

# Učinak retinoične kiseline na embrionalni razvoj sisavaca

---

Žalac, Sanja

Undergraduate thesis / Završni rad

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:670860>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO-MATEMETIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

**UČINAK RETINOIČNE KISELINE NA EMBRIONALNI**  
**RAZVOJ SISAVACA**

**IMPACT OF RETINOIC ACID ON EMBRYONIC**  
**DEVELOPMENT OF MAMMALS**

**SEMINARSKI RAD**

**Sanja Žalac**

**Prediplomski studij molekularne biologije**

**( Undergraduate study of molecular biology)**

**Mentor: prof. Dr. sc. Gordana Lacković Venturin**

Zagreb, 2009.

# SADRŽAJ

1.UVOD.....	3
2.HOX GENI I RETINOIČNA KISELINA.....	4
3.RA RECEPTORI.....	5
4.RAZVOJ UDOVA.....	8
5.UTJECAJ VANJSKOG RETINOIDA.....	10
6.MALFORMACIJE.....	11
7.LITERATURA.....	16
8.ZAKLJUČAK.....	18
9.SUMMARY.....	18

## 1.UVOD

Vitamin A i njegovi derivati, retinoidi, esencijalni su za embrionalni razvoj. Aktivni retinoidi su važne signalne molekule u regulaciji diferencijacije stanica, proliferaciji i morfogenezi. Retinoidi utječu na 3 procesa: rast udova, diferencijaciju i razvoj hrskavično-koštanih osnova, te specifičnu i programiranu smrt stanica ili apoptozu.

Retinoična kiselina je oksidirani oblik vitamina A. Nekoliko Hox gena ima receptore za retinoičnu kiselinu, preko kojih ona utječe na proces diferencijacije stanica, na rast i razvoj embrija. Postoje tri tipa nukleranih hormonskih za retinoičnu kiselinu u sisavaca:  $RAR\alpha$ ,  $RAR\beta$  i  $RAR\gamma$ , koji prevode signal retinoične kiseline tako što induciraju ili represiraju transkripciju određenih gena.

U razvoju udova sisavaca RA (retinoična kiselina) utječe na diferencijaciju mnogih staničnih linija, uključujući one mezenhimskih i kondrogenih organa. RA je važna u normalnoj ontogeniji udova, a u suvišku je važan teratogen, koji uzrokuje karakteristične nepravilnosti u normalnom razvoju udova u fazi vremenske i količinske ovisnosti.

## 2.HOX GENI I RETINOIČNA KISELINA

Anteriorno-posteriorna polarnost osnovice tijela određena je ekspresijom Hox gena (u neuralnoj cijevi, neuralnom grebenu, paraksijalnom mezodermu i površinskom ektodermu). Različite regije tijela karakterizirane su različitom koncentracijom ekspresije Hox gena. Analiza nekoliko Hox gena u različitim embrionalnim stadijima pokazuje da stanice počinju ekspresiju određenih Hox gena nakon što napuste primitivnu prugu. Nekoliko Hox gena ima na pojačivačima receptore za retinoičnu kiselinu. Egzogeni retinoična kiselina dodana mišjem embriju u maternici potiče određene Hox gene da se prepisuju u grupama stanica u kojima se u normalnim okolnostima ne bi prepisivali.

Različite koncentracije retinoične kiseline utječu na različitu ekspresiju Hox gena (Kessel i Gruss, 1991). Visoka doza retinoične kiseline može aktivirati Hox gene na neuobičajenim mjestima duž anteriorno-posteriorne osnove tijela. Kod miševa izloženih visokim dozama retinoične kiseline javljaju se malformacije duž tjelesne osnove.

Također je moguće da su bitnije kvalitativne od kvantitativnih promjena povezanih s RA. RA možda može modulirati ekspresiju Hox gena jedino kad postoje određene domene tokom gastrulacije. U već jako ekspresioniranim segmentima, to može biti bez morfološke posljedice. U slabo ekspresioniranim segmentima na mjestu anteriornih domena mogu se razvijati posteriornije domene.

Identitet vetebralnih segmenata određen je kombinacijom funkcionalno aktivnih Hox gena, „Hox kod“. RA može nizvodno regulirati nekoliko posteriornih Hox gena ili inhibirati njihovu aktivnost pri visokoj koncentraciji ili na duže vrijeme izloženosti (Izpisua-Belmonte, 1991).

