



EDITORIAL

Retinoides: conceptos generales y significado en fisiología renal

J. C. Sepúlveda, A. M. Morales, F. J. Lucio y V. Moreno

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá (Madrid).

LOS RETINOIDES

Los retinoides son reguladores clave de procesos como la visión, la proliferación celular, la diferenciación, la morfogénesis embrionaria y la reproducción¹. El término «retinoides» es una denominación genérica: abarca tanto moléculas de origen natural como compuestos sintéticos con efectos biológicos específicos análogos a los de la vitamina A (retinol)². Con excepción de la visión y de algunos aspectos de la fisiología de la reproducción, la bioactividad de la vitamina A puede explicarse en términos de uno de sus muchos metabolitos, el ácido retinoico todo-trans. Este retinoide, junto con el ácido 9-cis retinoico, su estereoisómero, funciona principalmente uniéndose a receptores nucleares específicos³. Fisiológicamente, el ácido retinoico todo-trans deriva —probablemente— de la oxidación intracelular del retinol plasmático, que ha sido absorbido desde el tracto gastrointestinal⁴. Isomerasas intracelulares pueden convertir entonces parte del ácido retinoico todo-trans en ácidos 9-cis, 11-cis o 13-cis retinoico⁵⁻⁷. Otros retinoides como el ácido 3,4-dihidroretinoico y el 14-hidroxi-4, 14-retro-retinol se sintetizan directamente a partir del retinol^{8,9}.

Los estereoisómeros ácido retinoico todo-trans y ácido 13-cis retinoico son constituyentes normales del suero humano¹⁰. El retinol se libera desde el hígado y se transporta en plasma unido a una proteína ligadora de retinol¹¹. En el transporte intracelular de los diferentes retinoides se han implicado otras proteínas citosólicas ligadoras de retinol o de ácido retinoico. A diferencia de los ésteres de la vitamina A, que se almacenan en el hígado, el ácido retinoi-

co no se almacena sino que se excreta con rapidez. Sus niveles normales en plasma son 1,50-3,0 µg/L (aproximadamente 1 nmol/L)¹², frente a 0,80-2,40 µg/L para el ácido 13-cis retinoico¹³. Cada célula parece producir su propia provisión de retinoides, que funcionan como mediadores autocrinos o paracrinos.

MECANISMO DE ACCION DE LOS RETINOIDES: RECEPTORES DE RETINOIDES

Aunque se asume que la vitamina A ingresa en las células por un mecanismo de endocitosis independiente de receptor, aún queda mucho por conocer acerca de los mecanismos exactos de las respuestas inducidas por retinoides (empezando por la transducción de señal en la membrana^{14,15}). Intracelularmente, los retinoides interaccionan con proteínas citosólicas¹⁶⁻¹⁹ y receptores nucleares²⁰⁻³⁰. Estos inducen la expresión de genes que comparten secuencias de DNA específicas que reconocen al complejo retinoide/receptor. En el caso del ácido retinoico todo-trans, dichas vías se han investigado exhaustivamente pero podrían no ser válidas para el resto de los retinoides.

Se han identificado dos clases distintas, conservadas evolutivamente, de receptores nucleares de retinoides: los receptores del ácido retinoico (RAR) y los receptores X para retinoides (RXR), miembros de la superfamilia de receptores para hormonas esteroideas/tiroideas. Ambos actúan como factores de transcripción dependientes de ligando que se unen a los promotores/enhancers de numerosos genes diana, provocando su estimulación o represión transcripcional³¹. Dentro de cada clase de receptor, existen tres subtipos: α , β y γ . Atendiendo a la homología con otros receptores nucleares de hormonas, las secuencias de los RARs y RXRs se dividen en seis diferentes regiones designadas A a F³²; el dominio E confiere las propiedades de unión a ligan-

Correspondencia: Dr. Francisco Javier de Lucio Cazaña
Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad de Alcalá
28871 Alcalá de Henares (Madrid)

do específicas para cada receptor³². Los dominios A y B, correspondientes a la región N-terminal, contienen una región de funcionamiento autónomo denominada AF-1 (activation function 1), que está implicada en la transactivación transcripcional *independiente de* ligando y que no está bien conservada entre receptores. El dominio C, altamente conservado, consta de dos elementos de unión al DNA (zinc, clase II). El dominio D (bisagra) está implicado en los cambios funcionales inducidos por ligando y en la unión de los receptores a los co-represores. Los dominios E y F, que están moderadamente conservados entre receptores, se cree que están implicados en la función de transactivación 2 (AF-2) y en la dimerización, siendo ambas funciones dependientes de la unión específica al ligando³³.

Los RARs pueden activarse tanto por ácido retinoico todo-trans como por ácido 9-cis retinoico³⁴. En contraste, los RXRs son activables exclusivamente por el ácido 9-cis retinoico, lo que refleja que su secuencia proteica está muy distantemente relacionada con las de los RARs. El ácido 9-cis retinoico es 40 veces más potente que el ácido retinoico todo-trans sobre los RXR α , y se une a la proteína RXR con afinidad nanomolar³⁵. No obstante, debido a la conversión espontánea del ácido retinoico todo-trans en ácido 9-cis retinoico, altas concentraciones de aquel (1 a 10 μ M) pueden también activar la transcripción génica en células transfectadas con RXRs^{28,30}. En contraste, el ácido 13-cis retinoico presenta baja afinidad para los RARs y ninguna para los RXRs. Es más, el 14-hidroxi-retro-retinol, que induce específicamente proliferación de linfocitos, no se une a receptores de retinoides ni los activa³⁶; por su parte, la acitreína (un retinoide sintético) activa los RARs, pero no se une a ellos³⁷. Estos controvertidos datos indican la existencia de vías desconocidas adicionales que utilizan los retinoides para ejercer su acción.

