-1 Komplexen wird durch die Phosphorylierungsvorgänge, die durch JNKs ausgelöst werden, kontrolliert (Karin and Shaulian, 2001). Durch die Bedeutung von AP-1 Komplexen auf die Prozesse der Zellproliferation (s.u.) wird die antiproliferative Aktivität von Retinoiden oft mit deren Inhibition von JNK in Verbindung gebracht. Das Blockieren von JNK durch *all-trans* RA hat weiters Auswirkungen auf die Differenzierung von bestimmten neoplastischen Zellen (Garattini et al. 2007). Yang et al. (1997) demonstrierten, dass c-jun transfizierte Brustkrebszellen (MCF7) eine erhöhte basale AP-1 Transaktivierungsaktivität und eine gesteigerte Expression von AP-1 regulierten Genen aufwiesen. Die Zellen waren weiters resistent gegenüber den antiproliferativen Effekten von *all-trans* RA.

3.1.1.2 p38 MAPK

Die Familie der p38 MAPKs besteht aus vier Homologen, die Serin-Kinase-Aktivität aufweisen. Durch ihre Aktivierung werden nachfolgende Phosphorylierungs-/Aktivierungsmechanismen von weiteren Serinkinasen ausgelöst, was in der Vermittlung von diversen biologischen Effekten resultiert. Dies beinhaltet die Phosphorylierung von Transkriptionsfaktoren (c-myc, STAT1, ATF-2, CHOP), Induktion der Cytokinproduktion, Blutplättchenaggregation und die Regulation der Apoptose (Alsayed et al. 2001). P38 MAPK wird durch zahlreiche Faktoren, wie etwa Wachstumsfaktoren, Nahrungsfaktoren, Cytokine, FAS Ligand (Transmembranprotein der TNF-Familie), UV-Strahlung und γ -Strahlung sowie durch Hitzeschock aktiviert. Es sind wenige Studien vorhanden, die sich mit der Modulierung des p38MAPK Pathways durch Retinoide beschäftigen. Die molekularen Mechanismen der *all-trans* RA-beeinflussten p38 MAPK-Aktionen sind noch unbekannt. Man weiß jedoch, dass sie nicht als Ergebnis der Transkriptionseffekte, die durch den RXR/RAR-abhängigen Pathway induziert werden, hervorgehen (Garattini et al. 2007). Alsayed et al. (2001) liefern in ihrer Studie Beweise für eine Retinsäure-abhängige Aktivierung des p38 MAPK Pathways in promyelocytischen Leukämie- und Brustkrebszellen. Die

Behandlung mit Retinsäure induziert eine Zeit- und Dosis-abhängige Phosphorylierung von p38. Sie zeigten weiters, dass die Inhibition von p38 die Retinsäure-induzierte Zelldifferenzierung stark verbessert. Dies weist auf einen negativ regelnden Effekt dieses Pathways auf die Induktion der Retinsäure-abhängigen Differenzierung hin. Neben der Vermittlung von Stress-, Cytokin- und Apoptose-modulierenden Signalen wurde von Gianni et al. (2006) entdeckt, dass p38 MAPK für die Phosphorylierung von RAR γ und somit für dessen Degradation und Transaktivierung benötigt wird. Die spezifische Inhibition der RAR γ Degradation senkt die ligandenabhängige Transkriptionsaktivität des Rezeptors.

3.1.1.3 AP-1

Der AP-1 Transkriptionskomplex besteht aus Homo- und Heterodimeren von Jun (c-Jun, JunB, JunD) und Fos (c-Fos, FosB, Fra1 und Fra2) oder aktivierende Transkriptionsfaktor-(ATF2, ATF3/LRF1, B-ATF) bZip Proteinen. AP-1 aktiviert die Transkription von Zielgenen durch das Binden an spezifische DNA-Sequenzen (TGAGTCA), die in einer Vielzahl von Promotoren vorkommen (Niles 2004).

In zahlreichen Zelltypen geht die Wachstumsinhibition durch Retinoide mit einer gesenkten AP-1 Aktivität einher. In Retinsäure-resistenten Zellen hingegen ist diese Erniedrigung nicht beobachtet worden. Miano et al. zeigten, dass *all-trans* Retinsäure die AP-1 Transkriptionsaktivität in Zellen der glatten Muskulatur (SMC) dämpft, wenn die entsprechenden Konzentrationen die endogenen Retinoidrezeptoren aktivieren und die SMC Proliferation blockieren. Weiters wurde gezeigt, dass *all-trans* Retinsäure nicht mit den Signalpathways, die in die frühe Transkriptionsfaktoren-Aktivierung involviert sind, eingreift. Die *all-trans* Retinsäure-vermittelte Dämpfung der AP-1 abhängigen Transkription ist demnach nicht durch eine Expressionsinhibition von Faktoren, die AP-1 binden, gegeben (Miano et al. 1996). Zusätzlich zu der inhibierenden Wirkung von Retinsäure auf die AP-1 Aktivität konnten Ergebnisse präsentiert werden, die eine Inhibierung der RAR-Aktivität durch AP-1 bestätigen. Dies wird durch die Fähigkeit von AP-1, an DNA zu binden, gewährleistet. Die RAR DBD wird als wichtig für die Inhibition der AP-1 Aktivität angesehen. Weiters wurde gezeigt, dass RAR das Binden von c-Jun an AP-1 inhibierte. Man folgerte daraus, dass ein

inaktiver RAR:c-Jun Komplex entsteht (Yang-Yen et al. 1991). In einigen Zellsystemen, besonders wo Retinoide sowohl Wachstumsinhibierung als auch Differenzierung auslösen, wird gleichfalls die AP-1 Aktivität durch Retinoide induziert (Harvat and Jetten 1999). In B16 Melanomzellen wurde nachgewiesen, dass AP-1 ein Ziel von PKC Signaltransduktionspathways ist, die möglicherweise durch Retinoide aktiviert werden (Gruber et al. 1995).

3.1.1.4 cAMP

Der intrazelluläre Second Messenger cAMP (Cyclic adenosine monophosphate) kontrolliert viele Aspekte der zellulären Homöostase, wie Proliferation, Differenzierung und Apoptose. Adenyl-Cyclasen sind an viele Membranrezeptoren gekoppelt und kontrollieren die Synthese von cAMP aus ATP. Die intrazellulären Konzentrationen werden negativ durch Phosphodiesterasen moduliert. Erhöhung des intrazellulären cAMPs führt zur Aktivierung der cAMP-abhängigen Proteinkinase (PKA) (Garattini et al. 2007).

Das meiste Wissen über den Crosstalk zwischen Retinoiden und dem cAMP-Pathway wurde durch AML- (akute myeloische Leukämie) und Neuroblastom-Studien erworben. Durch die Erhöhung der intrazellulären Konzentrationen an cAMP wird die Maturation der Granulocyten in APL (akute Promyelozyten-Leukämie) und anderen myeloiden Leukämiezellen beschleunigt, die durch *all-trans* RA, RAR α und RXR-Agonisten vermittelt wird. Die PKA-Aktivierung läuft auf eine erhöhte Expression von vielen *all-trans* RA-regulierten Genen in NB4 Zellen hinaus (Parella et al. 2004). Auch Zhao et al. (2004) kamen in ihrer Studie mit APL-Zelllinien zu vergleichbaren Ergebnissen. Sie melden eine deutliche Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentrationen in NB4 und frischen APL Zellen einige Minuten nach der Behandlung mit *all-trans* RA. Dieses Phänomen wurde nicht in NB4-R1 Zellen beobachtet, die resistent gegenüber der *all-trans* RA-induzierten Maturation sind (Zhao et al. 2004).

He et al. (2007) schließen auf cAMP-abhängige Effekte bezüglich der antiproliferativen und Prodifferentierungsauswirkungen von *all-trans* RA auf renale Podocyten, die bei einer HIV-assozierten Nephropathie durch erhöhte Proliferation und Nichtdifferenzierung gekennzeichnet sind. Die Effekte werden durch Rp-cAMP

ausgeschaltet, welcher ein Inhibitor des cAMP/PKA-Pathways ist. Eine Verbesserung der *all-trans* RA-vermittelten Effekte wurde durch einen Inhibitor der Phosphodiesterase 4 erzielt (He et al. 2007).

Der cAMP-Pathway spielt weiters eine entscheidende Rolle in der Initiierung der Differenzierung von transformierten Zellen und embryonalen Nerven- und Gliazellen. Prasad et al. (2003) schlagen vor, dass Defekte im cAMP-Pathway die erste Phase der Carcinogenese einleiten könnte. Diese Hypothese folgt aus der Beobachtung, dass eine Erhöhung der cAMP-Konzentrationen in murinen Neuroblastomzellen eine terminale Differenzierung induziert, obwohl diese stark aneuploid sind. (Prasad et al. 2003).

3.1.1.5 IRF1 und TRAIL

Apoptose in Säugetierzellen wird hauptsächlich durch zwei zusammenhängende Pathways initiiert. Der eine Pathway involviert die TNF-Familie, der andere die Ausschüttung von Cytochrom c aus den Mitochondrien. Im Unterschied zu den anderen Mitgliedern der TNF-Familie induziert TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) die Apoptose in Tumorzelllinien, jedoch nicht in normalen Zellen (Baetu and Hiscott 2002). TRAIL wird nach der Retinsäurebehandlung von Brustkrebszellen induziert. Dies geschieht im zweiten Schritt des Cell Death Pathways, der durch Retinoide ausgelöst wird. Der erste ist die transkriptionelle Aktivierung des IFN-regulatory factor 1 (IRF1), der die Eigenschaft eines Tumor Susceptibility Factors zeigt. Der Transkriptionsfaktor wird in Brustkrebszellen als auch in hämatopoetischen Zellen als Antwort auf Retinsäure induziert. Im zweiten Schritt wird IRF-1 zu zwei Stellen am TRAIL proximalen Promoter rekrutiert. Diese Stellen werden auch für die TRAIL-Induktion von Interferon- γ in Brustkrebszellen gebraucht. Die gleichzeitige Behandlung von Brustkrebszellen mit IFN- γ und Retinsäure resultiert in synergistischen Konzentrationen von TRAIL, die den Zelltod von heterologen Krebszellen in einer parakrinen Art induziert. Dies besagt, dass IRF-1 und TRAIL in synergistische anti-proliferative und apoptotische Antworten involviert sind (Clarke et al 2005; Altucci et al. 2007).

3.1.1.6 Zytokine

Die Familie der Zytokine umfasst 100 Wachstums- und Differenzierungsfaktoren. Sie werden eingeteilt in Wachstumsfaktoren, Interleukine, Interferone und Chemokine und wirken, nach der Freisetzung aus verschiedensten Zellen, lokal zudem auch bei Entzündungsvorgängen, in der Immunantwort und bei Abwehrprozessen (Löffler 2003). Interferone (IFNs) sind die am intensivst untersuchten BMRs (biological response modifiers), die die Antitumor-Immunantwort erhöhen. Beim Menschen sind zumindest 26 IFN Gene gefunden worden, die nach den sie produzierenden Zellen klassifiziert werden. Sie wurden ursprünglich als Vermittler eines antiviralen Zustandes in virusinfizierten Zellen gefunden. IFNs haben ein breites Applikationsspektrum sowohl in Krebserkrankungen als auch in viralen Erkrankungen. Der alleinige Einsatz von IFNs in Studien bei Krebstherapien resultierte jedoch in einem eingeschränkten Erfolg bei manchen Krebsarten. Klinische Studien weisen auf den Erfolg der Kombination von IFNs und Retinsäure bei einigen Krebsarten hin, da sie einander im Induzieren von biologischen Antworten potenzieren (Lotan et al. 2000). Ihr kombinierter Einsatz zeigt synergistische Differenzierungs-, Antiproliferations-, und antivirale Aktivitäten in unterschiedlichen Zelllinien, unter anderem auch APL-Zelllinien.

Retinsäure induziert direkt die Expression von zwei Transkriptionsfaktoren, Stat1 und IRF-1, die zentrale Rollen in der IFN Signaltransduktion spielen. Weiters induziert Retinsäure die Synthese von IFN- α und verstärkt die IFN-induzierte Stat-Aktivierung (Chelbi-Alix and Pelicano 1999).

G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor) ist ein Wachstumsfaktor, der die Maturation von myeloiden Vorstufen entlang des granulocytischen Pathways kontrolliert (Garattini et al. 2007).

Der Mechanismus, durch welchen Retinsäure und G-CSF gemeinsam eine Differenzierungsförderung erwirken, ist unklar. Die G-CSF-Signalwirkung aktiviert mehrere Signal-Pathways, unter anderem die MAP-Kinasekaskade und den JAK-Pathway. Die STAT5 Aktivierung via dem JAK Pathway spielt eine integrale Rolle in der G-CSF-vermittelten Differenzierung (Witcher and Miller 2007). Eine Studie demonstriert die Interaktion zwischen STAT5 und RAR, die in einer erhöhten Aktivierung der Transkription als Antwort auf Retinsäure resultiert. Dies verspricht eine

interessante Möglichkeit für eine zellsensibilisierende Wirkung durch die Aktivierung von STAT5 nach der Behandlung mit Retinsäure. STAT5 kann hier als RAR-Coaktivator agieren (Si and Collins 2002).

Angehörige der TGF- β (transforming growth factor β) Familie haben wichtige Rollen in der Zelldifferenzierung, Proliferation und dem Zelltod. Sie werden in verschiedenen Zelltypen induziert und die Effekte durch gleichzeitige Behandlung dieses Wachstumsfaktors und Retinsäure auf die zelluläre Differenzierung wurde in einigen Modellen studiert (Garattini et al. 2007). TGF- β bindet an einen heterodimeren Rezeptorkomplex an der Zelloberfläche, der Serin/Threoninkinaseaktivität besitzt. Durch Ligandenbindung wird die Phosphorylierung induziert und der Rezeptorkomplex wird aktiviert. Die Signalwirkung wird durch Smad-Proteine vermittelt, die durch die Phosphorylierung in den Kern wandern und dort die Transkription von Zielgenen regulieren. Smad-Proteine können direkt an zugehörige DNA-Bindungsstellen binden und/oder interagieren mit einer Vielzahl an Transkriptionsfaktoren oder Transkriptionsrepressoren. Die TGF1 Antwort kann auch durch Smad6 und Smad7 reguliert werden, die den Rezeptorkomplex in die proteosomale Degradation leiten. Cao et al. (2003) untersuchten die Rolle von Smad Proteinen in der TGF- β induzierten monocytischen Differenzierung von HL-60 Zellen und im Zusammenspiel zwischen MAPK-Pathways und Smad-Signalwirkungspaths. In Zellen, die gleichzeitig mit TGF- β und all-*trans* RA behandelt wurden, kam es zu einer Zelldifferenzierung entlang des granulocytischen als auch des monocytischen Pathways. All-*trans* RA senkt die Konzentrationen an phosphoryliertem Smad2/3, wahrscheinlich durch die RAR α abhängige Aktivierung einer Phosphataseaktivität. Diese Beobachtungen legen nahe, dass die phosphorylierten Smad 2/3 Sensoren des Zusammenspiels zwischen all-*trans* RA und TGF- β sind und zum Gleichgewicht der granulocytischen und monocytischen Pathways beitragen (Cao et al. 2003). Lauritsen et al. (2002) stellten in ihrer Studie mit MCF-7 Brustkrebszellen fest, dass TGF- β die Expression von AIB1 induziert, welches ein Coaktivator des RXR/RAR-Transkriptionskomplexes ist. Dies lässt auf eine potentielle positive Modulierung des Retinoid-Signalwirkungspaths durch TGF- β schließen (Lauritsen et al. 2002).

3.1.1.7 PKC

Die Familie der PKC (Protein Kinase C) besteht aus zumindest 12 Serin/Threoninkinasen, die an der Signaltransduktion beteiligt sind. Sie werden in drei Gruppen eingeteilt, die Strukturunterschiede, Differenzen in den regulatorischen Domänen als auch die Aktivierungsbedingungen berücksichtigen. Auch hier werden durch die Phosphorylierung weitere Serinkinasen aktiviert, die die Signalkaskade weiterleiten. PKC-Isozyme regulieren die Genexpression und eine Vielzahl von zellulären Funktionen, wie Wachstum, Differenzierung, Tumorförderung, Altern und Apoptose. Die Gewebsverteilung von PKC-Isoformen variiert beachtlich. PKC α , PKC δ und PKC ζ sind weit verbreitet, wohingegen andere Isoformen sehr gewebsspezifisch gebildet werden. Die unterschiedliche subzelluläre Verteilung, die Anwesenheit mehrerer Isozyme in derselben Zelle und die unterschiedlichen Stimuli lassen darauf schließen, dass jedes Isozym in die Regulation von verschiedenen Funktionen involviert ist und eine einzigartige Rolle in der Zelle einnimmt (Kambhampati et al. 2003; Radomska-Pandya et al. 2000). PKC δ zeigte in Studien eine bedeutende Funktion in der Induktion von antiproliferativen und proapoptotischen Reaktionen als Antwort auf DNA-zerstörende Agens und ionisierende Strahlung. In der Studie von Kambhampati et al. (2003) wurden Beweise für eine PKC δ -Aktivierung durch all-*trans* RA in APL- und Brustkrebszellen geliefert. Die Daten zeigen, dass PKC δ mit RAR α komplexiert und an RAREs bindet. Bei einer Inhibition der PKC δ -Aktivität wird die Retinsäure-abhängige Gentranskription via RAREs geblockt (Kambhampati et al. 2003). Boskovic et al. (2002) berichten von einer erhöhten Expression von RAR α nach einer Aktivierung von PKC α in Melanomzellen von Mäusen *in vivo*. Die Down-Regulation von PKC erniedrigte die Halbwertszeit von RAR α , inhibierte merklich die AF-2-abhängige Transkriptionsaktivität und inhibierte das Binden von RAR zu RAREs und die Retinsäure-abhängige Induktion der RAR β -Expression. PKC kann folglich die Signalwirkung von Retinsäure durch die Stabilitätsveränderung von RAR ohne direkte Phosphorylierung beeinflussen (Boskovic et al. 2002). Radomska-Pandya et al. (2000) berichten von der Existenz einer spezifischen all-*trans* RA-Bindungsstelle an PKC und eine direkte Interaktion zwischen all-*trans* RA und PKC α , die die PKC Aktivität verringert. Die Resultate legen weiters eine Involvierung von all-*trans* RA im Regulationsmechanismus der PKC-Aktivität in der Zelle nahe (Radomska-Pandya et

al. 2000). Die Ergebnisse von Niles (2003) lassen auf einen nicht-enzymatischen Proteinmechanismus von PKC α schließen, der den Einfluss von Retinsäure auf B16 Melanomzellen vermittelt. Alternativ könnte die enzymatische Funktion eines weiteren PKC-Isozyms genutzt werden (Niles 2003).