Hox geni ne mogu biti inducirani izlaganjem RA u segmentima koji nisu otvoreni za transkripciju. Čini se da nakon gastrulacije RA može mijenjati ekspresiju Hox gena u ovim regijama samo na mjestima gdje je otvoren za transkripciju. Povećana količina Hox transkripcije može rezultirati gubitkom funkcije na graničnim domenama, dok se kod smanjene transkripcije očekuje efekt slučajnog gubitka funkcije.

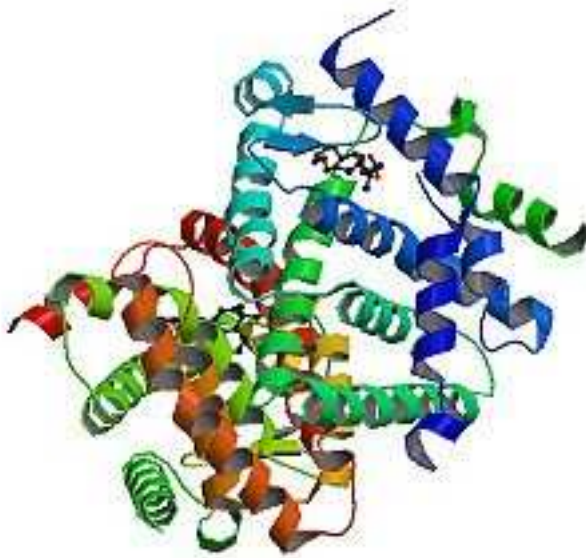
### 3.RA RECEPTORI

Poznate su 2 podfamilije nuklearnih retinoičnih receptora koje moduliraju aktivnost RA. To su RA receptori (RARs) i retinoid X receptori (RXRs), a obadva igraju ulogu ligand-ovisnih transkripcijskih faktora kroz formaciju heterodimernih veza za specifične RA rezpozive elemente (RAREs) (Linney, 1992; Giguere 1994). Svaki od njih se sastoji od 3 člana:  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ . Prevođe signale retinoične kiseline inducirajući ili represirajući transkripciju ciljanih gena. Njihova uloga nije još dokraja poznata. Nekoliko izoforma svakog postoji s različitom prostornom i vremenskom ekspresijom. Različiti efekti retinoida tokom normalnog razvoja određeni su s RAR i RXR heterodimerima načinjenim od različitih kombinacija njihovih izoforma (Chambon, 1994; Kastner i sur., 1997). Sve-trans i 9-cis RA se aktivno vežu na RAR, dok se samo 9-cis RA vežu na RXR s većim afinitetom. U mišjim udovima u razvoju, RAR-i su izraženi u različitim i somatski preklapajućim prostorno-vremenskim uzorcima

Svaki receptor ima određenu ulogu tokom razvoja i homeostaze.

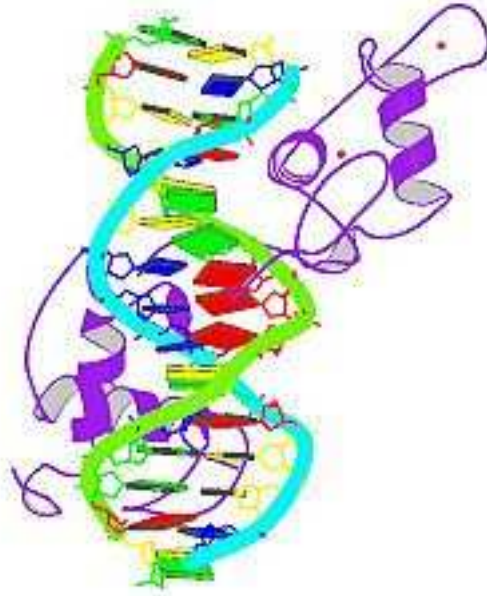
RAR receptori:

RAR $\alpha$  (slika 1.) ekspresija progresivno opada tokom kondrogeneze i postaje primarno lokalizirana na okružujući mezoderm i zonu između prstiju, gdje je relativno jako eksprimiran (Dolle i sur, 1989).