Recientemente se han localizado los genes que codifican para RAR α , RAR β y RAR γ humanos y se ha visto que se localizan, respectivamente, sobre los cromosomas 17q21.1, 3p24 and 12q13^{20,23,34}. La familia de los RXR humanos también consta de 3 miembros, RXR α , RXR β y RXR γ ; sus genes se localizan en los cromosomas 9q34.3, 6p21.3 y 1q22-23, respectivamente^{28,30}.

Se asume generalmente que los RARs heterodimerizan con los RXRs dentro de la célula^{29,36,38-40} en tanto que los RXRs también pueden formar homodímeros en presencia de su propio ligando, el ácido 9-cis retinoico¹⁴. Los heterodímeros de RAR/RXR y los homodímeros de RXR son trans-reguladores inducibles por ligando que modulan la transcripción de genes diana interaccionando con secuencias de

DNA específicas y con elementos de respuesta al ácido retinoico (RAREs)⁴¹. Los RARE y RXRE están formados por dos mitades, cada una de las cuales provee un sitio de unión para una de las moléculas dimerizadas del receptor. Cada una de las mitades es una secuencia conservada hexanucleotídica de DNA, 5'-PuG (G/T)TCA-3', y las dos forman repeticiones directas (DR) separadas por uno a cinco nucleótidos^{33,36}. Tanto la orientación relativa como el espaciado entre las mitades son importantes para el reconocimiento del receptor y para la subsecuente activación o represión de la expresión de genes diana⁴²⁻⁴⁵. Por ejemplo, en presencia de ligando, los heterodímeros RXR-RAR se unen y activan la transcripción de elementos de respuesta consistentes en dos repeticiones directas separadas por cinco nucleótidos (DR-5), mientras que heterodímeros RXR-RAR se unen (sin necesidad de activación por ligando) a repeticiones directas separadas solo por un nucleótido (DR-1) para producir represión constitutiva de la transcripción génica. En presencia de 9-cis RA, el homodímero RXR-RXR puede activar la transcripción génica sobre elementos de respuesta DR-1⁴⁶. La función de los retinoides viene también regulada por co-activadores y co-represores que distinguen entre las diferentes conformaciones —inducidas por la unión del ligando y por la dimerización— de los complejos dímero-DNA y, consecuentemente, modulan positiva o negativamente la expresión de genes diana para los receptores de retinoides^{33,47-49}. Merece la pena señalar aquí que muchos de los genes con elementos de respuesta para vitamina D también contienen elementos de respuesta (VDRE) con repeticiones de la secuencia AGGTCA espaciadas por tres nucleótidos (DR3)^{39,40}.

Se requiere una interacción finamente regulada entre los diferentes tipos de receptores nucleares de retinoides para que las hormonas ejerzan sus efectos específicos. Los RXRs funcionan como correguladores que potencian la unión de los receptores para el ácido retinoico todo-trans (RARs), la hormona tiroidea, la vitamina D y el proliferante peroxisómico a sus elementos de respuesta específicos^{40,50-52}. Además los RXRs también pueden formar heterodímeros con receptores huérfanos⁵³⁻⁵⁵. En definitiva, los RXRs funcionan como cofactores obligatorios y su nivel puede ser decisivo a la hora de determinar los efectos biológicos de otras hormonas. Por consiguiente, los RXRs pueden considerarse como reguladores centrales.

Los dímeros RXR-RAR pero o los RXR-RXR median la inhibición del crecimiento^{56,57}. Varios estudios han mostrado, por otra parte, que retinoides selectivos RAR suprimen el crecimiento tumoral o inducen diferenciación celular, mientras que los aná-

logos de RXR son menos efectivos⁵⁸⁻⁶⁰. Estos hallazgos sugieren que la vía RXR-RAR media los efectos de los retinoides sobre estos sistemas celulares, mientras que los RXR-RXR no tienen ese papel. Existen, no obstante, informaciones sobre el papel que juegan los retinoides selectivos para RXR en la inducción de ciertos genes, como el de la hormona del crecimiento en células hipofisarias⁶¹, la alfa-fetoproteína en hepatocitos⁶² y la colesterol 7alfa-hidroxilasa en células HepG2⁶³, algunos de los cuales podrían estar implicados en el control del crecimiento celular.

Tres interacciones entre los receptores de retinoides y sus genes diana revistan particular interés. Primero, un mecanismo de retroalimentación positiva posibilitado por la presencia de elementos de respuesta para retinoides en los tres genes RAR. Ello sugiere que la autoinducción de RAR en algunos tejidos podría amplificar los efectos de los retinoides³⁶. De hecho, ATRA y 9-cis RA inducen RAR β (mRNA y proteína) en células tumorales, un proceso conocido por ser mediado por la activación, vía heterodímeros RXR-RAR, de un RARE DR-5⁶⁴. Segundo, un mecanismo de retroalimentación negativa basado en los hallazgos en la línea F9: ésta es un teratocarcinoma de ratón en el que la sobre-expresión de CRABP-I (una de las proteínas celulares ligadoras de ácido retinoico) tras incubación con ácido retinoico provoca la reducción de la expresión de algunos de los genes que responden a este retinoide. Ello sugiere que las proteínas citosólicas ligadoras de retinoides pueden antagonizar la interacción de los retinoides con sus receptores nucleares⁶⁵. En tercer lugar, el antagonismo de los receptores de retinoides con el factor de transcripción AP-1 (un complejo proteico implicado en el crecimiento celular y la inflamación)¹⁴. Dicho antagonismo puede explicar, al menos en parte, la que es, quizá la más significativa propiedad de los retinoides: su capacidad para limitar el crecimiento celular, enlentecer la progresión de ciertas neoplasias y bloquear *in vivo* e *in vitro* la acción de promotores tumorales^{35, 66-69}. Hasta la fecha están descritos tres mecanismos básicos que explican el antagonismo de los receptores de retinoides con AP-1: inhibición de la unión de AP-1 al DNA⁷⁰, inhibición de la actividad de la dinasa N-terminal de Jun⁷¹ e inhibición de la inducción de la proteína Jun⁷².