3.1.1.8 PI3K/Akt Pathway

Proteinkinase B oder Akt ist eine Serin/Threoninkinase, die als wichtig für die Zelldifferenzierung und das Zellüberleben erachtet wird. Andererseits kann der PI3K/Akt Pathway durch eine Vielzahl von Wachstumshormonen, Zytokinen und Erregern aus der Umwelt aktiviert werden und durch die Verbesserung des Zellüberlebens die Pathogenese von Krankheiten wie etwa Krebs mittragen (Franke et al. 2003).

Der komplexe Akt-Pathway leitet Signale vom extrazellulären Kompartiment zu verschiedenen intrazellulären Orten, inklusive dem Zellkern, weiter. Eine Vielzahl von Wachstumsrezeptoren sind an die Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) gekoppelt, die das Phosphatidylinositoldiphosphat (PIP₂) phosphoryliert. Das Ergebnis ist der second messenger Phosphatidylinositol-Triphosphat (PIP₃). Diese Phosphorylierung wird durch die Aktivität der PTEN (Phosphatase and Tensin homolog) Phosphatase limitiert. Dieser klassische Tumorsuppressor ist in bestimmten Krebszelltypen mutiert oder inaktiviert. PIP₃ aktiviert seine entsprechende Kinase, die Phosphatidyl-Inositol-abhängige Kinase 1 (PDK1), die wiederum Akt phosphoryliert und damit aktiviert (Garattini et al. 2007).

Retinoide werden mit der Modifizierung dieses Pathways assoziiert. *All-trans* RA ist ein wirkungsvoller Inhibitor der IGF-1 stimulierten Aktivität von Akt in menschlichen MCF-7 Brustkrebszellen (Del Rincon et al. 2003). Bastien et al. (2006) weisen auf eine nötige Intaktheit des RA-Pathways hin, was in ihrer Studie mit embryocarcinomen Zellen (F9) von Mäusen festgestellt wurde. Bei RA-resistenten RAR γ Null-Mäusen kam es zu keiner frühen Aktivierung von PI3K und Akt über die erhöhte Expression der p85 α regulatorischen Untereinheit und folglich zu keiner nachfolgenden Akt-Inhibierung. Bastien et al. schlagen ein Modell einer zweiphasigen Regulation von Akt vor. Zuerst partizipiert RA im Differenzierungsprozess, der von einem RA-induzierten

Wachstumsstop gefolgt wird (Bastien et al. 2006). Lopez-Carballo et al. (2002) beobachteten, dass eine RA-induzierte Aktivierung des PI3K/Akt Pathways für die Differenzierung von menschlichen SH-SY5Y Neuroblastomzellen benötigt wird. Analog zu den Effekten des MAP-Kinase-Pathways kann RA demnach abhängig vom Zelltyp den PI3K/Akt Pathway stimulieren oder aktivieren.

Gianni et al. (2006) demonstrieren, dass die RA-induzierte Down-Regulation des PI3K/Akt Pathways auf die Phosphorylierung von RAR γ 2 durch die Aktivierung p38MAPK als auch auf die transkriptionelle Aktivität und die proteosomale Degradation des Rezeptors zielt. Diese Ereignisse sind demnach zusammenhängend und resultieren aus der RA-induzierten Down-Regulation des PI3K/Akt Pathways, der somit eine wichtige Rolle in der RA-Signalwirkung spielt (Gianni et al. 2006).

3.1.1.9 hiNOS

hiNOS (Human inducible nitric oxide synthase) katalysiert die Produktion von Stickstoffoxid. Dieses stellt ein signalmodulierendes Molekül in diversen Immunantworten und chronischen Entzündungsreaktionen, sowie in der Carcinogenese dar. hiNOS wird unter anderem durch Lipopolysaccharide, TNF- α , IL-1 β und IFN- γ stimuliert. Auch Retinsäure wurde als Expressions-regulierendes Agens ausgemacht (Zou et al. 2007).

Devaux et al. (2000) demonstrieren zum ersten Mal, dass eine all-*trans* RA-Supplementierung in vivo die Aktivierung der durch Lipopolysaccharide ausgelösten NOS II (Nitric oxide Synthase) verstärkt. Die Mechanismen, die zu einem all-*trans* RA-vermittelten Anstieg der NOS II-Aktivierung führen, könnten zumindest zu einem Teil durch Aktivierung der T-Zellen mit folgender erhöhter IFN- γ Gentranskription und Sekretion und/oder erhöhter IRF-1-mRNA Expression sein (Devaux et al. 2000). Seguin-Devaux et al. (2002) bestätigen die Beteiligung von RAR α an der Modulation des NOS II Pathways, der in vivo organspezifische Effekte hat (Seguin-Devaux et al. 2002). Zou et al. (2007) identifizieren ein neues RARE im hiNOS Promoter, welches direkt durch RAR α /RXR α gebunden wird.

3.1.1.10 Zusammenfassung

Einige Krebserkrankungen (wie APL) werden bereits mittels einer Retinoid-basierten Therapie behandelt. Retinoide werden auch mit anderen Therapien, wie der Chemotherapie oder der Gabe von Antiöstrogenen bei Brustkrebs, kombiniert.

Eine Vielzahl der derzeitigen Studienergebnisse lässt auf eine antivirale und im Besonderen anti-kanzerogene Wirkung von Retinoiden schließen. Diese wird durch eine proliferative Inhibierung bei gleichzeitiger Aktivierung der Apoptose und Differenzierung erreicht.

Durch den Einfluss von Retinoiden wird eine Inhibierung von Proliferations-aktivierenden MAPK-Pathways (z.B. die JNK-abhängige AP1-Aktivierung) und eine Aktivierung der Proliferations-inhibierenden Signalwirkung der MAPK-Kaskade (z.B. die ERK2 Aktivierung in myeloblastischen Leukämiezellen), sowie eine cAMP-abhängige terminale Zelldifferenzierung erreicht. Zudem wird die MAPK-abhängige Differenzierung durch die Aktivität der Retinoid-Rezeptoren positiv beeinflusst, etwa durch die Aktivierung von STAT5.

Diese Effekte basieren auf einer direkten Interaktion zwischen Retinoid-Rezeptoren und Signaltransduktions-Komponenten oder auf einer indirekten Wechselwirkung mittels einer modifizierten Sekretion von Cytokinen (z.B. IFNs).

Zusätzlich beeinflussen Retinoide die Modifikation von tumorspezifischer TNF-vermittelter Apoptose und führen zu einer erhöhten Ausschüttung von Signalmodulatoren (z.B. hNOS), denen proapoptotische Wirkung attestiert wurde.

Retinoide scheinen neben diesen Fähigkeiten auch in die Mediation von DNA-Damage Checkpoints, etwa durch die Aktivierung der PKC, involviert zu sein. Die DNA-Damage Checkpoints sind essentiell für die Aufrechterhaltung der genomischen Integrität und somit für die Prävention von Tumoren.

Die aus epidemiologischen Studien gewonnenen Daten zur präventiven Wirkung von Vitamin A auf die Krebsentstehung sind jedoch noch sehr diskrepant.

3.2 Retinoide und Teratogenität

1935 wurde festgestellt, dass eine mütterliche Insuffizienz an Vitamin A während der Schwangerschaft zum Tod oder schweren kongenitalen Missbildungen der Nachkommen führt (Mason 1935). Teratogene Ziele von Vitamin A Mangel sind das Herz, das Augengewebe und das respiratorische, urogenitale sowie das Kreislaufsystem (Zile 1998). Diese Geburtsfehler werden durch eine Einbeziehung von Vitamin A in die Nahrung verhindert. Eine erhöhte Vitamin A Aufnahme auf der anderen Seite hat ebenfalls teratogene Auswirkungen. Dies betrifft das Herz, den Schädel, das Skelett, die Gliedmaßen, das Gehirn, die Augen, das ZNS als auch kraniofaziale Strukturen (Ross et al. 2000).

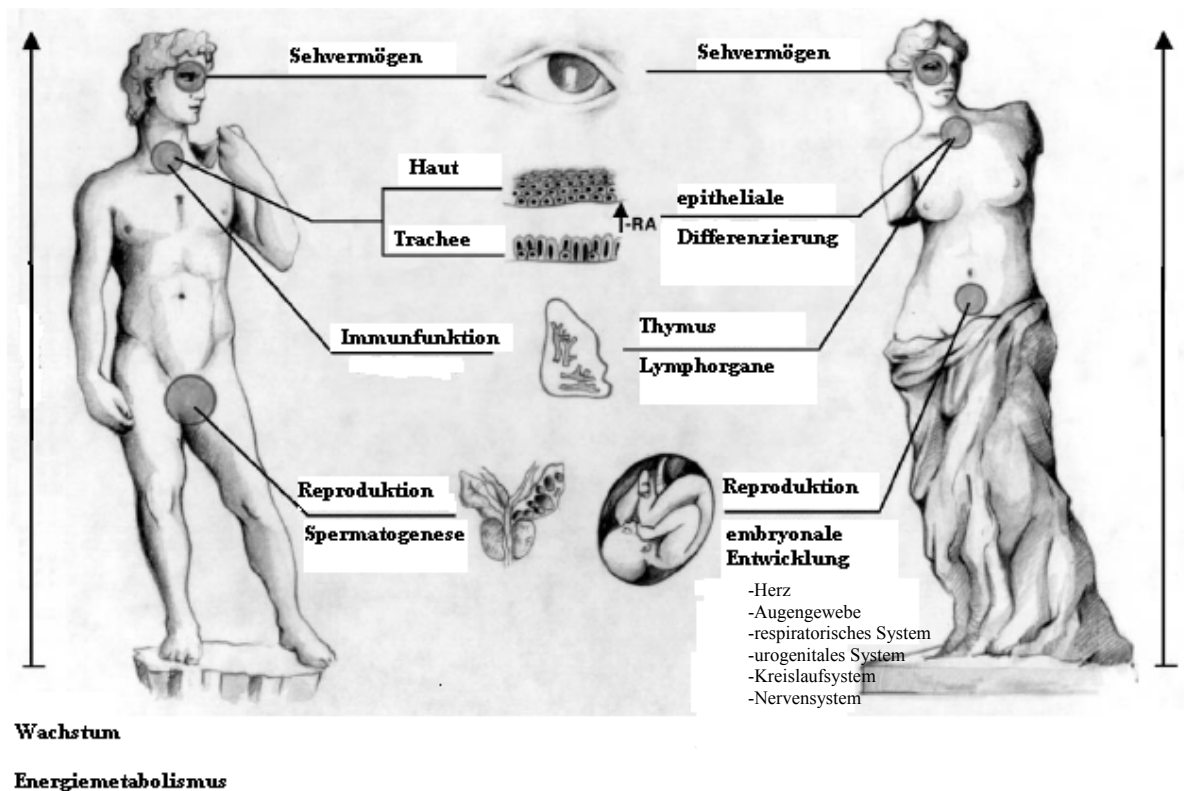


Abbildung 7: Überblick über die Funktionen von Retinoiden
mod. nach Ross et al. (2000)

3.3 Retinoide und das Nervensystem

3.3.1 RA in der Entwicklung des Nervensystems

RA hat zwei Hauptrollen in der Nervensystementwicklung: das Anlegen von Zellmustern (Patterning) und die neuronale Differenzierung. Als Patterning-Faktor trägt RA sowohl zum anteroposterioren als auch zum dorsoventralen Patterning der Neuralplatte und dem Neuralrohr bei. In der anteroposterioren Achse der Neuralplatte ist unter anderem RA im Speziellen für den Aufbau des posterioren Hinterhirns und des anterioren Rückenmarks verantwortlich. Ohne die Signalwirkung von RA fehlt das posteriore Hinterhirn und das anteriore Rückenmark bildet sich abnormal aus (Maden 2007). Außerdem kommt ein Auswuchs der Neuriten vom Rückenmark in die Peripherie, was durch RA induziert werden kann, nicht zustande (Maden et al. 1996; Dmetrichuk et al. 2006).

Ein ausbleibendes Schließen des Neuralrohrs am rostralen Ende führt zur Anencephalie, am caudalen Ende zu unterschiedlichen Schweregraden von Spina Bifida. Diese Defekte werden als Neuralrohrdefekte bezeichnet und sind die beim Menschen am zweithäufigsten auftretenden kongenitalen Defekte (Maden 2006).

Die Rolle von RA in der neuronalen Differenzierung ist extensiv an *in vitro* Modellen untersucht. RA induziert die Differenzierung von verschiedenen Typen von Neuronen und Glia durch die Transkriptionsaktivierung von zahlreichen Genen, die unter anderem für Transkriptionsfaktoren, Cell Signaling Moleküle, Strukturproteine, Enzyme und Oberflächenrezeptoren kodieren (Maden 2007).

RA wird ab den Gastrulationsstadien von RALDH2 gebildet, das im paraxialen Mesoderm exprimiert wird. RA könnte von dort auf die Neuralplatte und später von den Somiten in das angrenzende, sich entwickelnde Rückenmark Signalwirkung ausüben (Maden 2006). Mehrere Studien haben Retinoide im frühen Neuralrohr und später im gesamten Rückenmark identifiziert (Maden et al. 1998; Horton and Maden 1995; Ulven et al. 2001).

RA spielt auch in der Spezifizierung der Motoneuronen-Untertypen und im adulten Organismus in der Erhaltung der Motoneuronen eine Rolle (Maden 2007).

3.3.2 RA in der Entwicklung des Auges

Die Morphogenese des Kindes ist während eines mütterlichen Retinoidmangels zwischen E11.5 und E13.5 schwerwiegend gestört. Linsen unter Mangel an Retinsäure weisen einen reduzierten Durchmesser auf. Die Linsenzellen verlängern sich nicht und können keine Kristalllinsenfaser ausbilden. Weiters sind die Linsen von gravierender Apoptose betroffen. Der Phänotyp gleicht demnach jenem einer gestörten Linsenreifung. Die Defekte an der Linse sind schwerwiegender als jene, die bei $RAR\alpha/\gamma$, $RXR\alpha$ und $RXR\alpha/RAR\gamma$ Null Mutanten festgestellt wurden (Kastner et al. 1994; Lohnes et al. 1994; Sucov et al. 1994). Nezzar et al. (2007) demonstrieren das Vorhandensein aller metabolischer und molekularer Akteure des Retinsäuresignalpathways in der menschlichen Augenoberfläche. Zudem beobachteten sie die enzymatische Konversion von Retinol zu aktiven Retinoiden in der Kornealumgebung (Nezzar et al. 2007).

3.3.3 RA und der olfaktorische Pathway

RA hat sich als ein essentieller Entwicklungs- und Erhaltungsregulator einer Vielzahl von Neuronentypen in diversen sensorischen und motorischen Pathways in Vertebraten herausgestellt. Der olfaktorische Pathway wird widerspruchlos mit der RA-Signalwirkung in Verbindung gebracht. RA beeinflusst die Differenzierung und Erhaltung des olfaktorischen Epitheliums und der Riechkolben von der frühen Embryogenese bis ins Erwachsenenalter. Retinoide spielen eine Rolle in der Regulation des Energiemetabolismus (siehe unten). Rawson and LaMantia (2006) schlagen daher vor, dass RA notwendig für die Erhaltung der Integrität des sensorischen Systems und damit parallel verantwortlich für das Verhalten bei der Nahrungsaufnahme ist. Diese Beziehung platziert RA in einen essentiellen Feedback-Mechanismus, bei dem die Aufnahme von RA-Vorstufen durch die Nahrung das chemosensorische System moduliert und selbst davon gesteuert wird. Der Verlust der Sensorik wird demgemäß auch in einer Vielzahl von pathologischen Zuständen, wie Anorexia nervosa, HIV und chronischen Lebererkrankungen festgestellt. Gleichzeitig findet man bei Patienten mit Appetitverlust und immunologischen, metabolischen und verhaltensbezogenen Änderungen sowohl einen Vitamin A Mangel als auch eine eingeschränkte

Chemosensorik. Garrett-Laster et al. (1984) zeigen, dass der olfaktorische Sinn bei Patienten mit alkoholischer Zirrhose nach der Behandlung mit Vitamin A wieder hergestellt werden kann (Garrett-Laster et al. 1984). So könnte, in Zuständen von Vitamin A Mangel und einer Gefahr der Energiemalnutrition, eine erhöhte Nahrungsaufnahme der entscheidende Ansatz sein, um die Morbidität und Mortalität zu reduzieren. In solchen Fällen könnte eine Supplementierung mit Vitamin A leichter zu erreichen sein als eine Verhaltensänderung. Weiters könnte die Compliance durch die verbesserte Chemosensorik verbessert werden (Rawson and LaMantia 2006).

3.3.4 RA in der Entwicklung des Innenohrs

Das Innenohr von Säugetieren ist essentiell für den Hör- und Gleichgewichtssinn. Induktive Signale des Hinterhirns werden für die Innenohrmorphogenese benötigt. Retinoide sind sowohl an der Entwicklung des Innenohrs, als auch des frühen Hinterhirns beteiligt (Pasqualetti et al. 2001). Ein Mangel als auch eine übermäßige Aufnahme an Vitamin A in der Schwangerschaft führen zu Embryopathien des Innenohrs, die von der Retinsäure-Konzentration und dem Zeitintervall abhängen, in dem die Embryos Retinsäure ausgesetzt sind (Wei et al. 1999; Romand et al. 2006). Retinsäure beeinflusst die beiden Gewebe-Interaktionen, die im Innenohr-Patterning eine entscheidende Bedeutung haben. Eine Interaktion findet zwischen der Ohr-Plakode und dem Neuralrohr, die andere zwischen dem Ohr-Epithelium und dem umgebenden periotischen Epithelium statt (Romand et al. 2003).