**Slika 1.** RAR $\alpha$ -receptor (Preuzeto iz <http://en.wikipedia.org>)

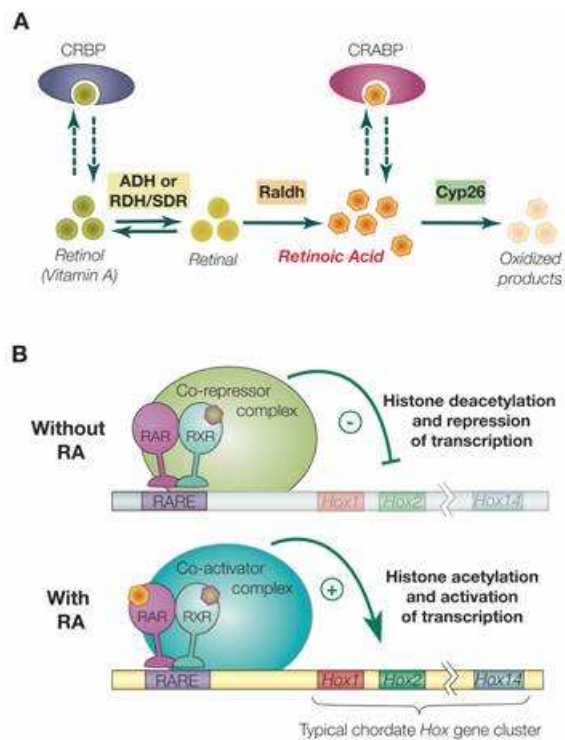
RAR $\beta$  (slika 2.) ekspresioniran je u proksimalnom mezenhimu rano tokom razvoja udova i kasnije u interdigitalnoj zoni te interiornoj, anteriornoj i posteriornoj nekrotičnoj zoni (Dolle, 1989; Mendelsohn i sur, 1991).



**Slika 2.** RAR $\beta$ -receptor (Preuzeto iz <http://en.wikipedia.org>)

RAR $\gamma$  lokaliziran u prehrskavičnoj nakupini i hraskavici

Da bi mogle odgovoriti na retinoide stanice (slika 3.) moraju imati nuklearne receptore, koaktivatore i određene proteine. Retinoidna mašinerija uključuje različite podtipove RAR-a i RXR-a koji su expresionirani u organogenezi, u prostorno određenom uzorku udova. Tretman i agonistima i antagonistima potiče apoptozu i inducira dismorfogenezu. Retinoični signali vode k promjeni fenotipa u različitim populacijama stanica udova ovisno o njihovom zahtjevu za retinoidima i o njihovoj osjetljivosti na apoptozu. Porast ili pad signala može se manifestirati u smrti visoko osjetljivih stanica ili promijeni uzorka u rezistentnijim područjima, kao što je npr. kora osnovice udova. Receptori retinoida funkcioniraju tako da represiraju ekspresiju gena u nedostatku liganda (Weston i sur, 2003).



**Slika 3.** Odgovor stanica na retinoide (Preuzeto iz [www.biolsci.org](http://www.biolsci.org))



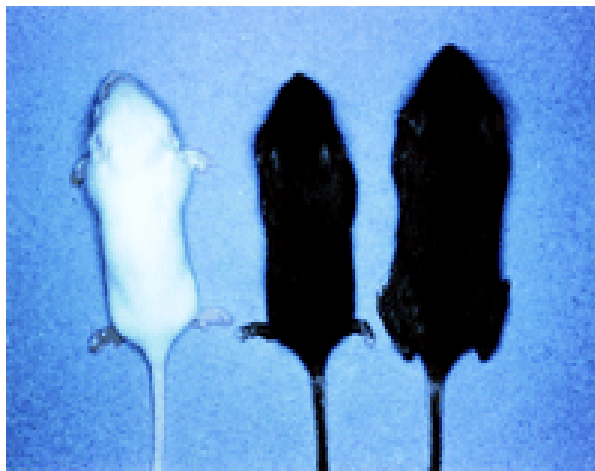
## 4.RAZVOJ UDOVA

Udovi se ne formiraju bilo gdje duž osnovice tijela. Postoje određena mjesta gdje nastaju udovi. Mezodermalne stanice od kojih nastaju udovi mogu biti identificirane sa: 1.micanjem određenih grupa stanica i promatranjem da se udovi neće razviti bez njihove prisutnosti. 2.transplatacijom grupa stanica na novo mjesto i promatranjem da će one stvoriti udove na novom mjestu. 3.markiranjem grupa stanica radioaktivnim prekursorom i promatranjem da će one sudjelovati u razvoju udova.

Čini se da je retinoična kiselina kritična molekula za inicijaciju rasta začetaka udova. Blokiranje sinteze retinoične kiseline različitim tvarima sprečava inicijaciju začetaka udova. Gradijent retinoične kiseline kroz antero-posteriornu osnovicu može aktivirati određene homeotične gene u određenim stanicama i odrediti ih da sudjeluju u razvoju udova. Izvor retinoične kiseline je vjerojatno Henseov čvor.

Ako životinje koje mogu regenerirati svoje udove tretiramo dovoljno dugo i s dovoljno velikom koncentracijom retinoične kiseline, to može rezultirati razvojem totalno novog uda.