Finalmente, hay que tener en cuenta que los retinoides también pueden actuar siguiendo mecanismos post-transcripcionales, tales como la inducción de factor de crecimiento transformante- β ⁷³. Estos mecanismos y los dependientes de AP-1 subrayan la importancia del «diálogo» entre los retinoides y otras vías de transducción de señal.

LOS RETINOIDES Y EL RIÑÓN

Receptores de retinoides

La acción neta de un retinoide sobre una célula dada depende de la composición en receptores para retinoides de dicha célula (existen importantes diferencias en la distribución tisular de estos receptores), así como de su estado metabólico y del momento concreto en que se encuentre dentro del ciclo de proliferación celular⁷⁴. Cada gen RAR α , β o γ puede generar múltiples isoformas bien mediante la utilización diferencial de dos promotores internos en cada gen RAR (este mecanismo es también el que se utiliza para generar las únicas isoformas conocidas de RXR: las RXR γ 1 y RXR γ 2 del ratón¹⁴) bien mediante empalme alternativo de exones o bien iniciando la traducción en un codón interno CUG^{14, 41}. Es más, la expresión tisular restringida de subtipos e isoformas de los diferentes RAR y RXR, tanto durante la embriogénesis como en el organismo adulto, sugiere que cada subtipo de RAR y RXR puede estar ejerciendo una función biológica única⁷⁵. Esta multiplicidad de receptores y de vías genéticas podría explicar la diversidad de efectos de los retinoides sobre un amplio abanico de procesos biológicos. Por consiguiente, la identificación del patrón de expresión de cada isoforma en un tejido dado es crítica para que entendamos completamente la relevancia fisiológica de los retinoides en ese tejido.

Las isoformas de los diferentes RAR difieren en la región aminoterminal⁷⁶⁻⁷⁹ que es, probablemente, la responsable de la especificidad de acción de cada isoforma. Análisis de la expresión de mRNA para RAR α en tejidos humanos y de ratón revelan que existen dos cadenas de mRNA diferentes, de 2.7 kilobases (kb) y 3.4 kb, que se expresan ubicuamente^{21, 80} aunque se han observado diferencias entre los niveles de expresión de las isoformas RAR α ₁ y RAR α ₂⁷⁷. La isoforma RAR α ₁ es más abundante en el riñón (así como en cerebro, piel, músculo y corazón) que la isoforma RAR α ₂⁷⁷. El gen RAR β genera múltiples transcritos (isoformas 1 a 4) que pueden encontrarse a gran escala en riñón^{24, 80}. El riñón contiene isoformas RAR β 2 y RAR β 4, que comparten el mismo promotor y que se expresan diferencialmente mediante empalme alternativo⁷⁹. No existe información sobre la expresión renal de las diferentes isoformas de RAR γ , exceptuando un reciente trabajo⁸¹ que describe un único mensaje de 3.4 kb en riñón de rata. Tampoco existen datos sobre los factores que modulen la expresión de estos receptores, excepción hecha de un trabajo⁸¹ que describe que la castración de la rata reduce la expresión renal de RAR α y RAR γ , recuperándose dicha expresión me-

diante la administración de testosterona, lo que sugiere que los andrógenos influyen sobre la expresión renal de RARs.

Merece la pena señalar que, pese a la presencia de isoformas de cada receptor RAR, la composición aminoacídica de las proteínas RAR se encuentra muy conservada (identidad > 95% y 85%, respectivamente, en los dominios de unión al DNA y al ligando) entre receptores homólogos de especies diferentes y entre los tres subtipos de RAR dentro de una misma especie¹⁴. El dominio de unión al DNA, concretamente, contiene dos «dedos de zinc» que confieren a la proteína su capacidad para reconocer secuencias específicas de DNA y activar genes diana¹⁴.

Repasemos ahora los conocimientos existentes sobre los receptores RXR renales. En primer lugar, debe señalarse que se ha demostrado recientemente la expresión de los tres subtipos, RXR α , β y γ ⁸², con predominio del primero, en túbulo proximales y distales pero no en glomérulos. La formación de estas tres proteínas depende de genes específicos, ya comentados anteriormente, que generan transcritos de 5.6 kb y 2.0 kb para los RXR α y γ , respectivamente, y dos transcritos de 2.7 kb y 3.0 kb para el receptor RXR β ^{28,30,35}.

Acciones renales de los retinoides

El riñón es una fuente particularmente rica de vitamina A y de sus proteínas ligadoras⁸³⁻⁸⁵. La vitamina A y sus metabolitos pueden inducir proliferación o inhibición del crecimiento de varios tipos de células renales como los fibroblastos renales, las células epiteliales tubulares, las células mesangiales glomerulares y las células tumorales procedentes de adenocarcinomas renales⁸⁶⁻⁹³. El ácido retinoico todo-trans regula la organogénesis renal promoviendo el crecimiento y diferenciación de metanefros (efecto también observado con retinol y ácido 9-cis retinoico), la formación de nefronas y el desarrollo de los uréteres⁹⁴ así como induciendo up-regulation de cotransportadores dependientes de sodio para aminoácidos e iones⁹⁵ y podría estar comprendido, junto con la propia vitamina A, entre los cofactores precisos para la tubulogénesis⁹⁶.