Alle drei RA-Rezeptoren ($RAR\alpha$, $RAR\beta$ und $RAR\gamma$) werden im sich entwickelnden Innenohr als auch im adulten Alter exprimiert. Durch Null-Mutanten Studien konnte gezeigt werden, dass morphologische Störungen, die das Innenohr betreffen, jedoch nur in $RAR\alpha/RAR\gamma$ Null-Föten auftritt (Romand et al. 2002).

Auf der Stufe der Otozyste wirkt das embryonale Innenohr wahrscheinlich als autokrines System, das Retinsäure für seine Entwicklung selbst synthetisiert. Die derzeitige Beweislage sieht Retinsäure als Regulator mehrerer Gene, die in Mesenchym-Epithelium-Interaktionen involviert sind. Weiters postulierten Romand et al. (2006), dass Retinsäure auch für die postnatale Erhaltung des Innenohrs von Bedeutung ist (Romand et al. 2006).

3.3.5 RA und Alzheimer

Morbus Alzheimer, die häufigste Ursache von Demenz im Alter, ist Folge genetischer Risikofaktoren als auch Umwelteinflüsse. Die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen sind nur spärlich erforscht und die Suche nach erfolgreichen Mitteln für die Prävention, für die Progressionsverlangsamung und/oder für die Symptommilderung hält an (Goodman and Pardee 2003).

Die Hypothese, dass eine Störung im Retinoidsignalpathway oder ein Mangel an Retinoiden eine Rolle in der Ätiologie von neurodegenerativen Störungen wie Morbus Alzheimer spielen, entstand aus Studienergebnissen, die die Lokalisation von Genen, die für RAR, RXR, Retinoidtransportproteine und Retinoidmetabolisierer kodieren, an Stellen ausmachten, die zuvor mit Genen im Zusammenhang mit Schizophrenie diskutiert wurden (Goodman, 1998). Später wurden die Loci von Genen, die als Kandidaten für Morbus Alzheimer gehandelt wurden, an den Chromosomen rund um die Retinoidgene identifiziert (Goodman 2006).

Goodman and Pardee (2003) schlagen vor, dass durch die Nahrung aufgenommenes Vitamin A Einfluss auf die Entstehung von Morbus Alzheimer hat, da Retinoide die frühe Entwicklung der Gehirnstruktur und Gehirnfunktion in Mäusen modulieren. Die Signalwirkung der Retinoide besteht im Erwachsenenalter weiter und spielt eine entscheidende Rolle in der neuronalen funktionellen und strukturellen Plastizität (Goodman and Pardee, 2003; Thompson Haskell et al. 2002).

Chiang et al. (1998) stellten bei RAR β Mutantenmäusen, die wachstumsfähig, fruchtbar und scheinbar normal waren, erhebliche Leistungsdefizite im räumlichen Lernvermögen und bei Gedächtnisaufgaben fest (Chiang et al. 1998).

Mingaud et al. (2008) zeigten mit Studien an Mäusen anhand knock-out, pharmakologischer und ernährungstechnischer Herangehensweisen, dass die altersbedingte Hypoexpression der Retinoidsignalwirkung die zellulären Eigenschaften des Hippocampus, die für die Ausbildung des deklarativen Langzeitgedächtnisses und die Organisation des Kurzzeitgedächtnisses von entscheidender Bedeutung sind, stört. Mingaud et al. erklären weiters, dass eine Supplementierung von Vitamin A aus der Nahrung eine präventive Strategie dafür darstellen könnte (Mingaud et al. 2008).

Die Resultate der Studie von Etchamendy et al. (2003) legen nahe, dass ein postnataler Mangel an Vitamin A eine selektive Gedächtnisstörung induziert. Sie unterstützen die Hypothese, dass die Feinregulierung von Retinoid-vermittelter Genexpression wichtig für eine optimale Gehirnfunktion ist (Etchamendy et al. 2003).

Connor and Sidell (1997) bestätigen die Aktivität von Retinoiden und RLDH (Retinylaldehyd-Dehydrogenase) im menschlichen Gehirngewebe und die veränderte Retinsäuresynthese in bestimmten Regionen des an Alzheimer erkrankten Gehirns.

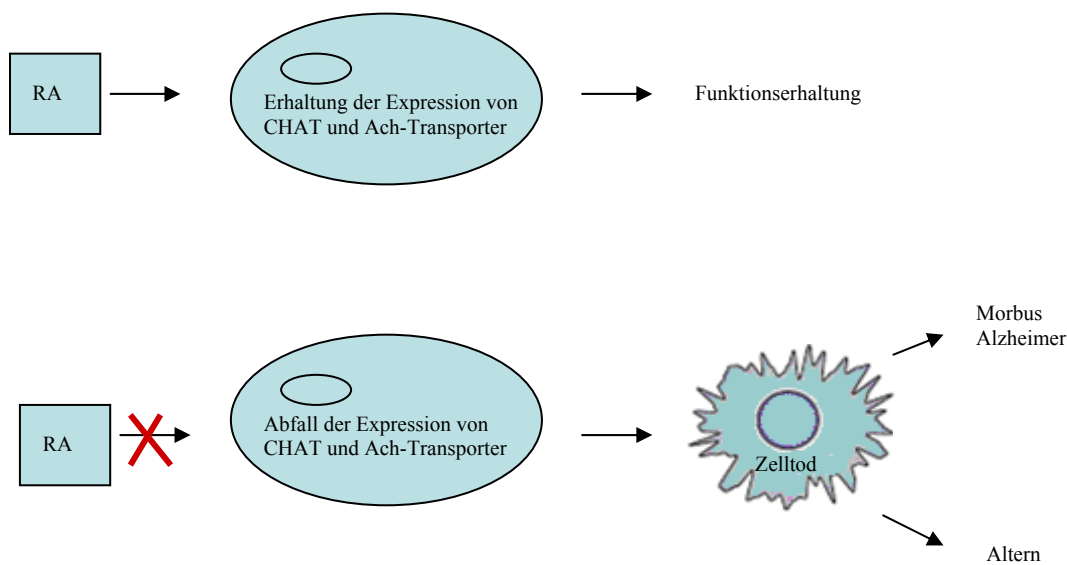


Abbildung 9: Überblick über die mögliche Rolle von RA im adulten ZNS.

RA könnte die Expression von Cholin-Acetyltransferase (CHAT) und des vesikulären ACh-Transporters gewährleisten und so das Überleben der CHAT-exprimierenden Neuronen sichern.

In der Abwesenheit von RA erniedrigt sich die Zahl der CHAT-exprimierenden Zellen und die Ach-Transporter werden vermindert. Es folgt ein Verlust von CHAT-Neuronen, ein Kennzeichen für mehrere neurodegenerative Erkrankungen beim Menschen.

mod. nach Maden (2007)

In einer Studie mit adulten Ratten wurde durch einen fütterungsbedingten Mangel an Vitamin A der Retinoidsignal-Pathway unterbrochen. Nach einem Jahr unter Vitamin A-Mangel wurden Ablagerungen von Amyloid-beta in den zerebralen Blutgefäßen festgestellt. Diese folgen einer Downregulation von $RAR\alpha$ in den Neuronen des

Vorderhirns und dem Verlust der Cholinacetyltransferase-Expression. Im Neocortex pathologischer Proben von Alzheimerpatienten wurde auch ein Mangel an RAR α in den überlebenden Neuronen beobachtet (Corcoran et al. 2004). Das Anhalten der Amyloid-beta vermittelten Neurodegeneration wird als einer der Hauptmechanismen in der Behandlung von Alzheimer in Betracht gezogen. Eine hohe Vitamin A-Aufnahme über die Nahrung wurde mit einer reduzierten Inzidenz von Alzheimer Erkrankungen assoziiert. Sahin et al. (2005) schlagen weiters vor, dass Retinsäureisomere wie *all-trans* RA, *9-cis* RA und *13-cis* RA eine wichtige Rolle im Schutz der Neuronen vor Amyloid-beta induziertem Zelltod spielen (Sahin et al. 2005).

3.4 RA und das Immunsystem

All-trans RA und *9-cis* RA weisen eine große Bandbreite von modulierenden Effekten auf die humorale und zelluläre Immunantwort auf. Retinsäure potenziert die Thymocytdifferenzierung und verbessert die Lymphocytenantwort auf Mitogene (Valone and Payan 1985; Abb and Deinhardt 1980). *All-trans* RA und *13-cis* RA können die Makrophagen-Aktivität auf der Stufe der Potenzierung der Phagozytose und auf der Stufe der IL-1 Aktivität modulieren (Dillehay et al. 1988). Weiters stimuliert Retinsäure die Antikörperproduktion *in vivo* und *in vitro*. Wang and Ballow (1993) zeigen, dass die erhöhte Immunglobulin-Synthese durch den Einfluss von Retinsäure über T-Zellen oder T-Zellprodukte wie Cytokine vermittelt werden. Diese stimulieren daraufhin eine erhöhte Zahl an B-Zellen zur Differenzierung zu Immunglobulin-sezernierenden Zellen (Wang and Ballow 1993). Ballow et al. (1996) zeigen weiters, dass Retinsäure direkten Einfluss auf die B-Zellen besitzt (Ballow et al. 1996). Auf der anderen Seite zeigen Mäuse mit einem Vitamin A-Mangel eine eingeschränkte IgG1 und IgG3 Antwort, die nach der Behandlung mit RA wieder auf Normalwerte steigt (Chun et al. 1992; Smith and Hayes 1987).

Auch Wang et al. (2007) postulieren, dass Vitamin A die Immunantwort zumindest zu einem Teil durch die Modulation der Cytokinproduktion verschiedener Zellen verbessert. Sie zeigen, dass *all-trans* RA die IL-10 Produktion erhöht, während es die Expression verschiedener proinflammatorischer Cytokine, wie IL-12 und TNF- α , die von Monocyten gebildet werden, reduziert. IL-10 erhöht die Lebensfähigkeit von B-

Zellen und weist zudem antiinflammatorische Aktivität auf (Wang et al. 2007). Weiters wird durch all-*trans* RA die Produktion von IL-2 und IL-6 erhöht, die wichtig für die terminale Differenzierung von B-Zellen zu Plasmazellen sind. Ballow et al. (1996) untersuchten den Effekt von RA auf die Immunglobulinsynthese und demonstrieren, dass die Retinsäuresignalwirkung zumindest teilweise durch die parakrinen oder autokrinen Effekte von IL-6 auf die B-Zelldifferenzierung vermittelt wird (Ballow et al 1996). Die IL-6 getriebene Induktion der proinflammatorischen T_H17 Zellen wird jedoch inhibiert. Dies und die anti-inflammatorische Aktion der Differenzierung von T-Zellen wird durch TGF- β induziert, dessen Schlüsselregulator Retinsäure darstellt (Mucida et al. 2007). TGF- β ist bedeutend für die Erhaltung der Autoimmuntoleranz und der Immunhomöostase (Wan and Flavell 2007).

Schambach et al. (2007) kommen zum gleichen Ergebnis und argumentieren, dass spezifische Agonisten von RAR α als Kandidaten für die Behandlung von Autoimmunkrankheiten in Betracht kommen könnten (Schambach et al. 2007).

Engedal et al. (2006) zeigen, dass RA durch RAR die IL-2 induzierte T-Zellproliferation stimuliert.

Diese und weitere Studien zeigen, dass all-*trans* RA neben den B-Zellen auch die T-Zellen beeinflusst. Yagi et al. (1997) untersuchten den Einfluss von Retinsäure auf den Differenzierungs-Pathway von T-Zellen im Thymus. All-*trans* RA hat signifikante Effekte auf die Differenzierung und erhöht die Konzentration von reifen und reaktiven T-Zellen im Thymus. Die Expression von RAR α während der T-Zellentwicklung ist assoziiert mit der Produktion von CD4/CD8 double-positive Zellen (Yagi et al 1997).

Weiters kann Retinsäure die verschiedenen Apoptose-Pathways der Thymocyten und T-Lymphocyten induzieren und könnte gemeinsam mit Glucocorticoiden in die positive bzw. negative Selektion von T-Lymphocyten involviert sein. Retinoide können die Apoptose von T-Zellen durch die Stimulation von RAR γ induzieren. Bei der spezifischen Stimulation von RAR α kommt es hingegen zu einer Inhibition des RAR γ - und TCR-vermittelten Zelltodes. 9-*cis* Retinsäure wirkt hier effektiver als all-*trans* RA, was auf eine Involvierung des RXRs hindeutet (Szondy et al 1998).

Garcia et al. (2003) untersuchten an Mäusen, ob Retinoide die Entwicklung des zellulären und humoralen Immunsystems über die Nahrung während der Zeit der Muttermilchfütterung bis zum Zeitpunkt der Entwöhnung beeinflussen. Die Ergebnisse zeigen einen Einfluss auf die Anzahl von verschiedenen Lymphocytensubpopulationen, als auch auf die Plasma-IgG-Konzentrationen im postnatalen Zeitraum. Garcia et al. halten weiters fest, dass Carotinoide und Retinoide auch für immunologische Störungen, die sich während der postnatalen Entwicklung manifestieren, relevant sein könnten (Garcia et al. 2003). In einer kürzlich veröffentlichten Studie demonstrieren sie, dass der Gehalt an Vitamin A Auswirkungen auf die Intensität der Immunantwort nach der frühen postnatalen Allergenexposition hat und so eine Allergenisierung begünstigen könnte (Rühl et al. 2007).

3.4.1 RA und Autoimmunerkrankungen

All-*trans* RA und andere Agonisten des RAR α inhibieren die Bildung von proinflammatorischen Th17 Zellen. Zudem fördern sie die Expression des Transkriptionsfaktors FoxP3, der von entscheidender Bedeutung für die Bildung von T-regulatorischen Zellen ist. Eine Hemmung der RA-Signalwirkung schränkt die Induktion von FoxP3 durch TGF β -1 ein. Dies demonstriert eine RAR α -abhängige Regulation der CD4⁺ T-Helferzellen-Differenzierung (Elias et al. 2008).

Im Verlauf der Autoimmunerkrankung Rheumatoide Arthritis werden inflammatorische Zytokine wie IL-1 und TNF α durch aktivierte Makrophagen im Synovium produziert. Diese Zytokine stimulieren die synovialen Fibroblasten und Chondrocyten, die daraufhin vermehrt Kollagenasen bilden. Die Kollagenasen bauen das interstitielle Kollagen ab, was zu einer irreversiblen Zerstörung von Knorpelmasse, Knochen und Sehnen führt. 1980 wurde entdeckt, dass RA die Kollagenaseproduktion der rheumatoiden Synovialzellen inhibiert. *In vitro* und *in vivo* Studien mit Retinoiden zeigten beachtenswerte Ergebnisse, die jedoch in klinischen Studien aufgrund der Nebeneffekte relativiert werden mussten. In Zukunft könnten synthetische Retinoide mit verbesserten pharmakologischen Eigenschaften und verminderter Toxizität zum Einsatz kommen (Beehler et al. 2004).

3.5 Retinoide und das kardiovaskuläre System

3.5.1 RA in und nach der Entwicklungsphase des Herzens

Kongenitale Anomalien im kardiovaskulären Bereich wurden 1950 mit einem Vitamin A-Mangel in Verbindung gebracht (Wilson and Warkany 1950). Hierzu zählen unter anderem die Fallot'sche Tetralogie, eine Transposition der großen Gefäße, ein zweifacher Abgang des rechten Ventrikels, suprakristaler Ventrikelseptumdefekt und Truncus arteriosus (Lammer et al. 1985).

Die RA-Signalwirkung ist sowohl für die Entwicklung des Herzens als auch für die Differenzierung zu adulten Herzmuskelzellen wichtig.

Veränderungen in der RA-Homöostase, also eine Hypo- wie auch Hypervitaminose, führen zu kongenitalen vaskulären Missbildungen (Pan and Baker, 2007). RAR und RXR-Knockout Studien an Mäusen haben eine abnormale Cardiogenese zur Folge, die vergleichbar mit jener unter Vitamin A Mangel ist (Gruber et al. 1996; Kastner et al. 1997) (Abb.10).

Die Beobachtungen legen nahe, dass RA-vermittelte Signalpathways für das frühe Stadium der Herzentwicklung benötigt werden, um eine Differenzierung zu verhindern, die Zellproliferation zu fördern und die Form von ventrikulären Myocyten zu kontrollieren. In der Zeitspanne nach der Entwicklung scheint die RA-abhängige Signaltransduktion den normal differenzierten Phänotyp von Cardiomyocyten zu erhalten. Dies geschieht durch die antagonistischen Effekte von diversen Stimuli für eine Hypertrophie (Pan and Baker 2007).

Thromboxan A₂ induziert unter anderem die Plättchenaggregation und die Kontraktion und das Wachstum von vaskulären glatten Muskelzellen und spielt eine wichtige Rolle in der Progression von Atherosklerose (Pakala et al. 1997; Ali et al. 1993; Metha et al. 1988). Uruno et al. (2003) zeigen, dass die Thromboxan-induzierte Proliferation der vaskulären glatten Muskelzellen durch Retinoide inhibiert werden (Uruno et al. 2003).

Pulmonale Hypertension kann sich sekundär zu verschiedenen Herz- und Lungenkrankheiten entwickeln und kommt in einer seltenen primären Form vor, die oft tödlich endet. Preston et al. (2005) schlagen eine niedrige Konzentration an all-*trans*

RA als prädisponierend für eine pulmonale Hypertension vor, da eine erhöhte Proliferation von glatten Muskelzellen auftritt (Preston et al. 2005).