Prevelika ekspresija transgena povezana je s pre- i postaxialnim defektom udova, pogotovo stražnjih udova, gdje je ekspresija transgena stalno prisutna kroz čitavu antero-posteriornu osnovu. Mnoge kongenitalne malformacije udova povezane su s visokim dozama RA (slika 4.) (Kochhar, D.M., 1973. Teratology. 7:289-295)



**Slika 4.** Malformacije udova kod miševa tretiranih s RA

(Preuzeto iz Cash i sur., 1997)

RA je važna signalna molekula uključena u regulaciju rasta tokom embrionalnog razvoja i diferencijacija stanica. U razvoju udova sisavaca RA utječe na diferencijaciju mnogih staničnih linija, uključujući one mezenhimskih i kondrogeničnih začetaka (Solursh i Meier, 1973; Lewis i sur., 1978; Zimmerman i Tsambos, 1985). RA je važna u normalnoj ontogeniji udova, a u suvišku je jak teratogen, koji uzrokuje jake perturbacije normalnog razvoja udova na stadij i doza ovisan način (Shenefelt, 1972; Kochhar, 1973; Kwasigroch i Kochhar, 1980). Vrijeme tretmana s RA i rezultirane deformacije udova čini se da su povezane s vremenom mezenhimske kondenzacije i diferencijacije u kondrocite (Kwasigroch i Kohhar, 1980). Tretman s RA u ranijim stadijima ima ograničene efekte koji su najprije ograničeni na prste i imaju utjecaja na promjene u apikalnoj ektodermalnoj pruzi i povezano je s mezodermom. U kasnijim stadijima tretman RA ima mali ili nikakav utjecaj na uzorak udova i na razvoj. Povezana s ulogom u mezenhimskom rastu i diferencijaciji, RA ima dramatičane efekte na kondrogenezu mezenhima udova in vitro i in vivo. Većina ovih promjena proizlazi iz promjene u transkripciji gena određene, djelomično, nuklearnim hormonskim receptorima za RA. (Cash i sur., 1997)

## 5. UTJEJ VANJSKOG RETINOIDA

Retinoidi dramatično utječu na morfologiju udova.

Dodavanjam 1.25 mikroM retinola rast udova se reducira i promijeni se kondrogeneza. Radijus i ulna su skraćeni, metakarpalne kosti su produžene i plosnate, neki elementi hrskavice su fuzionirani ili pokazuju bolesno definirane krajeve (Ali-Khan i Hales, 2006).

Dodavanjam 62.5 mikroM retinola izaziva se gotovo kompletna inhibicija kondrogeneze i rasta udova (Ali-Khan i Hales, 2006).

Specifični antagonisti ciljaju na određene članove RAR i RXR receptora oslabljujući retinoični signal u srednjoj organogenezi začetaka mišjih udova, porast apoptoze i uzrokuju malformaciju udova. Antagonisti retinoida će nizvodno regulirati apoptozu. Normalna količina bioaktivnih retinoida neophodna je za normalan razvoj udova i indukciju apoptoze.

Izlaganjem retinoidima, BMS 453 i HX603, dovodi do kvalitativnih razlika u abnormalnosti fenotipa. Ovi različiti uzorci mogu biti djelomično zbog funkcionalnog afiniteta svakog liganda za različite RAR i RXR receptorske podtipove i izoforme, dovodeći do kvalitativnih i kvantitativnih razlika u ekspresiji gena i apoptoze. Selektivni RAR-antagonisti, HX603, induciraju apoptozu i malformacije udova (Ali-Khan i Hales, 2006).

## 6.MALFORMACIJE

U viših vertebrata formacija osnovice tijela odvija se u kraniokaudalnom smjeru tokom gastrulacije. Dokazi iz stanične biologije sugeriraju da su formacija mezoderma i specifikacija osnovice tijela procesi koji se događaju simultano. Ako embrio u gastrulaciji izložimo retinoičnoj kiselini događaju se promjene na osnovici tijela, anteriorne i posteriorne homeotične transformacije kralježnice. Ove morfološke promjene praćene su promjenama u različitim, nepreklapajućim domenama Hox gena (Kessel 1992).

Raširenost transformacija duž kralježnice ukazuje na utjecaj retinoične kiseline na migraciju sklerotomnih stanica prije njihove finalne fiksacije u hrskavicu kralježnice. Mezodermalni segmenti određuju se tokom gastrulacije, i mogu biti respecificirani u sekundarnoj migratornoj fazi, s efektom širenja po drugi put u kraniokaudalnom smjeru.