Debido a que las concentraciones séricas de vitamina A aumentan tras nefrectomía unilateral, se ha propuesto que la vitamina A y sus derivados podrían ser mediadores de la hipertrofia renal compensatoria⁸⁶. También se atribuye a los retinoides un posible papel en el proceso de reparación tubular, dado que en cultivos quiescentes de células epiteliales tubulares tanto el ácido retinoico todo-trans como el ácido 13-cis retinoico promueven la «curación» de

áreas desnudadas de células⁹⁷ estimulando la proliferación celular en dichas áreas.

La contribución de los retinoides a la cicatrización en el glomérulo tras procesos inflamatorios viene sugerida por la observación del efecto estimulante de la biosíntesis de colágeno⁹⁸ y de la expresión de colágeno IV (observaciones pendientes de publicación) en cultivos de células mesangiales. Otros efectos sobre células mesangiales que revisten interés en situaciones inflamatorias como las glomerulonefritis son la inhibición de la proliferación *in vitro*, asociada a la represión de la inducción de AP-1⁹², e *in vivo*, en modelos de glomerulonefritis mesangioproliferativa, mediante el aumento del inhibidor mitótico p27⁹⁹; la inhibición de la expresión de osteopontina¹⁰⁰, un quimiotáctico para monocitos y macrófagos implicado en la infiltración de estas células en modelos experimentales de glomerulonefritis¹⁰¹ y la estimulación de defensas antioxidantes que previene la muerte celular inducida por radicales libres¹⁰⁰. En presencia de tal variedad de efectos sobre las células mesangiales, no es sorprendente que existan pruebas de que estas células puedan ser, además, un almacén de vitamina A¹⁰².

El ácido 9-cis retinoico presenta algunas particularidades. Si bien reproduce algunos de los efectos renales del ácido retinoico todo-trans, ya que se une y activa a los RARs, no debe olvidarse que el ser ligado de los tres subtipos de RXR le confiere propiedades únicas. El ácido 9-cis retinoico se une y activa a los RARs a concentraciones fisiológicas ($K_d = 15$ nM)^{30,103}. Este hecho, unido a la presencia *in vivo* del ácido 9-cis retinoico, particularmente en riñón³⁴, sugiere que este retinoide es, en realidad, una hormona natural³⁴. Recientemente se han aportado datos muy interesantes que sugieren que una de las posibles funciones de este retinoide en el riñón sería la cooperación vía activación de los RXRs, en la activación de genes de respuesta a la vitamina D situados en las células tubulares proximales y distales⁸². Los RXRs activados también pueden actuar *in vivo* aumentando en cuestión de horas los niveles renales de mRNA para 25-hidroxi-vitamina D₃-24-hidroxilasa, una enzima clave en el catabolismo de la 1,25-dihidroxivitamina D₃¹⁰⁴, lo que refuerza el papel de los RXRs en la regulación de vías de señalización dependientes de vitamina D.

Pese a que los datos comentados en este apartado y en el anterior son muy interesantes, hay que admitir que el estudio del papel de los retinoides en la fisiología renal se encuentra prácticamente en sus albores. Por ello, actualmente no hay aplicaciones terapéuticas en desarrollo, exceptuando la terapia del carcinoma renal con ácido retinoico todo-trans

y, particularmente, con ácido 13-cis retinoico¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. La situación cambiará, sin duda, cuando exista un conocimiento más detallado de la intervención de los retinoides no sólo en la fisiología renal, sino también en modelos experimentales de patología renal. Por otra parte, el diseño de retinoides sintéticos con alta especificidad para receptores concretos permitirá reducir los efectos adversos asociados tradicionalmente al tratamiento con retinoides.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el FISS 97/0485. Victoria Moreno es becaria de Doctorado de la Comunidad de Madrid.