Herz-Defekte	Truncus arteriosus communis	Tubuläres Herz	Defekt des Ventrikelseptums	Defekt des Vorhofs	Abnormales Aortenbogenmuster	Defekt des Atrioventrikularganges	Hypoplasie der Ventrikularkammer
VAD	+	+	+	-	+	+	+
Überschuss an RA	+	+	+	+	+	+	-
$RAR\alpha^{-/-}$	-	-	-	-	-	-	-
$RAR\beta^{-/-}$	-	-	-	-	-	-	-
$RAR\gamma^{-/-}$	-	-	-	-	-	-	-
$RXR\alpha^{-/-}$	+	+	+	-	+	+	+
$RXR\beta^{-/-}$	-	-	-	-	-	-	-
$RXR\gamma^{-/-}$	-	-	-	-	-	-	-
$RAR\alpha^{-/-}$ $RAR\beta^{-/-}$	+	+	+	-	+	+	-
$RAR\alpha^{-/-}$ $RAR\gamma^{-/-}$	+	+	+	-	+	+	+
$RAR\beta^{-/-}$ $RAR\gamma^{-/-}$	-	-	-	-	-	-	-
$RAR\alpha^{-/-}$ $RXR\alpha^{-/-}$	+	+	+	-	+	+	+
$RAR\beta^{-/-}$ $RXR\alpha^{-/-}$	+	+	+	-	+	+	+
$RAR\gamma^{-/-}$ $RXR\alpha^{-/-}$	+	+	+	-	+	+	+
$RXR\alpha^{-/-}$ $RXR\gamma^{-/-}$	+	+	+	-	+	+	+
$RXR\beta^{-/-}$ $RXR\gamma^{-/-}$	-	-	-	-	-	-	-
$RXR\alpha^{+/-}$ $RXR\beta^{-/-}$ $RXR\gamma^{-/-}$	-	-	-	-	-	-	-

Abbildung 8: Cardiovasculäre Defekte bei Vitamin A Defizienz (VAD) bzw. Überschuss und Retinoid-Rezeptor Knockout-Embryos

Urano et al. (2005) zeigen, dass *all-trans* RA die endotheliale Zellfunktion durch die Förderung der NO-Produktion verbessert. Retinoide könnten daher therapeutischen Einsatz bei Störungen mit endothelialen Schäden finden (Urano et al. 2005).

3.5.2 RA in der Regulation des Renin- Angiotensin Systems

Das Renin-Angiotensin System (RAS) ist entscheidend für die Erhaltung der Homöostase von Blutdruck, Elektrolyten und Volumen. Ungünstige Stimulierung des Systems ist mit Hypertension, Hypertrophie des Herzens, Myocardinfarkt und Apoplexie assoziiert (Pan and Baker 2007). Es gibt Beweise für eine RA-Regulation der Genexpression von Komponenten des RAS, unter anderem Renin, ACE, ACE2 und AT₁ Rezeptor in Ratten mit experimenteller Nephritis (Dechow et al. 2001)

Die Ergebnisse von Wang et al. (2002) zeigen, dass *all-trans* RA die Angiotensin-II (ANG-II)-induzierte Proliferation der Fibroblasten im Herzen inhibiert. Weiters verhindert *all-trans* RA den Anstieg des Gesamtproteingehalts während der ANG-II induzierten Hypertrophie. *All-trans* RA blockiert weiters den ANG-II-ausgelösten Anstieg der intrazellulären Ca²⁺-Konzentration in den Myocyten des Herzens, was ein direkter Beweis für ein Eingreifen von *all-trans* RA in die ANG-II-stimulierten Transduktionspathways ist (Wang et al. 2002).

Weiters wurde eine Dosis-abhängige Inhibition durch *all-trans* RA auf die von ANG-II ausgelöste Zellproliferation von vaskulären glatten Muskelzellen gezeigt (Haxsen et al. 2001).

Aus diesen Resultaten geht hervor, dass die RA-vermittelte Signalwirkung in die Regulierung des RAS während der Entwicklung von Hypertension involviert ist (Pan and Baker 2007).

3.5.3 Retinoide und Ductus Arteriosus

Die Durchgängigkeit des Ductus Arteriosus (DA), eine fötale arterielle Verbindung zwischen der Pulmonalarterie und der absteigenden Aorta, ist essentiell in der Gestation. Nach der Geburt liegt der DA besonders bei Frühgeburten offen, was die Ursache für die signifikant hohe Morbidität und Mortalität bei Frühgeburten ist. 10%

der angeborenen Herzfehler sind darauf zurückzuführen, was dadurch die häufigste Form der Angiokardiopathie ist (Pschyrembel 2001).

Colbert et al. (1996) schlagen vor, dass RA eine wichtige Rolle in der Differenzierung und Reifung des DA spielt. Sie messen ein starkes RA Antwortsignal vor allem in dem sich entwickelnden DA und sie stellen fest, dass das Signal mit der Expression der adult-spezifischen MHC (Myosin heavy chain) Isoform SM2 der glatten Muskulatur mitlokalisiert ist (Colbert et al. 1996). Yokoyama et al. (2007) fanden 91 RA-zugehörige Gene im DA im Stadium der vaskulären Entwicklung. Die Antwort auf Vitamin A unterschied sich vor und nach der Geburt beträchtlich (Yokoyama et al. 2007). Eine postnatale Vitamin A Therapie bei Frühgeburten brachte in der ersten klinischen Studie keine Verbesserung der ductalen Schließungsrate (Ravishankar et al. 2003).

3.6 Retinoide in der Regulation des Energiemetabolismus

Der Vitamin A Status kann die Entwicklung und die Funktion von Fettgewebe im gesamten Tierorganismus beeinflussen. Retinsäure ist ein Transkriptionsaktivator für die Gene, die für Uncoupling Proteine kodieren. Resultate aus Tierversuchen legen nahe, dass die Körperthermogenese mit dem Vitamin A Status in Verbindung steht. Ein niedriger Vitamin A Status etwa erhöht die Fettdeposition. Gabe von RA induziert in Mäusen die Expression von UCP1 im braunen Fettgewebe und UCP3 im Skelettmuskel und bewirkt eine Gewichtsreduktion, Reduktion der Adipositas und eine Reduktion der lipogenen bzw. adipogenen Kapazität von weißem Fettgewebe. Zudem wurde unter Gabe von RA eine verbesserte Glucosetoleranz beobachtet. Die Expression der zwei Adipokine Leptin und Resistin wird unterdrückt, die in hohen Konzentrationen mit der Entstehung einer Insulinresistenz assoziiert werden (Bonet et al. 2003; Felipe et al. 2004). Fenretinid, ein synthetisches Retinoid, normalisiert die Serum-RBP4-Werte und verbessert die Insulinresistenz und Glucosetoleranz von nahrungsinduzierten adipösen Mäusen (Yang et al. 2005).

Weiters erhöht *all-trans* RA den oxidativen Metabolismus in vollentwickelten Adipocyten *in vitro*. Die Behandlung mit *all-trans* RA führt zu einem erniedrigten

zellulären Triacylglyceringehalt und einer erhöhten basalen Lipolyse und Fettsäureoxidationsrate (Mercader et al. 2007).

Retinsäure beeinflusst die Adipocytendifferenzierung in Zellkulturen, und dies hauptsächlich durch die Inhibierung der Adipogenese in einem frühen Stadium der Differenzierung (Schwarz et al. 1997).

Neueste Studienergebnisse belegen, dass Retinaldehyd (Rald), neben seiner Rolle als Vorstufe von Retinsäure, selbst auch als spezifischer Transkriptionsregulator wirkt (Abb. 11).

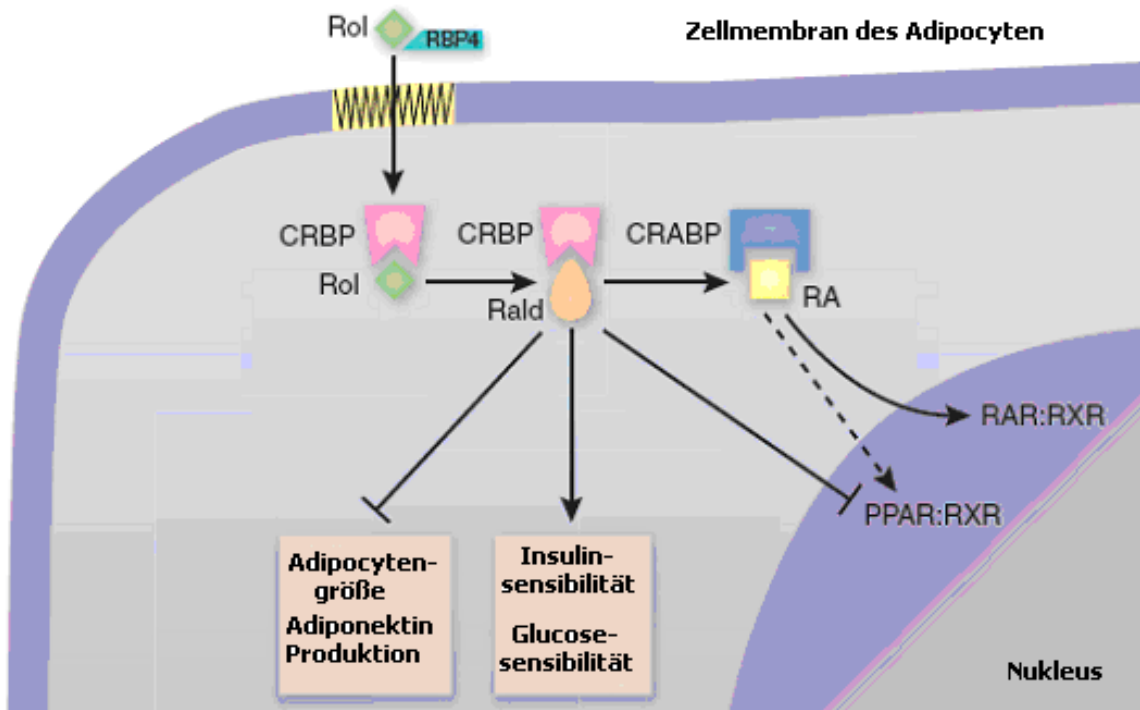


Abbildung 9: Wirkung des Retinaldehyds (Rald) als Transkriptionsregulator.

Rald ist ein metabolisch aktives Signalmolekül, das teilweise durch die Inhibierung von PPAR/RXR-vermittelten Signalen wirkt. Die intrazellulären Carrierproteine CRBP und CRABP sind neben ihrer Aufgabe als passive Carrier Teil des gesamten regulatorischen Netzwerkes.

mod. nach Desvergne (2007)

Die unterschiedlichen Auswirkungen dieses Hauptmetabolits von Vitamin A versus denen von Retinsäure in vitro und in vivo lassen auf Rald als einen eigenen Vermittler

im Lipidmetabolismus schließen. Rald ist in nanomolaren Konzentrationen im Fett vorhanden und kann mit CRBP1 und RBP4 (Retinoid binding protein 4) interagieren. RBP4 ist wie CRBP1 ein Bindungsprotein, das am intrazellulären und zirkulierenden Retinoidtransport beteiligt ist (Ziouzenkova et al. 2007). RBP4 wird vom Fettgewebe sezerniert und ist an der Entwicklung der Insulinresistenz beteiligt. Graham et al. (2006) zeigen, dass das Ausmaß der Erhöhung der Serum RBP4 Werte mit der Insulinresistenz bei Menschen mit Adipositas, gestörter Glucosetoleranz oder Typ 2 Diabetes und bei nichtadipösen, nichtdiabetischen Menschen mit einer ausgeprägten Familiengeschichte an Typ 2 Diabetes korreliert (Graham et al. 2006).

Ziouzenkova et al. (2007) demonstrieren, dass Rald eine eindeutige Rolle in der Adipocytendifferenzierung *in vitro* spielt und an der nahrungsinduzierten Insulinresistenz und Adipositas *in vivo* beteiligt ist. Eine Erhöhung der Rald-Konzentrationen *in vivo* verursachte eine verminderte Lipidbildung. Eine Inhibierung des Rald-Katabolismus *in vivo* hatte vergleichbare Effekte, doch unterscheidbar von denen, die durch Retinsäure und Vitamin A-Gabe erzielt werden. Während Retinsäure keinen Effekt auf die Adipocytendifferenzierung in späten Stadien der Adipogenese hatte, blieb die antiadipogene Aktivität von Rald erhalten. Auch die Sekretion von Signalmolekülen des Fettgewebes, wie Adiponectin, wurde unter dem Einfluss von Rald erniedrigt.

Diese Daten identifizieren Rald als einen im Fett präsenten, biologisch aktiven Metaboliten, der die Adipogenese durch seine Wirkung auf RXR- α und PPAR- γ -Antworten reguliert (Ziouzenkova et al. 2007).

Da das metabolische Syndrom eine hoch komplexe Krankheit darstellt, sind die Erkenntnisse über die Wirkmechanismen von Rald mehr oder weniger Anhaltspunkte für weitere Untersuchungen in diese Richtung (Desvergne 2007).

4 Schlussbetrachtung

Aufgrund der Vielzahl an Daten und Untersuchungen zu den Funktionen der Retinoide und ihrer Rezeptoren wird ihre komplexe und umfangreiche Wirkung im Stoffwechsel des Menschen offensichtlich. Die präventive Wirkung von Retinoiden auf die normale embryonale und postnatale Entwicklung steht außer Frage. Auch die Bedeutung von Retinoiden für die humorale und zelluläre Immunantwort ist bestätigt.

Retinoide zeigen eindeutige chemopräventive und therapeutische Aktivität für einige Krebsarten wie promyelocytische Leukämie und dem Neuroblastom. Die Ergebnisse aus epidemiologischen Studien über ihre präventive Wirkung auf die Karzinogenese sind noch sehr spärlich und widersprüchlich.

Erfolge aus Tierversuchen zeigen vielversprechende Ergebnisse im Bereich der präventiven Wirkung von Retinoiden auf neurodegenerative Erkrankungen durch ihre wichtige Rolle in der Erhaltung der funktionellen und strukturellen Plastizität von Neuronen.

Neben ihrer Bedeutung für die Cardiogenese könnten Retinoide im Bereich des kardiovaskulären Systems präventiv auf die Entwicklung einer Hypertension wirken, da sie in die Regulation der Genexpression von Komponenten des Renin-Angiotensin-Systems sowie in die Verbesserung endothelialer Zellfunktionen involviert sind.

Weiters gibt es Anhaltspunkte für die Beteiligung von Retinoiden im Lipidmetabolismus und der Adipogenese.

Ob diese Beobachtungen durch eine Supplementierung mit Vitamin A in die gewünschte Richtung beeinflussbar sind, wird noch Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

5 Summary

Retinoid regulation of gene expression is a well studied example of direct nutrient regulation of gene expression. The most important bioactive components all-*trans* retinoic acid (RA) and 9-*cis* RA bind and activate the retinoid receptors RAR and RXR. These ligand-dependent transactivation factors belong to the superfamily of steroid nuclear receptors. After undergoing conformational changes due to ligand binding and recruitment of co-activators and co-repressors, RAR/RXR heterodimers interact with retinoic acid response elements (RAREs) in the promoter region of target genes, resulting in the modulation of transcription of these genes. Retinoids are also able to repress gene expression in a RARE-independent manner by antagonizing the activity of other transcription factors.

Retinoids interact with multiple intracellular pathways and modulate cell proliferation, differentiation and morphogenesis. They are required at many stages during vertebrate development and remain crucial for the body homeostasis in the adult organism. This review provides an insight into retinoid metabolism, mechanisms of action and their potential role in the prevention of nutrition-related diseases.

6 Zusammenfassung

Die Regulation der Genexpression von Retinoiden ist ein umfangreich untersuchtes Beispiel für den direkten Einfluss von Nutrienten auf die Genexpression. Die wichtigsten bioaktiven Komponenten *all-trans* Retinsäure (RA) und *9-cis* RA binden und aktivieren die Retinoidrezeptoren RAR und RXR. Diese liganden-abhängigen Transaktivierungsfaktoren gehören zu der Überfamilie der Steroidkernrezeptoren. Nach dem Durchlaufen von Konformationsänderungen, die ausgelöst werden durch das Binden von Liganden und das Rekrutieren von Coaktivatoren und Corepressoren, interagieren die RAR/RXR Heterodimere mit Retinsäure-Response elements (RAREs) in der Promoter-Region von Zielgenen und modulieren so die Gentranskription. Retinoide sind zudem in der Lage, die Genexpression unabhängig von RAREs durch ihre antagonistische Wirkung auf andere Transkriptionsfaktoren zu unterdrücken.

Retinoide interagieren mit diversen intrazellulären Pathways und modulieren die Zellproliferation, Differenzierung und Morphogenese. Auch nach der Entwicklung bleiben sie essentiell für die Homöostase adulter Vertebrata. Dieser Review gibt Einblick in den Retinoidmetabolismus, die Wirkmechanismen und ihre mögliche präventive Rolle auf dem Gebiet ernährungsassoziierter Erkrankungen.