Analize značajki kralježnice u miša pokazuju da izloženost tokom specifikacije prednjeg dijela osnovice tijela vodi k posteriornoj homeotičkoj promjeni kralježnice čitavom njenom dužinom (slika 5.) (Kessel i Gruss, 1991). Transformacije uključuju formaciju proatlasa na kranio-cervikalnom prijelazu, formaciju rebara na C7 i promjena na sakralnoj kosti. Izloženost RA tokom formacije posteriorne osnovice tijela vodi k anteriorno-homeotičkoj transformaciji, što vodi k nastanku većeg broja rebara i kaudalnih promjena na sakralnoj kosti.

Pokus:

RA je ubačena u trudnog miša u različitim stadijima gestacije oralnim putem (Kessel 1992). RA ima kratki poluživot in vivo. Embriji su izloženi RA na kratko vrijeme, ovisno o količini dane RA. Anteriorna transformacija kralježnice dobiva morfološke karakteristike anterijornijeg dijela kralježnice. Specifične anteriorne transformacije: nastanak 8. ili 9. kralješčanog rebra, nastanak rebara na 21. ili 22. kralješku, transformacije sakralne u lumbalnu regiju, transformacija kaudalne u sakralnu regiju. Posteriorne transformacije: propagacija tuberkula anteriorno na C5, cervikalna rebra ili intenzivna osifikacija na C7, transformacija zadnjeg lumbalnog kralješka i transformacija zadnjeg sakralnog kralješka u kaudalni.

Izloženost RA u 8. danu:

Preživjele jedinice pokazuju mnogobrojne deformacije kostura. Najuočljivije su kranijalne malformacije i deformacije čitave kaudalne polovice tijela. Tipične abnormalnosti lubanje bile su fuzija sfenoidne i occipitalne kosti, cervikalna regija kralježnice bila je uvijek dobro razvijena.

U 63% životinja 8. ili 9. rebro bili su pričvršćeni za sternum, za razliku od normalnih 7. kralješćani centar pomaknut je posteriorno prema T6 ili T7, posteriorni torakalni kralješci su okenuti naopačke, a neuralni lukovi većine posteriornih kralježaka nisu zatvoreni. Posteriorna rebra su fuzionirana, degenerirana. Lumbalni, sakralni ili kaudalni kralješci nisu formirani. Rep nastaje samo kao izraslina, a ne kao nastavak kralježnice. Stražnji udovi i koža nedostaju ili postoje, ali nemaju kontakta s kralježnicom. Nastanak stražnjih udova zahtjeva postojanje paraksijalnog mezoderma i somatopleura.

Izloženost RA u 9. danu:

- Nedostatak posteriorne lumbalne i kaudalne regije. Nema defekata kranijalnih struktura.

Izloženost RA u 10,5. danu:

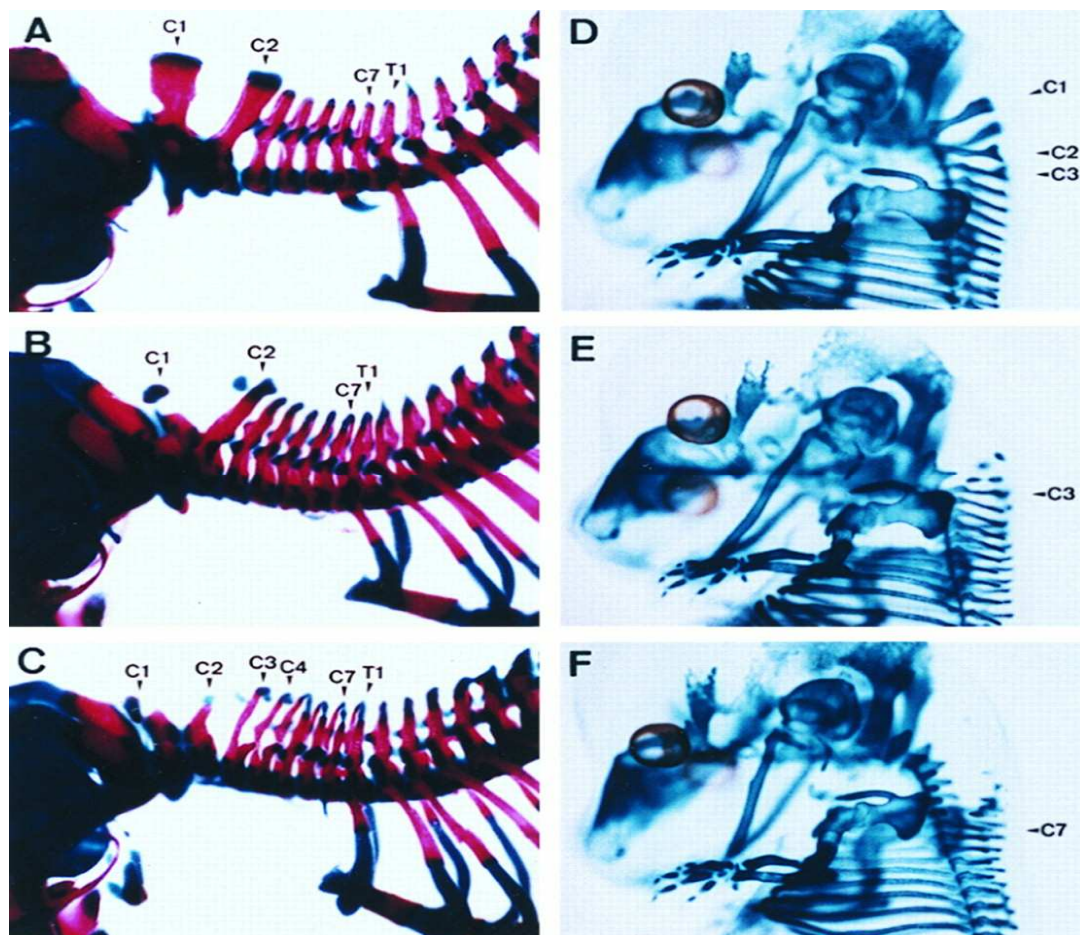
- Razvoj i osifikacija lubanje su normalni. Nekoliko promjena se javlja u anteriornoj polovici kralježnice.