BIBLIOGRAFIA

1. Blomhoff R: Vitamin A in health and disease. New York, NY: Marcel Dekker, 1994.
2. Orfanos CE, Zouboulis CC, Almond-Roesler B, Geilen CC: Current use and future potential role of retinoids in Dermatology. *Drugs* 53: 358-388, 1997.
3. Evans RM: The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 240: 889-895, 1988.
4. Blomhoff R, Green MH, Green JB, Berg T, Norum RK: Vitamin A metabolism: new perspectives on absorption, transport and storage. *Physiol Rev* 71: 951-990, 1991.
5. Levin AA, Sturzenbecker LJ, Kazmer S: 9-cis retinoic acid stereoisomer binds and activates the nuclear receptor RXR α . *Nature* 355: 359-361, 1992.
6. Bernstein PS, Law WC, Rando RR: Isomerization of all-trans retinoids to 11-cis retinoids in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 1849-1853, 1987.
7. Frickel F: Chemistry and physical properties of retinoids. In: Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS (eds.). The retinoids vol 1. Orlando, Fla.: Academic Press, 8-145, 1984.
8. Thaller C, Eichele G: Isolation of 3,4-didehydroretinoic acid, a novel morphogenetic signal in the chick wing bud. *Nature* 345: 815-819, 1990.
9. Buck J, Derguini F, Levi E, Nakanishi K, Hammerling U: Intracellular signaling by 14-hydroxy-4, 14-retro-retinol. *Science* 254: 1654-1656, 1991.
10. Tang G, Russel RM: 13-cis-retinoic acid is an endogenous compound in human serum. *J Lipid Res* 31: 175-182, 1990.
11. Blaner WS: Retinol-binding protein: the serum transporter protein for vitamin A. *Endroc Rev* 10: 308-316, 1989.
12. Philips WEJ, Murray TK, Campbell JS: Serum vitamin A and carotenoids of Canadians. *Can Med Assoc J* 102: 1085-1086, 1970.
13. Matsuoka LY, Wortsman J, Tang G: Are endogenous retinoids involved in the pathogenesis of acne? *Arch Dermatol* 127: 1072-1072, 1991.
14. Giguere V: Retinoic acid receptors and cellular retinoid binding proteins: complex interplay in retinoid signaling. *Endocrine Rev* 15: 61-79, 1994.
15. Vieira AV, Scheneider W, Vieira PM: Retinoids: transport, metabolism and mechanisms of action. *J Endocrinol* 146: 201-207, 1995.
16. Ross AC: Cellular metabolism and activation of cellular retinoid-binding proteins. *FASEB J* 7: 317-327, 1993.
17. Ong DE, Chytil F: Cellular retinoic acid-binding protein from the rat testis. *J Biol Chem* 253: 4551-4554, 1978.
18. Giguere V, Lyn S, Yip P, Siu CH, Amin S: Molecular cloning of a cDNA encoding a second cellular retinoic acid-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6233-6237, 1990.
19. Astrom A, Tavakkol A, Pettersson U, Cromie M, Elder JT, Voorhees JJ: Molecular cloning of two human cellular retinoic acid binding proteins (CRABP). Retinoic acid-induced expression of CRABP-II but not CRABP-I in adult human skin in vivo and in skin fibroblasts in vitro. *J Biol Chem* 266: 17662-17666, 1991.
20. Petkovich M, Brand NJ, Krust A, Chambon P: A human retinoic acid receptor belongs to the family of nuclear receptors. *Nature* 330: 44-450, 1987.
21. Giguere V, Ong ES, Segui P, Evans RM: Identification of a receptor for the morphogen retinoic acid. *Nature* 330: 624-629, 1987.
22. De The H, Marchio A, Tiollais P, Dejean A: A novel steroid thyroid hormone receptor-related gene inappropriately expressed in human hepatocellular carcinoma. *Nature* 330: 667-670, 1987.
23. Brand N, Petkovich M, Krust A, Chambon P, de The H, Marcio A, Tiollais P: Identification of a second human retinoic acid receptor. *Nature* 332: 850-853, 1988.
24. Benbrook D, Lernhardt E, Pfahl M: A new retinoic acid receptor identified from a hepatocellular carcinoma. *Nature* 333: 669-672, 1988.
25. Hamada K, Gleason SL, Levi BL, Hirschfeld S, Appella E, Ozato K: H-2E11BP, a member of the nuclear hormone receptor superfamily that binds to both the regulatory element of major histocompatibility class I genes and estrogen response element. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 8289-8293, 1989.
26. Zelent A, Krust A, Petkovich M, Karstner P, Chambon P: Cloning of murine retinoic acid receptor α and β cDNAs and of a novel third receptor γ predominantly expressed in skin. *Nature* 339: 714-717, 1989.
27. Ishikawa T, Umeson K, Mangelsdorf DJ, Aburatani H, Stanger BZ, Shibasaki K, Imawari M, Evans RM, Takaku F: A functional retinoic acid receptor encoded by the gene on human chromosome 12. *Mol Endocrinol* 4: 837-844, 1992.
28. Mangelsdorf DJ, Ong ES, Dyck JA, Evans RM: Nuclear receptor that identifies a novel retinoic acid response pathway. *Nature* 345: 224-229, 1990.
29. Leid M, Kastner P, Lyons R, Nakashatri H, Saunders M, Zacharewski T, Chen J, Staub A, Garnier JM, Mader S, Chambon P: Purification, cloning and RXR identify of the HeLa cell factor with wich RAR or TR heterodimerizes to bind target sequences efficiently. *Cell* 68: 377-395, 1992.
30. Mangelsdorf DJ, Borgmeyer U, Heyman RA, Zhou JY, Ong ES, Oro AE, Kakizuka A, Evans RM: Characterization of three RXR genes that mediate the action of 9-cis retinoic acid. *Genes Dev* 6: 329-344, 1992.
31. Chytil F, Haq R: Vitamin A mediated gene expression. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1: 61-73, 1990.
32. Keidel S, Lamour FPY, Christian MA: Mutational analysis reveals that all-trans-retinoic acid, 9-cis-retinoic acid, and antagonist interact with distinct binding determinants of RAR-alpha. *J Biol Chem* 272: 18267-18272, 1997.
33. Chambon PA: A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* 10: 940-954, 1996.
34. Krust A, Kastner P, Petkovich M y cols.: A third human retinoic acid receptor, hRAR-gamma. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 5310-5314, 1989.