7 Literaturverzeichnis

- ABB, J.; DEINHARDT, F. (1980). Effects of retinoic acid on the human lymphocyte response to mitogens; *Exp. Cell. Biol.* 48, 169-179
- ALI, S.; DAVIS, M.G.; BECKER, M.W.; DOM, G.W. (1993). Thromboxane A2 stimulates vascular smooth muscle hypertrophy by up-regulating the synthesis and release of endogenous basic fibroblast growth factor; *J. Biol. Chem.* 268, 17397–17403
- ALIQUE, M.; HERRERO, J.F.; LUCIO-CAZANA, F.J. (2007). All-trans retinoic acid induces COX-2 and prostaglandin E2 synthesis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells: involvement of retinoic acid receptors and extracellular-regulated kinase 1/2; *J. Neuroinflammation.* 4, 4:1
- ALLAND, L.; MUHLE, R.; HOU, H.; POTES, J.; CHIN, L.; SCHREIBER-AGUS, N.; DEPINHO, R.A. (1997). Role for N-CoR and histone deacetylase in Sin3-mediated transcriptional repression; *Nature.* 387, 49-55
- ALSAYED, Y.; UDDIN, S.; MAHMUD, N.; LEKMINE, F.; KALVAKOLANU, D.V.; MINUCCI, S.; BOKOCH, G.; PLATANIAS, L.C. (2001). Activation of Rac1 and the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in response to all-trans-retinoic acid; *J. Biol. Chem.* 276, 4012-4019
- ALTUCCI, L.; LEIBOWITZ, M.D.; OGILVIE, K.M.; DELERA, A.R.; GRONEMEYER, H. (2007). RAR and RXR modulation in cancer and metabolic disease; *Nat Rev Drug Discov.* 6, 793-810
- ARANDA, A.; PASCUAL, A. (2001). Nuclear hormone receptors and gene expression; *Physiol. Rev.* 81, 1269-1304
- ARANDA, A.; PASCUAL, A. (2006). Nuclear Receptors: An Overview in: *Nutritional Genomics- Impact on Health and Disease* (Brigelius-Flohé, R.; Joost, H.G.; Eds.), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Deutschland
- BAETU, T.M.; HISCOTT, J. (2002). On the TRAIL to apoptosis; *Cytokine Growth Factor Rev.* 13, 199-207
- BALLOW, M.; WANG, W.; XIANG, S. (1996). Modulation of B-cell immunoglobulin synthesis by retinoic acid; *Clin. Immunol. Immunopathol.* 80, 73-81
- BALLOW, M.; XIANG, S.; GREENBERG, S.; BRODSKY, L.; ALLEB, C.; RICH, G. (1997). Retinoic Acid-induced modulation of IL-2 mRNA production and IL-2 receptor expression on T-Cells; *Int. Arch. Allergy Immunol.* 113, 167-169
- BALLOW, M.; XIANG, S.; WANG, W.; BRODSKY, L. (1996). The effects of retinoic acid on immunoglobulin synthesis: role of interleukin 6; *J. Clin. Immunol.* 16, 171-179
- BALTES, S.: Einfluss auf die Differenzierung und Permeabilität der Caco-2 Zellkultur als Modell für die Gastrointestinale Barriere. These zur Erlangung des Grades eines Ph.D. im Fachgebiet Lebensmitteltoxikologie, Hannover 2002
- BARISH, G.D.; NARKAR, V.A. EVANS, R.M. (2006). PPAR delta: a dagger in the heart of the metabolic syndrome; *J. Clin. Invest.* 116, 590–597
- BARUA, AB.; SIDELL, N. (2004). Retinoyl beta-glucuronide: a biologically active interesting retinoid; *J. Nutr.* 134, 286-289
- BASTIEN, J.; PLASSAT, J.L.; PAYRASTE, B.; ROCHETTE-EGLY, C. (2006). The phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway is essential for the retinoic acid-induced differentiation of F9 cells; *Oncogene* 25, 2040-2047

- BATIEHA, A.M.; ARMENIAN, H.K.; NORKUS, E.P.; MORRIS, J.S.; SPATE, V.E.; COMSTOCK, G.W. (1993). Serum micronutrients and the subsequent risk of cervical cancer in a population-based nested case-control study; *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2, 335-339
- BATTEN, M.L.; IMANISHI, Y.; MAEDA, T.; TU DC.; MOISE AR.; BRONSON, D. ; POSSIN, D. ; et al. (2004). Lecithin-retinol acyltransferase is essential for accumulation of all-transretinyl esters in the eye and in the liver; *J. Biol. Chem.* 279, 10422-10432
- BEEHLER, B.C.; BRINCKERHOFF, C.E.; OSTROWSKI, J. (2004). Selective retinoic acid receptor ligands for rheumatoid arthritis; *Current Opinion in Investigational Drugs* 5, 1153-1157
- BIESALSKI, H.K. (2004): Vitamin A (Retinol) und Retinoide in: *Ernährungsmedizin*, Thieme Verlag Stuttgart, Deutschland S. 111-120
- BLANER, W.S.; OBUNKE, J.C.; KURLANDSKY, S.B.; AL-HAIDERI, M.; PIANEDOSI, R.; DECKELBAUM, R.J.; GOLDBERG, I.J. (1994). Lipoprotein lipase hydrolysis of retinyl ester; *J. Biol. Chem.* 269, 16559-16565
- BLANER, W.S.; OLSON, J.A. (1994). Retinol and retinoic acid metabolism in: *The retinoids: biology, chemistry, and medicine* (Sporn M.B.; Roberts A.B.; Goodman D.S.; Eds.) Raven, New York, USA S. 229-256
- BLOMHOFF, R.; GREEN, M.H.; NORUM, K.R. (1992). Vitamin A: Physiological and biochemical processing; *Annu. Rev. Nutr.* 12, 37-57
- BLOMHOFF, R.; GREEN, M.H.; BERG, T.; NORUM, K.R. (1990). Transport and storage of vitamin A. *Science* 250, 399-404
- BLOMHOFF, R.; HELGERUD P.; RASMUSSEN M.; BERG, T.; NORUM, K.R. (1982). In vivo uptake of chylomicron [3H]retinyl ester by rat liver: evidence for retinol transfer from parenchymal to nonparenchymal cells; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 7326-7330
- BLOMHOFF, R.; HOLTE, K.; NAESS, L.; BERG, T. (1984). Newly administered [³H] retinol is transferred from hepatocytes to stellate cells in liver for storage; *Exp. Cell Res.* 150, 186-193
- BLOMHOFF, R.; WAKE, K. (1991). Perisinusoidal stellate cells of the liver: important roles in retinoid metabolism and fibrosis; *FASEB J.* 5, 271-277
- BOERMAN MHEM, NAPOLI, J.L. (1995). Characterization of a microsomal retinol dehydrogenase: a short-chain alcohol dehydrogenase with integral and peripheral membrane forms that interacts with holo-CRBP (type 1); *Biochemistry* 34, 7027-7037
- BONET, M.L.; RIBOT, J.; FELIPE, F.; PALOU, A. (2003). Vitamin A and the regulation of fat reserves; *Cell. Mol. Life Sci.* 60, 1311-1321
- BOSKOVIC, G.; DESAI, D.; NILES, R.M. (2002). Regulation of retinoic acid receptor alpha by protein kinase C in B16 mouse melanoma cells; *J. Biol. Chem.* 277, 26113-26119
- BOURGUET, W.; GERMAIN, P.; GRONEMEYER, H. (2000). Nuclear receptor ligand-binding domains: three-dimensional structures, molecular interactions and pharmacological implications; *Trends in Pharmacological Sciences* 21, 381-388
- BUCCO, R.A.; ZHENG, W.L.; DAVIS, J.T.; SIERRA-RIVERA, E.; OSTEEEN, K.G.; CHAUDHARY, A.K.; ONG, D.E.(1997). Cellular retinoic acid-binding protein(II) presence in rat uterine epithelial cells correlates with their synthesis of retinoic acid; *Biochemistry* 36, 4009-4014

- CAO, Z.; FLANDERS, K.C.; BERTOLETTE, D.; LYAKH, L.A.; WURTHNER, J.U.; PARKS, W.T.; LETTERIO, J.J.; RUSCETTI, F.W.; ROBERTS, A.B. (2003). Levels of phospho-Smad2/3 are sensors of the interplay between effects of TGF-beta and retinoic acid on monocytic and granulocytic differentiation of HL-60 cells; *Blood* 101, 498-507
- CHAMBON, P. (1996) A decade of molecular biology of retinoic acid receptors; *FASEB J.* 10, 940-954
- CHANG, L.; KARIN, M. (2001). Mammalian MAP kinase signalling cascades; *Nature* 410, 37-40
- CHELBIALIX, M.K.; PELICANO, L. (1999). Retinoic acid and interferon signaling cross talk in normal and RA-resistant APL cells; *Leukemia*.13, 1167-1174
- CHIANG, M.Y.; MISNER, D.; KEMPERMANN, G.; SCHIKORSKI, T.; GIGUERE, V.; SUCOV, H.M.; GAGE, F.H.; STEVENS, C.F.; EVANS, R.M. (1998). An essential role for retinoid receptors RAR and RXR gamma in long-term potentiation and depression; *Neuron* 21, 1353-1361
- CHIANG, M.Y.; MISNER, D.; KEMPERMANN, G.; SCHIKORSKI, T.; GIGUERE, V.; SUCOV, H.M.; GAGE, F.H.; STEVENS, C.F.; EVANS, R.M. (1998). An essential role for retinoid receptors RAR β and RXR γ in long-term potentiation and depression; *Neuron* 21, 1353-1361
- CHIBA, H.; CLIFFORD, J.; METZGER, D.; CHAMBON, P. (1997). Distinct retinoid X receptor-retinoic acid receptor heterodimers are differentially involved in the control of expression of retinoid target genes in F9 embryonal carcinoma cells; *Mol. Cell. Biol.* 17, 3013-3020
- CHMURZYNSKA, A. (2006). The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism; *J. Appl. Genet.* 47, 39-48
- CHO, E.; SPIEGELMAN, D.; HUNTER, D.J.; CHEN, W.Y.; ZHANG, S.M.; COLDITZ, G.A.; WILLET, W.C. (2003). Premenopausal intakes of vitamins A, C, and E, folate, and carotenoids, and risk of breast cancer; *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 12, 713-720
- CHUN, T.Y.; CARMAN, J.A.; HAYES, C.E. (1992). Retinoid repletion of vitamin A-deficient mice restores IgG responses; *J. Nutr.* 122, 1062-1069
- CIFELLI, C.J.; GREEN, J.B.; GREEN, M.H. (2005). Dietary retinoid acid alters vitamin A kinetics in both the whole body and in specific organs of rats with low vitamin A status; *J. Nutr.* 135, 746-752
- CLARKE, N.; NEBBIOSO, A.; ALTUCCI, L.; GRONEMEYER, H. (2005). TRAIL At the Center of Drugable Anti-tumor Pathways; *Cell Cycle* 4, 914-918
- COLBERT, M.C.; KIRBY, M.L.; ROBBINS, J. (1996). Endogenous retinoic acid signalling colocalizes with advanced expression of the adult smooth muscle myosin heavy chain isoform during development of the ductus arteriosus; *Circ. Res.* 78, 790-798
- CORCORAN, J.P.; SO, P.L.; MADEN, M. (2004). Disruption of the retinoid signalling pathway causes a deposition of amyloid beta in the adult rat brain; *Eur. J. Neurosci.* 20, 896-902
- DECHOW, C.; MORATH, C.; PETERS, J.; LEHRKE, I.; WALDHERR, R.; HAXSEN, V.; RITZ, E.; WAGNER, J. (2001). Effects of all-trans retinoic acid on renin-angiotensin system in rats with experimental nephritis; *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 281, 909-919
- DEDIEU, S.; LEFEBVRE, P. (2006). Retinoids interfere with the AP1 signalling pathway in human breast cancer cells; *Cell Signal* 18, 889-898
- DELINCON, S.V.; ROUSSEAU, C.; SAMANTA, R.; MILLER, R. (2003). Retinoic acid-induced growth arrest of MCF-7 cells involves the selective regulation of the IRS-1/PI 3-kinase/AKT pathway; *Oncogene* 22, 3353-3360

DELVA, L.; BASTIE, J.N.; ROCHETTE-EGLY, C.; KRAIBA, R.; BALITRAND, N.; DESPOUY, G.; CHAMBON, P.; CHOMIENNE, C. (1999). Physical and functional interactions between cellular retinoic acid binding protein II and the retinoic acid-dependent nuclear complex; *Mol. Cell Biol.* 19, 7158-7167

DESVERGNE, B. (2007). Retinaldehyde: more than meets the eye. *Nat. Med.* 13, 671-673

DEVAUX, Y.; GROSJEAN, S.; SEGUIN, C.; DAVID, C.; DOUSSET, B.; ZANNAD, F.; MEISTELMAN, C.; DETALANCE, N.; MERTES, P.M.; UNGUREANULONGROIS, D. (2000). Retinoic acid and host-pathogen interactions: effects on inducible nitric oxide synthase in vivo; *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 279, 1045-1053

DILLEHAY, D.L.; WALIA, A.S.; LAMON, E.W. (1988). Effects of retinoids on macrophage function and IL-1 activity; *J. Leukoc. Biol.* 44, 353-360

DMETRICHUK, J.M.; CARLONE, R.L.; SPENCER, G.E. (2006). Retinoic acid induces neurite outgrowth and growth cone turning in invertebrate neurons; *Developmental Biology* 294, 39-49

DONG, D.; RUUSKA, S.E.; LEVINTHAL, D.J.; NOY, N. (1999). Distinct roles for cellular retinoic acid-binding proteins I and II in regulating signaling by retinoic acid; *J. Biol. Chem.* 274, 23695-23698

ELIAS, K.M.; LAURENCE, A.; DAVIDSON, T.S.; STEPHENS, G.; KANNO, Y.; SHEVACH, E.M.; OSHEA, J.J. (2008). Retinoic acid inhibits Th17 polarization and enhances FoxP3 expression through a Stat 3/Stat-5 independent signalling pathway; *Blood* 111, 1013-1020

ELMADFA, I.; LEITZMANN, K. (1998): Vitamin A, Retinoide und Carotinoide in: Ernährung des Menschen -3. Aufl., Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co. Stuttgart (Hohenheim), Deutschland S. 289-300

ENGEDAL, N.; GJEVIK, T.; BLOMHOFF, R.; BLOMHOFF, H.K. (2006). All-trans retinoic acid stimulates IL-2-mediated proliferation of human T lymphocytes: early induction of cyclin D3; *J. Immunol.* 177, 2851-2861

ETCHAMENDY, N.; ENDERLIN, V.; MARIGHETTO, A.; PALLET, V.; HIGUERET, P.; JAFFARD, R. (2003). Vitamin A deficiency and relational memory deficit in adult mice: relationships with changes in brain retinoid signalling; *Behav. Brain Res.* 145, 37-49

ETHIER, I.; BEAUDRY, G.; ST-HILAIRE, M.; MILBRANDT, J.; ROUILLARD, C.; LEVESQUE, D. (2004). The Transcription Factor NGFI-B (Nur77) and Retinoids Play a Critical Role in Acute Neuroleptic-Induced Extrapyramidal Effect and Striatal Neuropeptide Gene Expression; *Neuropsychopharmacology* 29, 335-346

EVERTS, H.B.; SUNDBERG, J.P.; ONG, D.E. (2005). Immunolocalization of retinoic acid biosynthesis systems in selected sites in rat; *Exp. Cell. Res.* 308, 309-319

FELIPE, F.; BONET, M.L.; RIBOT, J.; PALOU, A. (2004). Modulation of resistin expression by retinoic acid and vitamin A status; *Diabetes* 53, 882-889

FRANKE, T.F.; HORNIK, C.P.; SEGEV, I.; SHOSTAK, G.A.; SUGIMOTO, C. (2003). PI3K/Akt and apoptosis: size matters; *Oncogene* 22, 8983-8998

GARATTINI, E.; GIANNI, M.; MINEKO, T. (2007). Cytodifferentiation by Retinoids, a novel therapeutic option in oncology: Rational combinations with other therapeutic agents; *Vitamins and Hormones* 75, 301-354

GARCIA, A.L.; RÜHL, R.; HERZ, U.; KOEBNICK, C.; SCHWEIGERT, F.J.; WORM, M. (2003). Retinoid – and carotenoid-enriched diets influence the ontogenesis of the immune system in mice; *Immunology* 110, 180-187

GARRETTMASTER, M.; RUSSELL, R.M.; JAQUES, P.F. (1984). Impairment of taste and olfaction in patients with cirrhosis: the role of vitamin A; *Hum. Nutr. Clin. Nutr.* 38, 203-214

- GERMAIN, P.; IYER, J.; ZECHEL, C.; GRONEMEYER, H. (2002). Co-regulator recruitment and the mechanism of retinoic acid receptor synergy. *Nature* 415, 187-192
- GERMAIN, P.; IYER, J.; ZECHEL, C.; GRONEMEYER, H. (2002). Co-regulator recruitment and the mechanism of retinoic acid synergy; *Nature* 415, 187-192
- GHYSELINCK, N.B.; DUPE, V.; DIERICH, A.; MESSADEQ, N.; GARNIER, J.M.; ROCHETTE-EGLY, C.; CHAMBON, P.; MARK, M. (1997). Role of the retinoic acid receptor beta (RAR beta) during mouse development; *Int. J. Dev. Biol.* 41, 425-447
- GIANNI, M.; BAUER, A.; GARATTINI, E.; CHAMBON, P.; ROCHETTE-EGLY, C. (2002). Phosphorylation by p38MAPK and recruitment of SUG-1 are required for RA-induced RAR gamma degradation and transactivation; *EMBO J.* 21, 3760-3769
- GIANNI, M.; KOPF, E.; BASTIEN, J.; OULAD-ABDELGHANI, M.; GARATTINI, E.; CHAMBON, P.; ROCHETTE-EGLY, C. (2002). Down-regulation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway is involved in retinoic acid-induced phosphorylation, degradation, and transcriptional activity of retinoic acid receptor gamma 2; *J. Biol. Chem.* 277, 24859-24862
- GIANNI, M.; PARRELLA, E.; RASKA, I.; GAILLARD, E.; NIGRO, E.A.; GAUDON, C.; GARATTINI, E.; ROCHETTE-EGLY, C. (2006). P38MAPK-dependent phosphorylation and degradation of SRC-3/AIB1 and RARalpha-mediated transcription; *EMBO J.* 25, 739-751
- GOODMAN, A.B. (2006). Retinoid receptors, transporters, and metabolizers as therapeutic targets in late onset Alzheimer disease; *J. Cell. Physiol.* 209, 598-603
- GOODMAN, A.B. (1998). Three independent lines of evidence suggest retinoids as causal to schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 7240-7244
- GOODMAN, A.B.; PARDEE, A.B. (2003). Evidence for defective retinoid transport and function in late onset Alzheimer's disease; *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 100, 2901-2905
- GOODMAN, D.S.; BLANER, W.S. (1984). Biosynthesis, absorption and hepatic metabolism of retinol in: *The retinoids* (Sporn M.B.; Roberts, A.B.; Goodman, D.S.; Eds), Academic Press, Orlando, USA S. 1-40
- GOODMAN, D.S.; HUANG, H.S. (1965). Biosynthesis of vitamin A with rat intestinal enzymes; *Science* 149, 879-880
- GRAHAM, T.E.; YANG, Q.; BLÜHER, M.; HAMMARSTEDT, A.; CIARALDI, T.P.; HENRY, R.R.; WASON, C.J.; OBERBACH, A.; JANSSON, P.A.; SMITH, U.; KAHN, B.B. (2006). Retinol-Binding Protein 4 and Insulin Resistance in Lean, Obese, and Diabetic Subjects; *N. Engl. J. Med.* 354, 2552-2563
- GREEN, M.H.; GREEN, J.B. (2003). The use of model-based compartmental analysis to study vitamin A metabolism in a non-steady state; *Adv. Exp. Med. Biol.* 537, 159-172
- GRIMALDI, P.A. (2007). Lipid sensing and lipid sensors: peroxisome proliferator-activated receptors as sensors of fatty acids and derivatives; *Cell Mol. Life. Sci.* 64, 2459-2464
- GRONDONA, J.M.; KASTNER, P.; GANSMULLER, A.; DECIMO, D.; CHAMBON, P.; MARK, M. (1996). Retinal dysplasia and degeneration in RARbeta2/RARgamma2 compound mutant mice; *Development* 122, 2173-2188
- GRONEMEYER, H.; GUSTAFSSON, J.A.; LAUDET, V. (2004). Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily; *Nat. Rev. Drug Discov.* 3, 950-964
- GRUBER, J.R.; DESAI, S.; BLUSZTAJN, J.K.; NILES, R.M. (1995). Retinoic acid specifically increases nuclear PKC alpha and stimulates AP-1 transcriptional activity in B16 mouse melanoma cells; *Exp Cell Res.* 221, 377-84