Izloženost RA u 11. danu:

- Posteriorna transformacija C5, promjene u anteriornom tuberkulumu, osifikacija kralježaka na C7.

Izloženost RA u 11,5. danu:

- 14 rebara, cervikalna rebra u 33% jedinki. Ponekad se javlja i 15. rebro ali ono nikad ne dostiže dužinu 15. rebra kao kod jedinki izloženih RA u 8,5 danu.



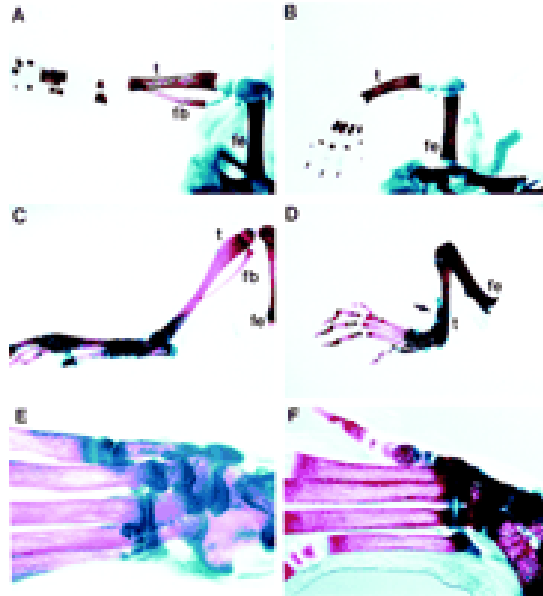
**Slika 5.** Primjeri kralježnica životinja izloženih visokim dozama RA na kraju i nakon gastrulacije dramatično se razlikuju od divlje-normlnog tipa kralježnice  
(Preuzeto iz [www.biolsci.org](http://www.biolsci.org))

Raširenost nepravilnosti duž kralježnice sugeriraju 2 temporalna događaja u koja se događaju u kraniokaudalnom smjeru.

1. izloženost tokom gastrulacije (7. i 8. dan) rezultira promjenama na dužini kralježnice, počinje progresivno, više kaudalno što se je izloženost RA dogodila kasnije. Smjer transformacije ovisan je o više anteriornim transformacijama, koje određuju da sljedeće transformacije budu isključivo posteriorno ili anteriorno.

2. izloženost tokom pre-vertebralne formacije (10.-11. dan) vodi do transformacija koje zahvaćaju prvi cervikalni, a kasnije i više kaudalne regije kralježnice. U ovoj fazi u jednoj jedinki se događaju i posteriorne i anteriorne transformacije (Kessel 1992).