35. Heyman RA, Mangelsdorf DJ, Kyck JA, Stein RB, Eichele G, Evans RE, Thailer C: 9-cis retinoic acid is a high affinity ligand for the retinoid X receptor. *Cell* 66: 397-406, 1992.
36. Mangelsdorf DJ, Umesono K, Evans RM: The retinoid receptors. En: Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS (eds.): *The retinoids. Biology, chemistry and medicine*. New York: Raven Press, pp. 319-349, 1994.
37. Apfel C, Crettaz M, Siegenthaler G: Synthetic retinoids: differential binding to retinoic acid receptors. En: Saurat JH (ed.): *Retinoids 10 years on*. Karger: Basel, pp. 110-120, 1991.
38. Carlberg C, Bendik I, Wyss A, Meier E, Sturzenbecker LJ, Grippo JF, Hunziker W: Two nuclear signaling pathways for vitamin D. *Nature* 361: 657-660, 1993.
39. Whitfield GK, Hsieh JC, Jurutka PW, Seklznick SH, Haussler CA, MacDonald Pn, Haussler MR: Genomic action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Nutr* 125: 1690S-1694S, 1995.
40. Yu VC, Deslert C, Anderson B, Holloway JM, Devary OV, Naar AM, Kim SY, Boutin JM, Glass CK, Rosenfeld MG. RXR β : a coregulator that enhances binding of retinoic acid, thyroid hormone and vitamin D receptor to their cognate response elements. *Cell* 67: 1251-1266, 1991.
41. Leid M, Katner P, Chambon P: Multiplicity generates diversity in the retinoic acid pathway. *TIBS* 17: 427-433, 1992.
42. Naar AM, Boutin JM, Lipkin SM, Yu VC, Holloway JM, Glass CK, Rosenfeld MG: The orientation and spacing of core DNA-binding motifs dictate selective transcriptional responses to three nuclear receptors. *Cell* 65: 1267-1279, 1991.
43. Umesono K, Murakami KK, Thompson CC, Evans RM: Direct repeats as selective response elements for thyroid hormone, retinoic acid and vitamin D₃ receptors. *Cell* 65: 1255-1266, 1991.
44. Forman BM, Umesono K, Chen J, Evans RM: Unique response pathways are established by allosteric interactions among nuclear hormone receptors. *Cell* 81: 541-550, 1995.
45. Mader S, Leroy P, Chen JY, Chambon P: Multiple parameters control the selectivity of nuclear receptors for their response elements. Selectivity and promiscuity in response element recognition by retinoic acid receptors and retinoid X receptors. *J Biol Chem* 268: 591-600, 1993.
46. Zhang XK, Lehmann J, Hoffmann B, Dawson MI, Cameron J, Graupner G, Hermann T, Tran P, Pfahl M: Homodimer formation of retinoid X receptor induced by 9-cis retinoic acid. *Nature* 358: 587-591, 1992.
47. Kurokawa R, Soderstrom M, Horlein A, Halachmi S, Brown M, Rosenfeld MG, Glass CK: Polarity-specific activities of retinoic acid receptors determined by a co-repressor. *Nature* 377: 451-454, 1995.
48. Glass CK, Rose DW, Rosenfeld MG: Nuclear receptor co-activators. *Curr Opin Cell Biol* 9: 222-232, 1997.
49. Le Douarin B, Vom Baur E, Zechel C, Heery D, Heine M, Vivat V, Gronemeyer H, Losson R, Chambon P: Ligand-dependent interaction of nuclear receptors with potential transcriptional intermediary factors (mediators). *Phil Trans Royal Soc London Series B Biol Sci* 351: 569-578, 1996.
50. Zhang XK, Hoffman B, Tran PB, Graupner G, Pfahl M: Retinoid X receptor is an auxiliary protein for thyroid hormone and retinoic acid receptor. *Nature* 355: 441-446, 1992.
51. Kliewer SA, Umesono K, Mangelsdorf DJ, Evans RM: Retinoid X receptor interacts with nuclear receptors in retinoic acid, thyroid hormone and vitamin D₃. *Nature* 355: 446-449, 1992.
52. Kliewer SA, Umesono K, Noonan DJ, Heyman RA, Evans RM: Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signaling pathways through heterodimer formation of their receptors. *Nature* 358: 771-774, 1992.
53. Kliewer SA, Umesono K, Mangelsdorf DJ, Dyck JA, Evans RM: Retinoid X receptor-COUP-TF interactions modulate retinoic acid signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 1448-1452, 1992.
54. Willy PJ, Umesono K, Ong ES, Evans RM, Heyman RA, Mangelsdorf DJ. LXR, a nuclear receptor that defines a distinct retinoid response pathway. *Genes Dev* 9: 1033-1045, 1995.
55. Perlman T, Jansson L: A novel pathway for vitamin A signaling mediated by RXR heterodimerization with NGFI-B and NURR1. *Genes Dev* 9: 769-782, 1995.
56. Lotan R, Dawson MI, Zou CC, Jong L, Lotan D, Zou CP: Enhanced efficacy of combinations of retinoic acid- and retinoid X receptor-selective retinoids and alpha-interferon in inhibition of cervical carcinoma cell proliferation. *Cancer Res* 55: 232-236, 1995.
57. Roy B, Taneja R, Chambon P: Synergistic activation of retinoid acid (RA)-responsive genes and induction of embryonal carcinoma cell differentiation by an RA receptor alpha (RAR alpha)-, RAR beta-, or RAR gamma-selective ligand in combination with a retinoid X receptor-specific ligand. *Mol Cell Biol* 15: 6481-6487, 1995.
58. Sun SY, Yue P, Shroot B, Dawson MI, Lamph WW, Chandraratna R, Shudo K, Hong WK, Lotan R: Differential effects of synthetic nuclear receptor-selective retinoids on the growth of human non-small cell lung carcinoma cells. *Cancer Res* 57: 4931-4939, 1997.
59. Dawson MI, Elstner E, Kizaki M, Chen DL, Pakkala S, Kerner B, Koeffler HP: Myeloid differentiation mediated through retinoic acid receptor/retinoid X receptor (RXR) not RXR/RXR pathway. *Blood* 84: 446-452, 1994.
60. Gendimenico GJ, Stim TB, Corbo M, Janssen B, Mezick HA: A pleiotropic response is induced in F9 embryonal carcinoma cells and rhino mouse skin by all-trans-retinoic, a RAR agonist but not by SR11237, a RXR-selective agonist. *J Invest Dermatol* 102: 676-680, 1994.
61. Davis KD, Berrodin TJ, Stelmach Je, Winkler JD, Lazar MA: Endogenous retinoid X receptors can function as hormone receptors in pituitary cells. *Mol Cell Biol* 14: 7105-7110, 1994.
62. Li C, Locker J, Wan YJ: RXR-mediated regulation of the alpha-fetoprotein gene through and upstream element. *DNA Cell Biol* 15: 955-963, 1996.
63. Stroup D, Crestani M, Chiang JYL: Orphan receptors chicken ovoalbumin upstream promoter transcription factor II (Comp-TFII) and retinoid X receptor (RXR) activate and bind the rat cholesterol 7 alpha-hydroxylase gene (CYP7ZA). *J Biol Chem* 272: 9833-9839, 1997.
64. De The H, Vivanco-Ruiz MM, Tiollais P, Stunnenberg H, Dejean A: Functional characterization of a natural retinoic acid responsive element. *Nature* 343: 177-180, 1990.
65. Boylan JF, Goudas LJ: Overexpression of the cellular retinoic acid-binding protein-1 (CRABP-1) results in a reduction in differentiation-specific gene expression in F9 teratocarcinoma cells. *J Cell Biol* 112: 965-979, 1991.
66. Sporn MB, Roberts AB: Roles of retinoids in differentiation and carcinogenesis. *Cancer Res* 43: 3034-3040, 1983.
67. Yuspa SH, Lichti U, Hennings H: Modulation of terminal differentiation and responses in tumor promoters by retinoids in mouse epidermal cell cultures. *Ann NY Acad Sci* 359: 260-273, 1981.
68. Gendimenico GJ, Capetola RJ, Rosenthal ME, McGuire JL, Mezick JA: Retinoid modulation of phorbol ester effects in skin. En: Packer L (ed.): *Retinoids. Part B: Cell differentiation and clinical applications*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 346-352, 1989.
69. Leder A, Kuo A, Cardigg RD, Sinn E, Leder P: v-Ha-ras transgene abrogates the initiation step in mouse skin tumorigenesis: effects of phorbol esters and retinoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:9178-9182, 1990.
70. Salbert G, Fanjul A, Piedrafita FJ, Lu XP, Kim SJ, Tran P, Pfahl M: Retinoic acid receptors and retinoid X receptor-alpha down