- GRUBER, P.J.; KUBALAK, S.W.; PEXIEDER, T.; SUCOV, H.M.; EVANS, R.M.; CHIEN, K.R. (1996). RXR alpha deficiency confers genetic susceptibility for aortic sac, conotruncal, atrioventricular cushion, and ventricular muscle defects in mice; *J. Clin. Invest.* 98, 1332-1343
- HAMILTON, R.L.; WONG, J.S.; GUO, L.S.; KRISANS, S.; HAVEL, R.J. (1990). Apolipoprotein E localization in rat hepatocytes by immunogold labelling of cryothin sections; *J.Lipid Res.* 31, 1589-1603
- HAQ, RU.; CHYTIL, F. (1988). Retinoic acid rapidly induces lung cellular retinol-binding protein mRNA levels in retinol deficient rats; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 156, 712-716
- HARTMANN, S.; BRORS, O.; BOCK, J.; BLOMHOFF, R.; BAUSCH, J.; WIEGAND, U.W.; HARTMANN, D.; et al. (2005). Exposure to retinyl esters, retinol, and retinoic acids in non-pregnant women following increasing single and repeated oral doses of vitamin A; *Ann. Nutr. Metab.* 49, 155-164
- HARVAT, B.; JETTEN, A.M. (1999). Growth Control by Retinoids: Regulation of Cell Cycle Progression and Apoptosis in Retinoids. The Biochemical and Molecular Basis of Vitamin A and Retinoid Action (Nau, H.; Blaner, W.S.; Eds.) Springer Verlag Berlin Heidelberg, Deutschland: S. 239-276
- HAXSEN, V.; ADAMSTITAH, S.; RITZ, E.; WAGNER, J. (2001). Retinoids Inhibit the Actions of Angiotensin II on Vascular Smooth Muscle Cells; *Circulation Research* 88, 637-644
- HE, J.C.; LU, T.C.; FLEET, M.; SUNAMOTO, M.; HUSAIN, M.; FANG, W.; NEVES, S.; CHEN, Y.; SHAWKLANDS, S.; IYENGAR, R.; KLOTMAN, P.E. (2007). Retinoic acid inhibits HIV-1-induced podocyte proliferation through the cAMP Pathway; *J. Am. Soc. Nephrol.* 18, 93-102
- HEBUTERNE, X.; WANG, X.D.; SMITH, D.E.; TANG, G.; RUSSELL, R.M. (1996). In vivo biosynthesis of retinoic acid from beta-carotene involves an excentric cleavage pathway in ferret intestine; *J.Lipid Res.* 37, 482-492
- HEERY, D.M.; KALKOVEN, E.; HOARE, S.; PARKER, M.G. (1997). A signature motif in transcriptional coactivators mediates binding to nuclear receptors; *Nature* 387, 733-736
- HEINZEL, T.; LAVINSKY, R.M.; MULLEN, T.M.; SÖDERSTROM, M.; LAHERTY, C.D.; TORCHIA, J.; YANG, W.M.; BRARD, G.; NGO, S.D.; DAVIE, J.R.; SETO, E.; EISENMANN, R.N.; ROSE, D.W.; GLASS, C.K.; ROSENFELD, M.G. (1997). A complex containing N-CoR, mSin3 and histone deacetylase mediates transcriptional repression; *Nature* 387, 43-48
- HENNEKENS, C.H.; BURING, J.E.; MANSON, J.E.; STAMPFER, M.; ROSNER, B.; COOK, N.R. et al. (1996). Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease; *N. Engl. J. Med.* 334, 1145-1149
- HERR, F.M.; ONG, D.E. (1992). Differential interaction of lecithin-retinol acyltransferase with cellular retinol binding proteins; *Biochemistry* 31, 6748-6755
- HERSHKO, A.; CIECHANOVER, A. (1998). The ubiquitin system; *Annu. Rev. Biochem.* 67, 425-479
- HONG, S.H.; PRIVALSKY, M.L. (2000). The SMRT corepressor is regulated by a MEK-1 kinase pathway: inhibition of corepressor function is associated with SMRT phosphorylation and nuclear export; *Mol. Cell. Biol.* 20, 6612-6625
- HORTON, C.; MADEN, M. (1995). Endogenous distribution of retinoids during normal development and teratogenesis in the mouse embryo; *Dev. Dynam.* 202, 312-323
- HORWITZ, K.B.; JACKSON, T.A.; BAINM, D.L.; RICHER, J.K.; TAKIMOTO, G.S.; TUNG, L. (1996). Nuclear receptor coactivators and corepressors; *Mol. Endocrinol.* 10, 1167-1177
- ITO, Y.; SUZUKI, K.; ISHII, J.; HISHIDA, H.; TAMAKOSHI, A.; HAMAJIMA, N.; AOKI, K. (2006). A population-based follow-up study on mortality from cancer or cardiovascular disease and serum carotenoids, retinol and tocopherols in Japanese inhabitants; *Asian. Pac. J. Cancer Prev.* 7, 533-546

- IULIANELLA, A.; BECKETT, B.; PETKOVICH, M.; LOHNES, D. (1999). A molecular basis for retinoic acid-induced axial truncation; *Dev. Biol.* 205, 33-48
- JACOBS, S.; LIE, D.C.; DECICCO, K.L.; SHI, Y.; DELUCA, L.M.; GAGE, F.H.; EVANS, R.M. (2006). Retinoic acid is required early during adult neurogenesis in the dentate gyrus; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 3902-3907
- JANKNECHT, R.; HUNTER, T. (1996). A growing coactivator network; *Nature* 383, 22-23
- JENUWIN, T.; ALLIS, C.D. (2001). Translating the histone code; *Science* 293, 1074-1080
- KAMBHAMPATI, S.; LI, Y.; VERMA, A.; SASSANO, A.; MAJCHRZAK, B.; DEB, D.K.; PARMAR, S.; GIAFIS, N.; KALVAKOLANU, D.V.; RAHMAN, A.; UDDIN, S.; MINUCCI, S.; TALLMAN, M.S.; FISH, E.N.; PLATANIAS, L.C. (2003). Activation of protein kinase C delta by all-trans-retinoic acid; *J Biol Chem.* 278, 32544-32551
- KAMEI, Y.; XU, L.; HEINZEL, T.; TORCHIA, J.; KUROKAWA, R.; GLOSS, B.; LIN, S.C.; HEYMAN, R.A.; ROSE, D.W.; GLASS, C.K.; ROSENFELD, M.G. (1996) A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors; *Cell* 85, 403-414
- KARIN, M.; SHAULIAN, E. (2001). AP-1: Linking hydrogen peroxide and oxidative stress to the control of cell proliferation and death; *IUBMB Life* 52, 17-24
- KASTNER, P.; GRONDONA, J.M.; MARK, M.; GANSMULLER, A.; LEMEURE, M.; DECIMO, D.; VONESCH, J.L.; DOLLE, P.; CHAMBON, P. (1994). Genetic analysis of RXR alpha, developmental function: Convergence of RXR and RAR signalling pathways in heart and eye morphogenesis; *Cell* 78, 987-1003
- KASTNER, P.; GRONDONA, J.M.; MARK, M.; GANSMULLER, A.; LEMEURE, M.; DECIMO, D.; VONESCH, J.L.; DOLLE, P.; CHAMBON, P. (1994). Genetic analysis of RXR α developmental function: convergence of RXR and RAR signalling pathways in heart and eye morphogenesis; *Development* 78, 987-1003
- KASTNER, P.; MARK, M.; CHAMBON, P. (1995). Nonsteroid nuclear receptors: what are genetic studies telling us about their role in real life?; *Cell* 83, 859-869
- KASTNER, P.; MARK, M.; GHYSELINCK, N.; KREZEL, W.; DUPE, V.; GRONDONA, J.M.; CHAMBON, P. (1997). Genetic evidence that the retinoid signal is transduced by heterodimeric RXR/RAR functional units during mouse development; *Development* 124, 313-326
- KASTNER, P.; MARK, M.; LEID, M.; GANSMULLER, A.; CHIN, W.; GRONDONA, J.M.; DECIMO, D.; KREZEL, W.; DIERICH, A.; CHAMBON, P. (1996). Abnormal spermatogenesis in RXR beta mutant mice; *Genes Dev.* 10, 80-92
- KASTNER, P.; MESSADEQ, N.; MARK, M.; WENDLING, O.; GRONDONA, J.M.; WARD, S.; GHYSELINCK, N.; CHAMBON, P. (1997). Vitamin A deficiency and mutations of RXR α , RXR β and RAR α lead to early differentiation of embryonic ventricular cardiomyocytes; *Development* 124, 4749-4758
- KIM, J.H.; LI, H.; STALLCUP, M.R. (2003). CoCoA, a nuclear receptor coactivator which acts through an N-terminal activation domain of p160 coactivators; *Mol. Cell* 12, 1537-1549
- KLIEWER, S.A.; FORMAN, B.M.; BLUMBERG, B.; ONG, E.S.; BORMEYER, U.; MANGELSDORF, D.J.; UMESONO, K.; EVANS, R.M. (1994). Differential expression and activation of a family of murine peroxisome proliferator-activated receptors; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 7355-7359
- KOPF, E.; PLASSAT, J.L.; VIVAT, V.; DETHE, H.; CHAMBON, P.; ROCHETTE-EGLY, C. (2000). Dimerization with retinoid X receptors and phosphorylation modulate the retinoic acid-induced degradation

tion of retinoic acid receptors alpha and gamma through the ubiquitin-proteasome pathway; *J. Biol. Chem.* 275, 33280-3328

KOUZARIDES, T. (2002). Histone methylation in transcriptional control; *Curr. Opin. Genet. Dev.* 12, 198-209

KREZEL, W.; GHYSELINCK, N.; SAMAD, T.A.; DUPE, V.; KASTNER, P.; BORRELLI, E.; CHAMBON, P. (1998). Impaired locomotion and dopamin signaling in retinoid receptor mutant mice. *Science* 279, 863-867

KURLANDSKY, SB.; DUELL, EA.; KANG, S.; VORHEES, JJ.; FISHER, GJ. (1996). Autoregulation of retinoic acid biosynthesis through regulation of retinol esterification in human keratinocytes; *J. Biol. Chem.* 271, 15 346-15 352

LAMMER, E.J.; CHEN, D.T.; HOAR, R.M.; AGNISH, N.D.; BENKE, P.J.; BRAUN, J.T.; CURRY, C.J.; FERNHOFF, P.M.; GRIX, A.W.; LOTT, I.T. (1985). Retinoic acid embryopathy; *N. Engl. J. Med.* 313, 837-841

LANEY, J.D.; HOCHSTRASSER, M. (1999). Substrate targeting in the ubiquitin system; *Cell* 97, 427-430

LAURITSEN, K.J.; LIST, H.J.; REITER, R.; WELLSTEIN, A.; RIEGEL, A.T. (2002). A role for TGF-beta in estrogen and retinoid mediated regulation of the nuclear receptor coactivator AIB1 in MCF-7 breast cancer cells; *Oncogene* 21, 7147-7155

LEBLANC, B.P.; STUNNENBERG, H.G. (1995). 9-cis retinoic acid signalling changing partners causes some excitement; *Genes Dev.* 9, 1811-1816

LEE, H.Y.; SUH, Y.A.; ROBINSON, M.J.; CLIFFORD, J.L.; HONG, W.K.; WOODGETT, J.R.; COBB, M.H.; MANGELSDORF, D.J.; KURIE, J.M. (2000). Stress pathway activation induces phosphorylation of retinoid X receptor; *J. Biol. Chem.* 275, 32193-32199

LEFEBVRE, B.; MOUCHON, A.; FORMSTECHE, P.; LEFEBVRE, P. (1998). H11-H12 loop retinoic acid receptor mutants exhibit distinct trans activating and trans-repressing activities in the presence of natural or synthetic retinoids; *Biochemistry* 37, 9240-9249

LEID, M.; KASTNER, P.; LYONS, R.; NAHSHATRI, H.; SAUNDERS, M.; ZACHAREWSKI, T.; CHEN, J.Y.; STAUB, A.; GARNIER, J.M.; MADER, S.; CHAMBON, P. (1992). Purification, cloning and RXR identity of the HeLa cell factor with which RAR or TR heterodimerizes to bind target sequences efficiently; *Cell* 68, 377-395

LI, E.; SUCOV, H.M.; LEE, K.F.; EVANS, R.M.; JAENISCH, R. (1993). Normal development and growth of mice carrying a targeted disruption of the alpha 1 retinoic acid receptor gene; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1590-1594

LIN, B.; CHEN, G.Q.; XIAO, D.; KUMARKOLLURI, S.; CAO, X.; SU, H.; ZHANG, X.K. (2000). Orphan Receptor COUP-TF Is Required for Induction of Retinoic Acid Receptor β , Growth Inhibition, and Apoptosis by Retinoic Acid in Cancer Cells; *Mol. Cell. Biol.* 20, 957-970

LIN, M.; Zhang, M.; ABRAHAM, M.; SMITH, SM.; NAPOLI, JL. (2003). Mouse retinal dehydrogenase 4. molecular cloning, cellular expression and activity in 9-cis retinoic acid biosynthesis in intact cells; *J. Biol. Chem.* 278, 9856-9861

LÖFFLER, G. (2003). *Das endokrine System in: Basiswissen Biochemie*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, Deutschland: S. 479-540

LOHNES, D.; MARK, M.; MENDELSON, S.; DOLLE, P.; DIERICH, A.; GORRY, P.; GANSMULLER, A.; CHAMBON, P. (1994). Function of the retinoic acid receptors (RARs) during de-

velopment; I. Craniofacial and skeletal abnormalities in RAR double mutants; *Development* 120, 2733-2748

LOINDER, K.; SÖDERSTRÖM, M. (2004). Functional analyses of an LXXLL motif in nuclear receptor corepressor (N-CoR); *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 91, 191-196

LOMO, J.; SMELAND, E.B.; ULVEN, S.; NATARAJA, V.; BLOMHOFF, R.; GANDHI, U.; DAWSON, M.I.; BLOMHOFF, H.K. (1998). RAR-, not RXR, ligand inhibit cell activation and prevent apoptosis in B-lymphocytes. *J. Cell Physiol.* 175, 68-77

LOPEZCARBALLO, G.; MORENO, L.; MASIA, S.; PEREZ, P.; BARETTINO, D. (2002). Activation of the phosphatidylinositol-3-kinase/Akt signalling pathway by retinoic acid is required for neural differentiation of SH-SY5Y human neuroblastoma cells; *J. Biol. Chem.* 277, 25297-25304

LOTAN, R.; CLIFFORD, J.L.; LIPPMAN, S.H. (2000). Retinoids and Interferons: combination studies in human cancer in: *Vitamin A and Retinoids: An Update of Biological Aspects and Clinical Applications* (Livrea, M.A.; Eds) Birkhäuser Verlag, Basel, Schweiz: S. 221-230

LOTAN, R.; XU, X.C.; LIPPMAN, S.M.; RO, J.Y.; LEE, J.S.; LEE, J.J.; HONG, W.K. (1995). Suppression of retinoic acid receptor-beta in premalignant oral lesions and its up-regulation by isotretinoin; *N. Engl. J. Med.* 332, 1405-1410

LOVE, J.D.; GOOCH, J.T.; BENKO, S.; LI, C.; NAGY, L.; CHATTERJEE, V.K.K.; EVANS, R.M.; SCHWABE, J.W.R. (2002). The structural basis for the specificity of retinoid-X receptor-selective agonists: New insights into the role of helix H12; *J. Biol. Chem.* 277, 11385-11391

LUFKIN, T.; LOHNES, D.; MARK, M.; DIERICH, A.; GORRY, P.; GAUB, M.P.; LEMEURE, M.; CHAMBON, P. (1993). High postnatal lethality and testis degeneration in retinoic acid receptor alpha mutant mice; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 7225-7229

LUO, J.M.; PASCERI, P.; CONLON, R.A.; ROSSANT, J.; GIGUERE, V. (1995). Mice lacking all isoforms of retinoic acid receptor beta develop normally and are susceptible to the teratogenic effects of retinoic acid; *Mech. Dev.* 53, 61-71

MADEN, M. (2006). Retinoids and spinal cord development; *J. Neurobiol.* 66, 726-738

MADEN, M. (2007). Retinoic acid in the development, regeneration and maintenance of the nervous system; *Nat. Rev. Neurosci.* 8, 755-765

MADEN, M.; GALE, E.; KOSTETSKII, I.; ZILE, M. (1996). Vitamin A-deficient quail embryos have half a hindbrain and other neural defects; *Curr. Biol.* 6, 417-426

MADEN, M.; SONNEVELD, E.; VANDERSAAG, P.T.; GALE, E. (1998). The distribution of endogenous retinoic acid in the chick embryo: implications for developmental mechanisms; *Development* 125, 4133-4144

MANGELSDORF, D.J.; THUMMEL, C.; BEATO, M.; HERRLICH, P.; SCHUTZ, G.; UMESONO, K.; BLUMBERG, B.; KASTNER, B.; MARK, M.; CHAMBON, P.; EVANS, R.M. (1995). The nuclear receptor superfamily: the second decade; *Cell* 83, 835-839