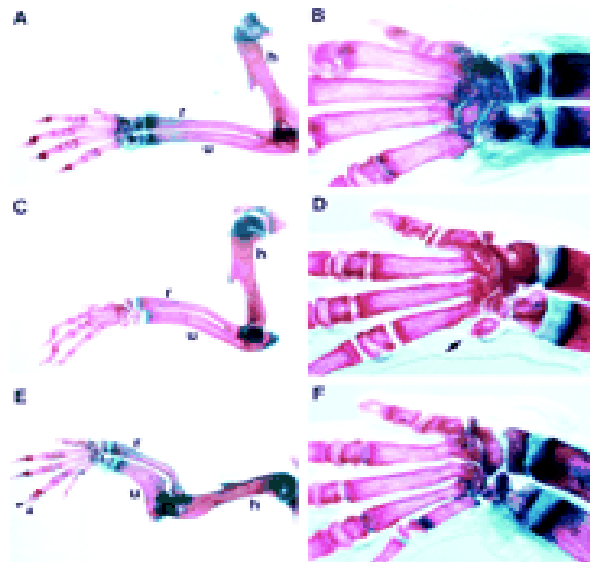
Malformacije prednjih udova ograničene su na polje transgene ekspresije koja uključuje ulnu, ulno-karpalnu kost te njihove zglobne kosti. Sve transgene životinje imaju deformiranu ulnu, dramatično je proširena i skraćena. Radius i humerus su srednje pogođeni. Radius je uvijek duži od ulne. Malformacije "ručnog" zgloba (slika 6.): redukcija veličine ulno-karpalne i 4. karpalne kosti s gubitkom 4. karpalne-5. metakarpalne zglobne površine, graškasta kost ponekad nije prisutna ili je smanjena, većina metakarpalnih kostiju je smanjena, javlja se duplikacija 4. distalnog prsta. (David E. Cash)



**Slika 6.** Malformacije prednjih udova

(Preuzeto iz Cash, 1997)

Malformacije stražnjih udova (slika 7.), fibula je defektna: kompletan nedostatak ili zadebljanje dijela fibule proximalno, tibia je samo na rubovima zahvaćena deformacijama, petna kost je manje veličine položena lateralnije od fibule te nema zglobne površine za 5 metatarzalnu kost, 5 proksimalni i medijalni prsti nedostaju, ali distalni prsti su prisutni. Čini se da se kod zanjih udova javlja restrikcija posteriorne polovice uda, utječe na distalne duge kosti i proksimalne kosti stopala. (david e cash)



**Slika 7.** Malformacije stražnjih udova

(preuzeto iz Cash, 1997)

Izlaganjem mišjih udova vitaminu A (retinol) nastaje defekt udova i apoptoza. Bioaktivni retinoidi tokom srednje organogeneze vode k redukciji defekata udova za razliku od manjka retinoida: segmentacija i delecija dugih kostiju i delecija i fuzija prstiju (Kochhar 1973, 1985). Razvoj udova uključuje: vanjski rast udova, diferencijaciju koštane hrskavice udova, selektivne delecije specifičnih stanica programiranom staničnom smrti ili apoptozom. Retinoidi utječu na sva 3 ova procesa. Apoptoza osnove udova miša započinje kad je embrio star 10,5 dana i s vrhuncem u 14,5. Danu (Zakeri i Ahuja, 1997), a najjače se uočava interdigitalno, u anteriornoj i posteriornoj marginalnoj zonama i u apikalnoj ektodermalnoj pruzi. Pecizna prostorna kontrola vraćanja i lokalizacije apoptoze tokom razvoja važna je za normalnu morfogenezu. Izlaganje embrija velikim dozama retinola tokom srednje organogeneze podudara se s indukcijom malformacije udova, također izaziva nenormalnu apoptozu.



## 7.LITERATURA

Ali-Khan, S.E., i Hales, B.F. (2006). Retinoid receptor antagonists alter the pattern of apoptosis in organogenesis stage mouse limbs. *Toxic. Sc.* **90(1)**: 208-220.

Cash, D.E., Bock, C.B., Schughart, K., Linney, E., i Underhill, T.M.. (1997). Retinoic acid receptor  $\alpha$  function in vertebrate limb skeletogenesis: a modulator of chondrogenesis. *J. Cell Biol.* **136**: 445-457.

Chambon, P. (1994). The retinoid signaling pathway: Molecular and genetic analyses. *Semin. Cell Biol.* **5**, 115-125.

Dolle, P., J.-C. Izpisua-Belmonte, H. Falkenstein, A. Renucci, i D. Duboule. 1989a. Coordinate expression of the murine Hox-5 complex homeobox-containing genes during limb pattern formation. *Nature (Lond.)*. **342**: 767-772

Giguere, V.. 1994. Retinoic acid receptors and cellular retinoid binding proteins: complex interplay in retinoid signaling. *Endo. Rev.* **15**: 61-79

Gilbert, S.F. (2003). *Developmental Biology. Development of the tetrapod limb.* Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts, pp. 523-541.