- regulate the transforming growth factor- β_1 promoter by antagonizing AP-1 activity. *Mol Endocrinol* 7: 1347-1356, 1993.
71. Lee HY, Walsh GL, Dawson ML, Hong WK, Kurie JM: All-trans-retinoic acid inhibits Jun N-terminal kinase-dependent signaling pathways. *J Biol Chem* 273: 7066-7071, 1998.
 72. Fisher GJ, Talwar HS, Lin J, McPhillips F, Wang ZQ, Li X, Wan Y, Kang S, Voorhees JJ: Retinoic acid inhibits induction of c-Jun protein by ultraviolet radiation that occurs subsequent to activation of mitogen-activated protein kinase pathways in human skin in vivo. *J Clin Invest* 101; 1432-1440, 1998.
 73. Sporn MB, Roberts AB: Interactions of retinoids and transforming growth factor- β in regulation of cell differentiation and proliferation. *Mol Endocrinol* 5: 3-7, 1991.
 74. Miano JM, Topozoulis S, Majesky MW, Olson EN: Retinoid receptor expression and all-trans retinoic acid mediated growth inhibition in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 93: 1886-1895, 1996.
 75. Dolle P, Ruberte E, Leroy P, Morriss-Kay, Chambon P: Retinoic acid receptors and cellular binding proteins. A systematic study of their differential pattern of transcription during mouse organogenesis. *Development* 10: 1133-1151, 1990.
 76. Kastner P, Krust A, Mendelsohn C, Garnier JM, Zelent A, Leroy P, Staub A, Chambon P: Murine isoforms of retinoic acid receptor γ with specific patterns of expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 2700-2704, 1990.
 77. Leroy P, Krust A, Zelent A, Mendelsohn C, Garnier JM, Kastner P, Dierich A, Chambon P: Multiple isoforms of the mouse retinoic acid receptor α are generated by alternative splicing and differential induction by retinoic acid. *EMBO J* 10: 59-69, 1991.
 78. Zelent A, Mendelsohn C, Kastner P, Garnier JM, Ruffenach F, Leroy P, Chambon P: Differentially expressed isoforms of the mouse retinoid acid receptor β are generated by usage of two promoters and alternative splicing. *EMBO J* 10: 71-81, 1991.
 79. Nagpal S, Zelent A, Chambon P; RAR- β_4 a retinoic acid receptor isoform is generated from RAR- β_2 by alternative splicing and usage of a CUG initiator codon. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 2718-2722, 1992.
 80. De Thé H, Marchio A, Tiollais P, Dejean A: Differential expression and ligand regulation of retinoic acid receptor α and β genes. *EMBO J* 8: 429-433, 1989.
 81. Huang HFS, Li MT, Von Hagen S, Zhang YF, Irwin RJ: Androgen modulation of the messenger ribonucleic acid of retinoic acid receptors in the prostate, seminal vesicles and kidney in the rat. *Endocrinology* 138: 553-559, 1997.
 82. Sugawara A, Sanno N, Takahashi N, Osamura RY, Abe K: Retinoid X receptors in the kidney: their protein expression and functional significance. *Endocrinology* 138: 3175-3180, 1997.
 83. Ong DE, Crow JA, Chytil F: Radioimmunochemical determination of cellular retinol- and cellular retinoic acid binding proteins in cytosols of rat tissues. *J Biol Chem* 257: 13385-13389, 1982.
 84. Napoli JL, Race KR: Biogenesis of retinoic acid from beta-carotene. Differences between the metabolism of beta-carotene and retinol. *J Biol Chem* 263: 17372-17377, 1988.
 85. Bhat PV, Poissant L, Faladeau P, Lacroix A: Enzymatic oxidation of all-trans retinol to retinoic acid in rat tissues. *Biochem Cell Physiol* 66: 735-740, 1987.
 86. Argiles A, Mourad G, Basset N, Axelrad-Cavadore C, Haiech J, Mion C, Cavadore JC, Demaille JG: Acute adaptation changes to unilateral nephrectomy in humans. *Kidney Int* 32: 714-720, 1987.
 87. Jetten AM, Goldfarb RH: Action of epidermal growth factor and retinoids on anchorage-dependent and -independent growth of nontransformed kidney cells. *Cancer Res* 43: 2094-2099, 1983.
 88. Argiles A, Kraft N, Hutchinson P, Senes-Ferrari S, Atkins RC: Retinoic acid affects the cell cycle and increases total protein content in epithelial cells. *Kidney Int* 36: 954-959, 1989.
