LUANA DE MENDONÇA OLIVEIRA

**Efeito da suplementação materna com ácido retinoico durante a
amamentação no sistema imunológico da prole de camundongos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Imunologia do Instituto de
Ciências Biomédicas da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Doutor
em Ciências

São Paulo
2018

LUANA DE MENDONÇA OLIVEIRA

**Efeito da suplementação materna com ácido retinoico durante a
amamentação no sistema imunológico da prole de camundongos**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Imunologia do Instituto
de Ciências Biomédicas da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Doutor
em Ciências

Área de concentração: Imunologia.

Orientadora: Prof^aDr^a Maria Notomi Sato

Versão original.

São Paulo
2018

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

de Mendonça Oliveira, Luana

Efeito da suplementação materna com ácido
retinoico durante a amamentação no sistema
imunológico da prole de camundongos / Luana de
Mendonça Oliveira; orientadora Maria Notomi Sato. --
São Paulo, 2018.

37 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade de São Paulo,
Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Ácido Retinoico. 2. Imunidade neonatal. 3.
Linfócitos T reguladores. 4. Colite. 5. Microbiota
intestinal. I. Notomi Sato, Maria, orientador. II.
Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Efeito do ácido retinóico em lactantes na geração de células dendríticas e Th17/T reguladoras da prole de camundongos e na modulação do exsudato inflamatório**", registrado sob o protocolo nº **13/2016**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de *Pesquisa Científica*, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA). Ante esta conformidade, o referido projeto foi avaliado e aprovado em **19/04/2016** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (CEUA-ICB/USP), outorgando esta licença de uso de animais com validade de **4 ano(s)** a partir da data de aprovação. Ressaltamos que este certificado tem validade somente para as pesquisas realizadas a partir desta data e que qualquer pesquisa deste projeto utilizando animal, anterior a esta data, não foi validada pela CEUA-ICB/USP.

- Investigador Principal: **Dr.(a.) Maria Notomi Sato**

- Departamento: *Imunologia*

- Membros da Equipe: *Luana de Mendonça Oliveira (Pós-graduando)*

Ao final do período outorgado por esta licença, o pesquisador responsável deverá encaminhar a esta comissão, até o último dia de validade da atual proposta, *relatório final* de acordo com a Resolução Normativa CONCEA nº 30/2016 - Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (DBCA), conforme modelo constante no endereço eletrônico http://www3.icb.usp.br/corpoeditorial/index.php?option=com_content&view=article&id=702. Havendo interesse na renovação do projeto, a solicitação deverá ser protocolada pela Secretaria da CEUA-ICB/USP até o último dia de validade da atual proposta. Após esta data uma nova proposta deverá ser encaminhada.

CERTIFICATE

We hereby certify that the project entitled "**Effects of retinoic acid in lactating in the generation of Th17 / T regulatory cells of the offspring mice and modulation of the inflammatory response**", protocol nº **13/2016**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human), for *Scientific Research Purposes*, is in accordance with the provisions of the Law nº 11.794 passed on October 8th, 2008, Decree nº 6899 passed on July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control and Animal Experimentation (CONCEA). According to this legislation, the project was evaluated and approved on **4/19/2016** by the ETHICS COMMITTEE ON ANIMAL USE, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo (CEUA-ICB/USP), and the license for animal use is valid for **4 year(s)** from the date of approval.

- Principal Investigator: **Dr.(a.) Maria Notomi Sato**

- Team members: *Luana de Mendonça Oliveira (Graduate Student)*

At the end of the period granted by this license, the Principal Investigator must submit a final report of the project to this committee, according to the Rule nº 30 and the Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (DBCA) issued by the CONCEA. If a renewal of the project is intended, the request must be submitted to the CEUA-ICB/USP secretary before the expiration of the current proposal. After this date, a new proposal must be prepared.