MARK, M.; CHAMBON, P. (2003). Functions of RARs and RXRs in vivo: genetic dissection of the retinoid signalling pathway; *Pure Appl. Chem.* 75, 1709-1732

MASCREZ, B.; MARK, M.; DIERICH, A.; GHYSELINCK, N.B.; KASTNER, P.; CHAMBON, P. (1998). The RXR alpha ligand-dependent activation function 2 (AF-2) is important for mouse development; *Development* 125, 4691-4707

MASON, K. (1935). Fetal death, prolonged gestation, and difficult parturition in the rat as a result of vitamin A deficiency; *Am. J. Anat.* 57, 303-349

- MATSUSHIMA-NISHIWAKI, R.; OKUNO, M.; ADACHI, S.; SANO, T.; AKITA, K.; MORIWAKI, H.; FRIEDMAN, S.L.; KOJIMA, S. (2001). Phosphorylation of retinoid X receptor alpha at serine 260 impairs its metabolism and function in human hepatocellular carcinoma; *Cancer Res.* 61, 7675-82
- MATSUURA, T.; ROSS, A.C. (1993). Regulation of hepatic lecithin:retinol acyltransferase activity by retinoic acid; *Arch Biochem. Biophys.* 301, 221-227
- MCCAFFERY, P.; ANDREOLA, F.; GIANDOMENICO, V.; DELUCA, L.M. (2001). Vitamin A and Gene Expression in: *Nutrient-Gene Interactions in Health and Disease* (Moustaid-Moussa, N.; Berdanier, C.D.; Eds.) CRC Press LLC, Boca Raton, USA: S. 283-319
- MEHTA, J.L.; LAWSON, D.; MEHTA, P.; SALDEEN, T. (1988). Increased prostacyclin and thromboxane A2 biosynthesis in atherosclerosis; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 4511-4515
- MENDELSON, C.; LOHNES, D.; DECIMO, D.; LUFKIN, T.; LEMEUR, M.; CHAMBON, P.; MARK, M. (1994). Function of the retinoic acid receptors (RARs) during development (II). Multiple abnormalities at various stages of organogenesis in RAR double mutants; *Development.* 120, 2749-2771
- MENDELSON, C.; MARK, M.; DOLLE, P.; DIERICH, A.; GAUB, M.P.; KRUST, A.; Lampron, C.; CHAMBON, P. (1994b). Retinoic acid receptor beta 2 (RAR beta 2) null mutant mice appear normal; *Dev. Biol.* 166, 246-258
- MERCADER, J.; MADSEN, L.; FELIPE, F.; PALOU, A.; KRISTIANSEN, K.; BONET, M.L. (2007). All-trans retinoic acid increases oxidative metabolism in mature adipocytes; *Cell. Physiol. Biochem.* 20, 1061-1072
- MIANO, J.M.; TOPOUZIS, S.T.; MAJESKY, M.W.; OLSON, E.N. (1996). Retinoid Receptor Expression and all-trans Retinoic Acid-Mediated Growth Inhibition in Vascular Smooth Muscle Cells; *Circulation* 93, 1886-1895
- MICHALIK, L.; AUWERX, J.; BERGER, J.P.; CHATTERJEE, V.K.; GLASS, C.K.; GONZALEZ, F.J.; GRIMALDI, P.A.; KADOWAKI, T.; LAZAR, M.A.; ORAHILLY, S.; PALMER, C.N.; PLUTZKY, J.; REDDY, J.K.; SPIEGELMAN, B.M.; STAELS, B.; WAHLI, W. (2006). International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors; *Pharmacol. Rev.* 58, 726-741
- MICHALIK, L.; AUWERX, J.; BERGER, J.P.; CHATTERJEE, V.K.; GLASS, C.K.; GONZALEZ, F.J.; GRIMALDI, P.A.; KADOWAKI, T.; LAZAR, M.A.; ORAHILLY, S.; PALMER, C.N.; PLUTZKY, J.; REDDY, J.K.; SPIEGELMAN, B.M.; STAELS, B.; WAHLI, W. (2006). International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors; *Pharmacol. Rev.* 58, 726-741
- MICHALIK, L.; WAHLI, W. (2007). Guiding Ligands to Nuclear Receptors; *Cell* 129, 649-651
- MINGAUD, F.; MORMEDE, C.; ETCHAMENDY, N.; MONS, N.; NIEDERGAN, B.; WIETRZYCH, M.; PALLET, V.; JAFFARD, R.; KREZEL, W.; HIGUERET, P.; MARIGHETTO, A. (2008). Retinoid hyposignaling contributes to aging-related decline in hippocampal function in short-term/working memory organization and long-term declarative memory encoding in mice; *J. Neurosci.* 28, 279-291
- MUCIDA, D.; PARK, Y.; KIM, G.; TUROVSKAYA, O.; SCOTT, I.; KRONENBERG, M.; CHEROUTRE, H. (2007). Reciprocal T_H17 and Regulatory T Cell Differentiation Mediated by Retinoic Acid; *Science* 317, 256-260
- NAGY, L.; KAO, H.Y.; LOVE, J.D.; LI, C.; BANAYO, E.; GOOCH, J.T.; KRISHNA, V.; CHATTERJEE, K.; EVANS, R.M.; SCHWABE, J.W. (1999). Mechanism of corepressor binding and release from nuclear hormone receptors; *Genes Dev.* 13, 3209-32016
- NAGY, N.E.; HOLVEN, K.B.; ROOS, N.; SENOO, H.; KOJIMA, N.; NORUM, K.R.; BLOMHOFF, R. (1997). Storage of vitamin A in extrahepatic stellate cells in normal rats; *J. Lipid Res.* 38, 645-658

- NAKAGAWA, S.; FUJII, T.; YOKOYAMA, G.; KAZANIETZ, M.G.; YAMANA, K.; SHIROUZU, K. (2003). Cell growth inhibition by all-trans retinoic acid in SLBR-3 breast cancer cells: involvement of protein kinase C α and extracellular signal regulated kinase mitogen-activated protein kinase; *Mol. Carcinog.* 38, 106-116
- NAPOLI, J.L.; RACE, K.R. (1988). Biogenesis of retinoic acid from β -carotene; *J. Biol. Chem.* 263, 17372-17377
- NAPOLI, J.L.; RACE, K.R. (1988). Biogenesis of retinoic acid from beta-carotene. Differences between the metabolism of beta-carotene and retinal; *J. Biol. Chem.* 263, 17372-17377
- NAPOLI, J.L. (1986). Retinol metabolism in LLC-PK₁ cells: Characterization of retinoic acid synthesis by an established mammalian cell line; *J. Biol. Chem.* 261, 13 592-13 597
- NEWCOMER, M.E.; ONG, D.E. (2000). Plasma retinol binding protein: structure and function of the prototypic lipocalin; *Biochem. Biophys. Acta* 1482, 57-64
- NEZZAR, H.; CHIAMBARETTA, F.; MARCEAU, G.; BLANCHON, L.; FAYE, B.; DELOCHETTE, P.; RIGAL, D.; SAPIN, V. (2007). Molecular and metabolic retinoid pathways in the human ocular surface; *Mol. Vis.* 13, 1641-1650
- NILES, R.M. (2003). Vitamin A (retinoids) regulation of mouse melanoma growth and differentiation; *J. Nutr.* 133, 282-286
- NILES, R.M. (2004). Signaling pathways in retinoid chemoprevention and treatment of cancer; *Mutation Research* 555, 81-96
- NISSEN, S.B.; TJONNELAND, A.; STRIPP, C.; OLSEN, A.; CHRISTENSEN, J.; OVERVAD, K.; DRAGSTED, L.O.; THOMSEN, B. (2003). Intake of vitamins A, C, and E from diet and supplements and breast cancer in postmenopausal women; *Cancer Causes Control.* 14, 695-704
- NOY, N. (1999). Physical-Chemical Properties and Action of Retinoids in: *Retinoids. The Biochemical and Molecular Basis of Vitamin A and Retinoid Action* (Nau, H.; Blaner, W.S.; Eds.) Springer Verlag Berlin Heidelberg, Deutschland: S.3-29
- OGRYZKO, V.W.; SCHILTZ, R.L.; RUSSANOVA, V.; HOWARD, B.H.; NAKATANI, Y. (1996). The transcriptional coactivators p300 and CBP are histone acetyltransferases; *Cell* 87, 953-959
- OLSON, J.A. (2000): Requirements and safety of vitamin A in humans in: *Vitamin A and Retinoids: An Update of Biological Aspects and Clinical Applications* (Livrea, M.A.; Eds) Birkhäuser Verlag, Basel, Schweiz: S. 29-43
- OLSON, J.A.; HAYAISHI, O. (1965). The enzymatic cleavage of β -carotene into vitamin A by soluble enzymes of rat liver and intestine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 54, 1364-1370
- ONG, D.E.; MACDONALD, P.N.; GUBITOSI, A.M. (1988). Esterification of retinol in rat liver: possible participation by cellular retinol-binding protein II; *J. Biol. Chem.* 263, 5789-5796
- PAIK, J.; VOGEL, S.; QUADRO, L.; PIANTEDOSI, R.; GOTTESMANN, M.; LAI, K.; HAMBERGER, L.; et al. (2004). Vitamin A: overlapping delivery pathways to tissues from the circulation; *J. Nutr.* 134, 276-280
- PAKALA, R.; WILLERSON, J.T.; BENEDICT, C.R. (1997). Effect of serotonin, thromboxane A₂, and specific receptor antagonists on vascular smooth muscle cell proliferation. *Circulation* 96, 2280-2286
- PAN, J.; BAKER, K.M. (2007). Retinoic acid and the Heart; *Vitamins and Hormones* 75, 257-283

- PARK, J.I.; TSAI, S.Y.; TSAI, M.J. (2003). Molecular mechanism of chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor (COUP-TF) actions; *Keio J. Med.* 52, 174–181
- PARKER, R.S. (1996). Absorption, metabolism, and transport of carotenoids; *FASEB J.* 10, 542-551
- PARRELLA, E.; GIANNI, M.; CECCONI, V.; NIGRO, E.; BARZAGO, M.M.; RAMBALDI, A.; ROCHETTE-EGLY, C.; TERAQ, M.; GARATTINI, E. (2004). Phosphodiesterase IV inhibition by plicamylast potentiates the cytodifferentiating action of retinoids in myeloid leukemia cells. Cross-talk between the cAMP and the retinoic acid signaling pathways; *J. Biol. Chem.* 279, 42026-42040
- PASQUALETTI, M.; NEUN, R.; DAVENNE, M.; RIJLI, F.M.(2001). Retinoic acid rescues inner ear defects in *Hoxa1* deficient mice; *Nature Genetics* 29, 34-39
- PENZES, P.; WANG X.; NAPOLI, J.L. (1997). Cloning of a cDNA encoding retinal dehydrogenase isozyme type and its expression in *Escherichia coli*; *Gene* 191, 167-172
- PEREZ-JUSTE, G.; ARANDA, A. (1991). Differentiation of neuroblastoma cells by phorbol esters and insulin-like growth-factor 1 is associated with induction of retinoic acid receptor β gene expression; *Oncogene* 18, 5393-5402
- PERLMAN, T.; EVANS, R.M. (1997). Nuclear receptors in sicily: all in the famiglia; *Cell* 90, 391-397
- PERLMANN, T.; JANSSON, L. (1995). A novel pathway for vitamin A signaling mediated by RXR heterodimerization with NGFI-B and Nurr1; *Genes Dev.* 9, 769–782
- PETERSON, P.A. (1971). Studies on the interaction between prealbumin, retinol-binding protein, and vitamin A; *J. Biol. Chem.* 246, 44-49
- PFAHL, M. (1993). Nuclear receptor/AP-1 interaction; *Endocr. Rev.* 14, 651-658
- PIEDRAFITA, F.J.; PFAHL, M. (1999). Nuclear Retinoid Receptors and Mechanisms of Action in: Retinoids. The Biochemical and Molecular Basis of Vitamin A and Retinoid Action (Nau, H.; Blaner, W.S.; Eds.) Springer Verlag Berlin Heidelberg, Deutschland: S. 153-184
- POSCH, K.C.; BURNS, R.D.; NAPOLI, J.L. (1992). Biosynthesis of all-trans retinoic acid from retinal: recognition of retinal bound to cellular retinol binding protein (type 1) as substrate by purified cytosolic dehydrogenase; *J. Biol. Chem.* 267, 19 676-19 682
- PRASAD, K.N.; COLE, W.C.; YAN, X.D.; NAHREINI, P.; KUMAR, B.; HANSON, A.; PRASAD, J.E. (2003). Defects in cAMP-pathway may initiate carcinogenesis in dividing nerve cells: a review; *Apoptosis.* 8, 579-586
- PRESTON, I.R.; TANG, G.; TILAN, J.U.; HILL, N.S.; SUZUKI, Y.J. (2005). Retinoids and Pulmonary Hypertension; *Circulation* 111, 782-790
- PSCHYREMBEL *Klinisches Wörterbuch* -259. Auflage- Verlag de Gruyter 2002, Berlin
- RADOMINSKA-PANDAYA, A.; CHEN, G.; CZERNIK, P.J.; LITTLE, J.M.; SAMOKYSZYN, V.M.; CARTER, C.A.; NOWAK, G (2000). Direct interaction of all-trans-retinoic acid with protein kinase C (PKC). Implications for PKC signaling and cancer therapy; *J. Biol. Chem.* 275, 22324-22330
- RAVISHANKAR, C.; NAFDAY, S.; GREEN, R.S.; KAMENIR, S.; LORBER, R.; STACEWICZ-SAPUNTZAKIS, M.; BRIDGES, N.D.; HOLZMAN, I.R.; GELB, B.D. (2003). A trial of vitamin A therapy to facilitate ductal closure in premature infants; *J. Pediatr.* 143, 644-648
- RAWSON, N.E.; LAMANTIA, A.S. (2006). Once and again: retinoic acid signaling in the developing and regenerating olfactory pathway; *J. Neurobiol.* 66, 653-676

- ROBINSON-RECHAVI, M.; ESCRIVA GARCIA, H.; LAUDET, V. (2003). The nuclear receptor super-family; *J. Cell. Sci.* 116, 585-586
- ROCHETTE-EGLY, C.; OULAD-ABDELGHANI, M.; STAUB, A.; PFISTER, V.; SCHEUER, I.; CHAMBON, P.; GAUB, M.P. (1995). Phosphorylation of the retinoic acid receptor-alpha by protein kinase A; *Mol. Endocrinol.* 9, 860-871
- ROMAND, P.; HASHINO, E.; DOLLE, P.; VONESCH, J.L.; CHAMBON, P.; GHYSELINCK, N.B. (2002). The retinoic acid receptors RAR α and RAR γ are required for inner ear development; *Mechanisms of Development* 119, 213–223
- ROMAND, R. (2003). The roles of retinoic acid during inner ear development; *Curr. Top. Dev. Biol.* 57, 261-291
- ROMAND, R.; DOLLE, P.; HASHINO, E. (2006). Retinoid signaling in inner ear development; *J. Neurobiol.* 66, 687-704
- RONNE, H.; OCKLIND, C.; WIMAN, K.; RASK, L.; OBRINK, B.; PETERSON, P.A. (1983). Ligand-dependent regulation of intracellular protein transport: effect of vitamin A on the secretion of the retinoid-binding protein; *J. Cell Biol.* 96, 907-910
- RONNE, H.; OCKLIND, C.; WIMAN, K.; RASK, L.; OBRINK, B.; PETERSON, P.A. (1983). Ligand-dependent regulation of intracellular protein transport: effect of vitamin A on the secretion of the retinoid-binding protein. *J. Cell. Biol.* 96, 907-910
- ROSEN, E.D.; SARRAF, P.; TROY, A.E.; BRADWIN, G.; MOORE, K.; MILSTONE, D.S.; SPIEGELMAN, B.M.; MORTENSEN, R.M. (1999). PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro; *Mol. Cell.* 4, 611–617
- ROSS, S.A.; MCCAFFERY, P.J.; DRAGER, U.C.; DELUCA, L.M. (2000). Retinoids in embryonal development; *Physiol Rev.* 80, 1021-1054
- RÜHL, R.; HÄNEL, A.; GARCIA, A.L.; DAHTEN, A.; HERZ, U.; SCHWEIGERT, F.J.; WORM, M. (2007). Role of the vitamin A elimination or supplementation diets during postnatal development on the allergic sensitisation in mice; *Mol. Nutr. Food Res.* 51, 1173-1181
- SAHIN, M.; KARAUZUM, S.B.; PERRY, G.; SMITH, M.A.; ALICIGUZEL, Y. (2005). Retinoic acid isomers protect hippocampal neurons from amyloid-beta induced neurodegeneration; *Neurotox. Res.* 7, 243-250
- SALUJA, I.; GRANNEMAN, J.G.; SKOFF, R.P. (2001). PPAR delta agonists stimulate oligodendrocyte differentiation in tissue culture; *Glia.* 33, 191-204
- SAMAD, T.A.; KREZEL, W.; CHAMBON, P.; BORRELLI, E. (1997). Regulation of dopaminergic pathways by retinoids: Activation of the D2 receptor promoter by members of the retinoic acid receptor retinoid X receptor family; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 14349-14354
- SCHAMBACH, F.; SCHUPP, M.; LAZAR, M.A.; REINER, S.L. (2007). Activation of retinoic acid receptor –alpha favours regulatory T cell induction at the expense of IL-17 secreting T helper cell differentiation; *Eur. J. Immunol.* 37, 2396-2399
- SCHUG, T.T.; BERRY, D.C.; SHAW, N.S.; TRAVIS, S.N.; NOY, N. (2007). Opposing Effects of Retinoic Acid on Cell Growth Result from Alternate Activation of Two Different Nuclear Receptors; *Cell* 129, 723–733
- SCHWARZ, E.J.; REGINATO, M.J.; SHAO, D.; KRAKOW, S.L.; LAZAR, M.A. (1997). Retinoic acid blocks adipogenesis by inhibiting C/EBPbeta-mediated transcription; *Mol. Cell. Biol.* 17, 1552-1561