Izpisua-Belmonte, J.-C., Tickle, C., Dolle, P., Wolpert, L. i Duboule, D. (1991). Expression of the homeobox Hox-4 genes and the specification of position in chick wing development. *Nature* **350**, 585-589.

Kastner, P., Mark, M., Ghyselinck, N., Krezel, W., Dupe, V., Grondona, J. M., i Chambon, P. (1997). Genetic evidence that the retinoid signal is transduced by heterodimeric RXR/RAR functional units during mouse development. *Development* **124**, 313-326.

Kessel, M. (1992). Respecification of vertebral identities by retinoic acid. *Development* **115**: 487-501.

Kessel, M. i Gruss, P. (1991). Homeotic transformations of murine vertebrae and concomitant alteration of Hox codes induced by retinoic acid. *Cell* **67**, 89-104.

Kochhar, D.M.. 1973. Limb development in mouse embryos. I. Analysis of teratogenic effects of retinoic acid. *Teratology*. **7**: 289-295.

Kochhar, D. M. (1985). Skeletal morphogenesis: Comparative effects of a mutant gene and a teratogen. *Prog. Clin. Biol. Res.* **171**, 267-281.

Kwasigroch, T.E., i D.M. Kochhar. 1980. Production of congenital limb defects with retinoic acid: phenomenological evidence of progressive differentiation during limb morphogenesis. *Anat. Embryol.* **161**: 105-113

Lewis, C.A., R.M. Pratt, J.P. Pennypacker, i J.R. Hassell. 1978. Inhibition of limb chondrogenesis in vitro by vitamin A. *Dev. Biol.* **64**: 31-47

Linney, E. 1992. Retinoic acid receptors: transcription factors modulating gene regulation, development and differentiation. In *Current Topics in Developmental Biology*. R.A. Pedersen, editor. Academic Press, San Diego. 309-350.

Mendelsohn, C., E. Ruberte, M. LeMeur, G. Morriss-Kay, i P. Chambon. 1991. Developmental analysis of the retinoic acid-inducible RAR- $\beta$ 2 promoter in transgenic animals. *Developmental (Camb.)*. **113**: 723-734

Shenefelt, R.E.. 1972. Morphogenesis of malformations in hamsters caused by retinoic acid: relation to dose and stage at treatment. *Teratology*. **5**: 103-118

Solursh, M., i S. Meier. 1973. The selective inhibition of mucopolysaccharide synthesis by vitamin A treatment of cultured chick embryo chondrocytes. *Calcif. Tissue Res.* **13**: 131-142

Weston, A.D. Blumberg, B., i Underhill, T.M. (2003). Active repression by un liganded retinoid receptors in development: Less is sometimes more. *J. Cell Biol.* **161**, 223-228.

Zimmerman, B., i D. Tsambos. 1985. Evaluation of the sensitive step of inhibition of chondrogenesis by retinoids in limb mesenchymal cells in vitro. *Cell Diff.* **17**: 95-103

[http://en.wikipedia.org/wiki/Files:PBB\\_Protein\\_RARA\\_image.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/Files:PBB_Protein_RARA_image.jpg)

[http://en.wikipedia.org/wiki/Files:PBB\\_protein\\_RARB\\_image.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/Files:PBB_protein_RARB_image.jpg)

[www.absoluteastronomy.com/topics/Retinol](http://www.absoluteastronomy.com/topics/Retinol)

[www.biolsci.org/v02/p0038/ijbsv02p0038g02.jpg](http://www.biolsci.org/v02/p0038/ijbsv02p0038g02.jpg)

## **8.ZAKLJUČAK**

Normalna morfogeneza embrija kralježnjaka je pod velikim utjecajem vanjskih doza retinoične kiseline. Uobičajeno, dovodi do kraniofacijalnih abnormalnosti i defekata srca te do deformacije udova. RA interferira s specifikacijom osnovice ektoderma i mezoderma tokom gastrulacije. Udovi u razvoju osjetljivi su i na manjak i na višak RA. Genetičke i biokemijske manipulacije pokazuju da su retinoidi neophodni za razvoj udova vertebrata u dva stadija: u ranoj organogenezi za začetak razvoja prednjih udova, te u srednjoj organogenezi za rast udova.

## **9.SUMMARY**

Normal morphogenesis of vertebrate embryos is severely affected by externally doses of retinoic acid. Typically it leads to craniofacial abnormalities and heart defects and to limb deformities. Limbs in development are sensitive to deficiency and excess of RA. Genetic and biochemical manipulations indicate that retinoids are crucial for vertebrate limb development at two stages, in early organogenesis for forelimb bud initiation, and later in mid-organogenesis, for proper limb outgrowth.