 89. Argiles A, Ootbaka T, Kabizaki Y, Kraft N, Atkins RC: Retinoic acid inhibits mesangial cell growth through a G protein dependent mechanism (abstract). *Kidney Int* 38: 551, 1990.
 90. Argiles A, Ootbaka T, Hill PA, Nikolic-Paterson DJ, Hutchinson P, Kraft N, Atkins RC: Regulation of human renal adenocarcinoma cell growth by retinoic acid and its interactions with epidermal growth factor. *Kidney Int* 45: 23-31, 1994.
 91. Suzuki M, Nakamura T, Skeda N, Hayashi T, Kawaguchi Y, Sakai O: Cloned cells develop renal cortical collecting tubules. *Nephron* 68: 118-124, 1994.
 92. Simonson MS: Anti-AP-1 activity of all-trans retinoic acid in glomerular mesangial cells. *Am J Physiol* 267: F805-F815, 1994.
 93. Lahaye DH, Camps MG, Erp PE, Peters PH, Zoelen E: Epidermal growth factor (EGF) receptor density controls mitogenic activation of normal rat kidney (NRK) cells by EGF. *J Cell Physiol* 174: 9-17, 1998.
 94. Vilar J, Gilbert T, Moreau E, Merlet-Benichou C: Metanephros organogenesis is highly stimulated by vitamin A derivatives in organ culture. *Kidney Int* 49: 1478-1487, 1996.
 95. Toledo FGS, Beers KW, Dousa TP: Pleiotropic upregulation of Na⁺-dependent cotransporters by retinoic acid in opossum kidney cells. *Am J Physiol* 273: F438-F444, 1997.
 96. Humes HD, Cieslinski DA: Interaction between growth factors and retinoic acid in the induction of kidney tubulogenesis. *Exp Cell Res* 201: 8-15, 1992.
 97. Anderson RJ, Ray CJ, Hattler BG: Retinoic acid regulation of renal tubular epithelial and vascular smooth muscle cell proliferation. *J Am Soc Nephrol* 9: 773-781, 1998.
 98. Haralson MA, DiMari SJ, Hoover RL, Harris RC: Epidermal growth factor suppresses collagen biosynthesis in retinoic acid-treated rat kidney mesangial cells (abstract). *Kidney Int* 37: 195, 1989.
 99. Walker H, Grande JP, Dousa TP: Effects of all-trans-retinoic acid upon anti-thy-1.1-glomerulonephritis (anti-thy-1.1-GN) in vivo and upon cultured mesangial cells (MC) in vitro (abstract). *J Am Soc Nephrol* 9: 417, 1998.
 100. Moreno Manzano V, Rodríguez Puyol M, Rodríguez Puyol D, Lucio Cazaña Fj: Tretinoin prevents age-related renal changes and stimulates antioxidant defenses in cultured renal mesangial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1999 (en prensa).
 101. Lan HY, Yu XQ, Yang N, Nikolic-Paterson DJ, Mu W, Pichler R, Johnson RJ, Atkins RJ: De novo glomerular osteopontin expression in rat crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 53: 136-145, 1998.
 102. Buer P, Wake K: Mesangial cells of the lamprey, *Lampetra japonica*, store vitamin A. *Arch Histol Cytol* 59: 71-78, 1996.
 103. Allenby G, Bocquel MT, Saunders M, Kazmer S, Speck J, Rosenberger M, Lovey A, Kastner P, Grippo JF, Chambon P, Levin AA: Retinoic acid receptors and retinoid X receptors: interactions with endogenous retinoic acids. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 30-34, 1993.
 104. Allegretto EA, Shevde N, Zou A, Howell SR, Boehm MF, Hollis BW, Pike JW: Retinoid X receptor acts as a hormone receptor in vivo to induce a key metabolic enzyme for 1,25 dihydroxyvitamin D₃. *J Biol Chem* 270: 23906-23909, 1995.
 105. Elsasser-Beile U, Kolble N, Grussenmeyer T, Wetterauer, Schultze-Seemann W: Correlation of clinical and immunological parameters of metastatic renal cell carcinoma patients undergoing therapy with interleukin 2, interferon-alpha and retinoic acid. *Anticancer Res* 18: 1883-1890, 1998.
 106. Stadler WM, Kuzel T, Dumas M, Vogelzang NJ: Multicenter phase II trial of interleukin-2, interferon-alpha, and 13-cis retinoic acid in patients with metastatic renal-cell carcinoma. *J Clin Oncol* 16: 1820-1825, 1998.
 107. Casali A, Sega FM, Casali M, Serrone L, Terzoli E: 13-cis retinoic acid and interferon-alpha-2 in the treatment of metastatic renal carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 17: 227-229, 1998.