- SCRIBNER, K.B.; ODOM, D.P.; MCGRANE, M.M. (2007). Nuclear receptor binding to the retinoic acid response elements of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene in vivo: effects of vitamin A deficiency; *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18, 206-214
- SEGUIN-DEVAUX, C.; DEVAUX, Y.; LATGERCANNARD, V.; GROSJEAN, S.; ROCHETTE-EGLY, C.; ZANNAD, F.; MEISTELMAN, C.; MERTES, P.M.; LONGROIS, D. (2002). Enhancement of the inducible NO synthase activation by retinoic acid is mimicked by RARalpha agonist in vivo; *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 283, 525-535
- SHAW, N.; MORTEN, E.; NOY, N. (2003). Retinoic Acid Is a High Affinity Selective Ligand for the Peroxisome Proliferator-activated Receptor β/δ^* ; *J. Biol. Chem.* 278, 41589-41592
- SHIBATA, H.; NAWAZ, Z.; TSAI, S.Y.; OMALLEY, B.W.; TSAI, M.J. (1997). Gene silencing by chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor I (COUP-TF I) is mediated by transcriptional corepressors, nuclear receptor-corepressor (N-CoR) and silencing mediator for retinoic acid receptor and thyroid hormone receptor (SMRT); *Mol. Endocrinol.* 11, 714-724
- SI, J.; COLLINS, S. (2002). IL-3-induced enhancement of retinoic acid receptor activity is mediated through Stat5, which physically associates with retinoic acid receptors in an IL-3-dependent manner; *Blood* 100, 4401-4409
- SINGH, B.; MURPHY, R.F.; DING, X.Z.; ROGINSKY, A.B.; BELL, R.H.; ADRIAN, T.E. (2007). On the role of transforming growth factor-beta in the growth inhibitory effects of retinoic acid in human pancreatic cancer cells; *Molecular Cancer* 6, 82
- SMITH, S.M.; HAYES, C.E. (1987). Contrasting impairments in IgM and IgG responses of vitamin A-deficient mice; *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 84, 5878-5882
- SOPRANO, D.R.; SOPRANO, K.J.; GOODMAN, D.S. (1986). Retinol-binding protein messenger RNA levels in the liver and in extrahepatic tissues of the rat; *J. Lipid Res.* 27, 166-171
- SPORN, M.B.; ROBERTS, A.B. (1985). What is a retinoid?; *Ciba. Found. Symp.* 113, 1-5
- SUBBARAYAN, V.; KASTNER, P.; MARK, M.; DIERICH, A.; GORRY, P.; CHAMBON, P. (1997). Limited specificity and large overlap of the functions of the mouse RAR gamma 1 and Rar gamma 2 isoforms. *Mech. Develop.* 66, 131-142
- SUCOV, H.M.; DYSON, E.; GUMERINGER, C.L.; PRICE, J.; CHIEN, K.R.; EVANS, R.M. (1994). RXR alpha mutant mice establish a genetic basis for vitamin A signalling in heart morphogenesis; *Genes Dev.* 8, 1007-1008
- SUCOV, H.M.; DYSON, E.; GUMERINGER, C.L.; PRICE, J.; CHIEN, K.R.; EVANS, R.M. (1994). RXR α mutant mice establish a genetic basis for vitamin A signalling in heart morphogenesis; *Genes Dev.* 8, 1007-1018
- SURGUA, K.; SUZUKI, R.; GODA, T.; TAKASE, S. (1995). Unsaturated fatty acids regulate gene expression of cellular retinol-binding protein, type II in rat jejunum; *J. Nutr.* 125, 2039-2044
- SZONDY, Z.; REICHERT, U.; FESÜS, L. (1998). Retinoic acids regulate apoptosis of T lymphocytes through an interplay between RAR and RXR receptors; *Cell Death Differ.* 5, 4-10
- TAKASE, S.; TANAKA, K.; SURUGA, K.; KITAGAWA, M.; IGARASHI, M.; GODA, T. (1998). Dietary fatty acids are possible key determinants of cellular retinol-binding protein II gene expression; *Am. J. Physiol.* 274, 626-632
- TAN, N.S.; MICHALIK, L.; NOY, N.; YASMIN, R.; PACOT, C.; HEIM, M.; FLÜHMANN, B.; DESVERGNE, B.; WAHLI, W. (2001). Critical roles of PPAR beta/delta in keratinocyte response to inflammation; *Genes Dev.* 15, 3263-3277

- TAN, N.S.; SHAW, N.S.; VINCKENBOSCH, N.; LIU, P.; YASMIN, R.; DESVERGNE, B.; WAHLI, W.; NOY, N. (2002). Selective cooperation between fatty acid binding proteins and peroxisome proliferator-activated receptors in regulating transcription; *Moll. Cell. Biol.* 22, 5114–5127
- THOMPSONHASKELL, G.; MAYNARD, T.M.; SHATZMILLER, R.A.; LAMANTIA, A.S. (2002). Retinoic acid signaling at sites of plasticity in the mature central nervous system; *J. Comp. Neurol.* 452, 228-241
- ULVEN, S.M.; GUNDERSEN, T.E.; SAKHI, A.K.; GLOVER, J.C.; BLOMHOFF, R. (2001). Quantitative axial profiles of retinoic acid in the embryonic mouse spinal cord: 9-cis retinoic acid only detected after all-trans-retinoic acid levels are super-elevated experimentally; *Dev. Dynam.* 222, 341–353
- URUNO, A.; SUGAWARA, A.; KANATSUKA, H.; KAGECHIKA, H.; SAITO, A.; SATO, K.; KUDO, M.; TAKEUCHI, K.; ITO, S. (2005). Upregulation of Nitric Oxide Production in Vascular Endothelial Cells by All trans Retinoic Acid Through the Phosphoinositide 3-Kinase/Akt Pathway; *Circulation* 112, 727-736
- URUNO, A.; SUGAWARA, A.; KUDO, M.; SATO, M.; SATO, K.; ITO, S.; TAKEUCHI, K. (2003). Transcription Suppression of Thromboxane Receptor Gene Expression by Retinoids in Vascular Smooth Muscle Cells; *Hypertens. Res.* 26, 815-821
- VALONE, F.H.; PAYAN, D.G. (1985). Potentiation of mitogen-induced human T-lymphocyte activation by retinoic acid; *Cancer Res.* 45, 4128-4131
- VANVLIET, T. (1996). Absorption of β -carotene and other carotenoids in humans and animal models; *Eur. J. Clin. Nutr.* 50, 32-37
- VANZANDWIJK, N.; DALESIO, O.; PASTORINO, U.; DEVRIES, N.; VANTINTEREN, H. (2000). EUROSCAN, a randomized trial of vitamin A and N-acetylcysteine in patients with head and neck cancer or lung cancer. For the European Organization for Research and Treatment of Head and Neck Cancer and Lung Cancer Cooperative Groups; *J. Natl. Cancer Inst.* 92, 977-986
- VERHEJEN, M.H.; WOLTHUIS, R.M.; BOS, J.L.; DEFIZE, L.H. (1999). The Ras/Erk pathway induces primitive endoderm but prevents parietal endoderm differentiation of F9 embryonal carcinoma cells; *J. Biol. Chem.* 274, 1487-1494
- VERMA, A.K.; CONRAD, E.A.; BOUTWELL, R.K. (1982). Differential effects of retinoic acid and 7,8-benzoflavone on the induction of mouse skin tumors by the complete carcinogenesis process and by the initiation-promotion regimen; *Cancer Res.* 42, 3519–3525
- VOGEL, S.; GAMBLE, M.V.; BLANER, W.S. (1999). Biosynthesis, Absorption, Metabolism and Transport of Retinoids in: *Retinoids. The Biochemical and Molecular Basis of Vitamin A and Retinoid Action* (Nau, H.; Blaner, W.S.; Eds.) Springer Verlag Berlin Heidelberg, Deutschland: S. 31-95
- WALD, N.; BOREHAM, J.; BAILEY, A. (1986). Serum retinol and subsequent risk of cancer; *Br. J. Cancer.* 54, 957-961
- WAN, Y.Y.; FLAVELL, R.A. (2007). ‘Yin–Yang’ functions of transforming growth factor- β and T regulatory cells in immune regulation; *Immunological Reviews* 220, 199–213
- WANG, H.J.; ZHU, Y.C.; YAO, T. (2002). Effects of all-trans retinoic acid on angiotensin II-induced myocyte hypertrophy; *J. Appl. Physiol.* 92, 2162-2168
- WANG, W.; BALLOW, M. (1993). The effects of retinoic acid on in vitro immunoglobulin synthesis by cord blood and adult peripheral blood mononuclear cells; *Cell. Immunol.* 148, 291-300

- WANG, X.; ALLEN, C.; BALLOW, M. (2007). Retinoic Acid Enhances Production of IL-10 While Reducing the Synthesis of IL-12 and TNF- α from LPS-Stimulated Monocytes/Macrophages; *J. Clin. Immunol.* 27, 193-200
- WEI, X.; MAKORI, N.; PETERSON, P.E.; HUMMLER, H.; HENDRICKX, A.G. (1999). Pathogenesis of retinoic-acid induced ear malformations in primate model; *Teratology* 60, 83-92
- WILLETT, W.C. (1994). Micronutrients and cancer risk; *Am. J. Clin. Nutr.* 59, 1162-1165
- WILLIAMS, D.L.; DAWSON, P.A.; NEWMAN, T.C.; RUDEL, L.L. (1985). Apolipoprotein E synthesis in peripheral tissues of nonhuman primates; *J. Biol. Chem.* 260, 2444-2451
- WILLIAMS, J.B.; NAPOLI, J.L. (1985). Metabolism of retinoic acid and retinol during differentiation of F9 embryonal carcinoma cells; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 4658-4662
- WILSON, J.G.; WARKANY, J. (1950). Cardiac and aortic arch anomalies in the offspring of vitamin A deficient rats correlated with similar human anomalies; *Pediatrics* 5, 708-725
- WILSON, T.E.; FAHRNER, T.J.; JOHNSTON, M.; MILBRANDT, J. (1991). Identification of the DNA binding site for NGFI-B by genetic selection in yeast. *Science* 252, 1296-1300
- WITCHER, M.; MILLER, W.H. (2004). Cytokines and retinoic acid therapy for APL: new tricks from an old combination; *Leuk. Res.* 28, 447-448
- WONG, C.W.; PRIVALSKY, M.L. (1998). Transcriptional silencing is defined by isoform- and heterodimer-specific interactions between nuclear hormone receptors and corepressors; *Mol. Cell. Biol.* 18, 5724-5733
- WU, Q.; LI, Y.; LIU, R.; AGADIR, A. LEE, M.O.; LIU, Y.; ZHANG, X.K. (1997). Modulation of retinoic acid sensitivity in lung cancer cells through dynamic balance of orphan receptors nur77 and COUP-TF and their heterodimerization; *The EMBO Journal* 16, 1656-1669
- WU, Q.; LI, Y.; LIU, R.; AGADIR, A.; LEE, M.O.; LIU, Y.; ZHANG, X.K. (1997). Modulation of retinoic acid sensitivity in lung cancer cells through dynamic balance of orphan receptors nur77 and COUP-TF and their heterodimerization; *EMBO J.* 16, 1656-1669
- WYSS, R.; BUCHELI, F. (1997). Determination of endogenous levels of 13-cis-retinoic acid (isotretinoin), all-trans-retinoic acid (tretinoin) and their 4-oxo metabolites in human and animal plasma by high-performance liquid chromatography with automated column switching and ultraviolet detection; *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 700, 31-47
- XU, H.E.; LAMBERT, M.H.; MONTANA, V.G.; PARKS, D.J.; BLANCHARD, S.G.; BROWN, P.J.; STERNBACH, D.D.; LEHMANN, J.M.; WISELY, G.B.; WILLSON, T.M.; KLIEWER, S.A.; MILBURN, M.V. (1999). Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors; *Mol. Cell* 3, 397-403
- XU, X.C. (2007). Tumor-suppressive activity of retinoic acid receptor- β in cancer; *Cancer Letters* 253, 14-24
- YAGI, J.; UCHIDA, T.; KURODA, K.; UCHIYAMA, T. (1997). Influence of retinoic acid on the differentiation pathway of T cells in the thymus; *Cell. Immunol.* 181, 153-162
- YANG, L.; KIM, H.T.; MUNOZMEDELLIN, D.; REDDY, P.; BROWN, P.H. (1997). Induction of retinoid resistance in breast cancer cells by overexpression of cJun; *Cancer Res.* 57, 4652-4661
- YANG, Q.; GRAHAM, T.E.; MODY, N.; PREITNER, F.; PERONI, O.D.; ZABOLOTNYY, J.M.; KOTANI, K.; QUADRO, L.; KAHN, B.B. (2005). Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes; *Nature* 436, 356-362

- YANG-YEN, H.F.; ZHANG, X.K.; GRAUPNER, G.; TZUKERMAN, M.; SAKAMOTO, B.; KARIN, M.; PFAHL, M. (1991). Antagonism between retinoic acid receptors and AP-1: implications for tumor promotion and inflammation; *New Biol.* 3, 1206-1219
- YEN, A.; ROBERSON, M.S.; VARVAYANIS, S.; LEE, A.T. (1998). Retinoic acid induced mitogen-activated protein (MAP)/extracellular signal-regulated kinase (ERK) kinase-dependent MAP kinase activation needed to elicit HL-60 cell differentiation and growth arrest; *Cancer Res.* 58, 3163-3172
- YEO, A.S.; SCHIFF, M.A.; MONTOYA, G.; MASUK, M.; VANASSELTKING, L.; BECKER, T.M. (2000). Serum micronutrients and cervical dysplasia in Southwestern American Indian women; *Nutr. Cancer* 38, 141-150
- YOKOYAMA, U.; SATO, Y.; AKAIKE, T.; ISHIDA, S.; SAWADA, J.; NAGAO, T.; QUAN, H.; JIN, M.; IWAMOTO, M.; YOKOTA, S.; ISHIKAWA, Y.; MINAMISAWAL, S. (2007). Maternal vitamin A alters gene profiles and structural maturation of the rat ductus arteriosus; *Physiol. Genomics* 31, 139-157
- YOST, R.W.; HARRISON, E.H.; ROSS, A.C. (1988). Esterification by rat liver microsomes of retinol bound to cellular retinol-binding protein; *J. Biol. Chem.* 263, 18 693-18 701
- YU, J.; PALMER, C.; ALENGHAT, T.; LI, Y.; KAO, G.; LAZAR, M.A. (2006). The corepressor silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptor facilitates cellular recovery from DNA double-strand breaks. *Cancer Res.* 66, 9316-9322
- YU, M.W.; HSIEH, H.H.; PAN, W.H.; YANG, C.S.; CHEN, C.J. (1995). Vegetable consumption, serum retinol level, and risk of hepatocellular carcinoma; *Cancer Res.* 55, 1301-1305
- ZANOTTI, G.; BERNI, R. (2004). Plasma retinol-binding protein: structure and interactions with retinol, retinoids, and transthyretin; *Vitam. Horm.* 69, 271-295
- ZHAO, Q.; TAO, J.; ZHU, Q.; JIA, P.M.; DOU, A.X.; LI, X.; CHENG, F.; WAXMAN, S.; CHEN, G.Q.; CHEN, S.J.; LANOTTE, M.; CHEN, Z.; TONG, J.H. (2004). Rapid induction of cAMP/PKA pathway during retinoic acid-induced acute promyelocytic leukemia cell differentiation; *Leukemia* 18, 285-292
- ZILE, M.H. (1998). Vitamin A and embryonic development: an overview; *J.Nutr.* 128, 455-458
- ZIOUZENKOVA, O.; ORASANU, G.; SHARLACH, M.; AKIYAMA, T.E.; BERGER, J.P.; VIERECK, J.; HAMILTON, J.A.; TANG, G.; DOLNIKOWSKI, G.G.; VOGEL, S.; DUESTER, G.; PLUTZKY, J. (2007). Retinaldehyde represses adipogenesis and diet-induced obesity; *Nat. Med.* 13, 695-702
- ZIOUZENKOVA, O.; PLUTZKY, J. (2004). Lipolytic PPAR activation: new insights into the intersection of triglycerides and inflammation? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 7, 369-375
- ZOU, F.; LIU, Y.; LIU, L.; WU, K.; WEI, W.; ZHU, Y.; WU, J. (2007). Retinoic acid activates human inducible nitric oxide synthase gene through binding of RARalpha/RXRalpha heterodimer to a novel retinoic acid response element in the promoter; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 355, 494-500

8 Lebenslauf

Zur Person

Name: Ulrike Keller
Geburtsdatum: 09.02.1983
Geburtsort: Graz
Nationalität: Österreich

Ausbildung

1989 bis 1993 VS Andritz - Prohaskagasse [Graz]
1994 bis 2001 BRG Körösisstrasse [Graz]
Juni 2001 Reifeprüfung im BRG Körösisstrasse [Graz]
seit Oktober 2001 Studium der Ernährungswissenschaften
an der Universität Wien
Sept 2005 bis Mai 2006 Auslandsjahr in Stockholm, Schweden
Absolvierung von Kursen des Master Programmes
„Applied PHN“ an der Unit for Preventive Nutrition,
Karolinska Institutet
12.Juni bis 14.Juli 2006 Teilnahme an der Summer School
„EU Basics in Public Health Nutrition“

Bisherige berufliche Tätigkeiten

Nov 2003 – Aug 2006 Mitarbeiterin im Aromenlabor, Firma Symrise in Wien
Feb 2006 - Mai 2006 Praktikum an der Unit for Preventive Nutrition,
Karolinska Institutet in Stockholm
Okt 2007 – Nov 2007 Praktikum beim forum. ernährung heute in Wien

9 Danksagung

Danken möchte ich Herrn Prof. Jürgen König für die Betreuung meiner Diplomarbeit und das große Interesse, das er der Thematik entgegengebracht hat.

Meinen Freunden und meiner Familie und hier besonders meiner Mama möchte ich für die mentale und finanzielle Unterstützung während meines Studiums danken.

Meine Studienkollegin und Freundin Frau Mag. Veronika Gspandl hat entscheidend zu meinem Studienerfolg beigetragen.

Meine schwedische Gastmama, die ich ohne mein Studium nie kennengelernt hätte, hat mir neue Horizonte eröffnet. Lillan, tack så jättemycket!