Espécie/Species	Linhagem/Strain	Sexo/Gender	Idade-Peso/ Age-Weight	Total
Mus musculus	C57bl/6 Foxp3 GFP	Macho/Male	20-25 g	42
	C57bl/6 Foxp3 GFP	Fêmea/female	20-25 g	42
	C57bl/6 Foxp3 GFP	Macho/Male	10-12 g	48
	C57bl/6 Foxp3 GFP	Fêmea/female	10-12 g	48
	C57bl/6	Macho/Male	20-25 g	10
	C57bl/6	Fêmea/female	20-25 g	10
	C57bl/6	Macho/Male	10-12 g	15
	C57bl/6	Fêmea/female	10-12 g	15
	Balb/c	Macho/Male	10-15 g	45
	Balb/c	Fêmea/female	10-15 g	45

Prof. Dr. Anderson de Sá Nunes
Coordenador CEUA-ICB/USP

São Paulo, 26 de abril de 2016.

Eliane Aparecida G. M. Nascimento
Secretária CEUA-ICB/USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470
CEP 05403-000 - São Paulo - Brasil - e-mail: cpq-imt@usp.br
Telefones: (55) 11-3061-8650, FAX (55) 11-3064-5132

São Paulo, 26 de Fevereiro de 2014

Ilmo(a)

Dr(a). Maria Notomi Sato

(aos cuidados de Luana de Mendonça Oliveira)

Em reunião na presente data, a Comissão de Pesquisa e Ética e Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa, do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo analisou e **APROVOU**, no que diz respeito aos aspectos de natureza da ética em experimentação animal, o projeto de pesquisa classificado sob número **CPE-IMT/250 'Efeito do ácido retinóico em lactantes na geração de células dendríticas e Th17/T reguladoras da prole de camundongos e na modulação do exsudato inflamatório'**, sob a sua responsabilidade. Como o projeto envolve a manipulação de animais transgênicos deve ser encaminhado para apreciação da Comissão Interna de Biossegurança - CIBio do HCFMUSP.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CEUA-IMT, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais – Lei n 11.794, 8 de outubro de 2008).

Atenciosamente,

Dr. Expedito José de Albuquerque Luna
Presidente da Comissão de Pesquisa e Ética do IMT-USP

Dra. Luciana Regina Meireles Jaguaribe Ekman
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa do IMT-USP

Trabalho realizado no Laboratório de Investigação Médica em Dermatologia e Imunodeficiências (LIM-56) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

OLIVEIRA, L. M. **Efeito da suplementação materna com RA durante a amamentação no sistema imunológico da prole de camundongos.** 2018. 107p Tese (Doutorado em Imunologia) - Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018

O ácido retinoico (RA), metabolito ativo da vitamina A, exerce ampla atividade biológica sobretudo na modulação da resposta imunológica. A interação do RA com os seus receptores nucleares induz a transcrição de genes que atuam na homeostase de sítios imunológicos, principalmente no tecido linfóide associado à mucosa intestinal (GALT). O RA promove a diferenciação de células T reguladoras $CD4^+CD25^+Foxp3^+$, a migração de células efectoras para a mucosa intestinal induzindo a expressão de CCR9 e $\alpha4\beta7$, além de inibir a diferenciação de linfócitos T *helper* (Th) 17 no intestino, garantindo a homeostase intestinal. Entretanto, eventos mediados pelo RA durante o desenvolvimento do sistema imunológico neonatal ainda não são totalmente conhecidos, principalmente no contexto materno-fetal. Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da suplementação materna com RA, durante a amamentação, no sistema imunológico da prole. Para tanto, camundongos fêmeas C57BL6 Foxp3-GFP receberam 6 doses de RA (1mg/gavagem), durante o período de amamentação, e o grupo controle recebeu apenas óleo vegetal. Os resultados mostram que a suplementação materna com RA foi capaz modular o sistema imunológico da prole aumentando o percentual de linfócitos T reguladores (Treg) esplênicos nas proles com 6 semanas de idade. Além disso, houve aumento percentual de linfócitos Treg, $TCD4^+$ e $TCD8^+$ que expressam CCR9, tanto no baço quanto nos linfonodos mesentéricos das mães e de suas proles, o que pode proporcionar a migração de células para o intestino. Este efeito foi duradouro nas proles até 6 semanas de idade. A suplementação materna com RA elevou o percentual de linfócitos Treg e linfócitos B IgA^+ no intestino das proles, e a concentração de imunoglobulina (Ig) A fecal, mas não alterou a composição da microbiota intestinal. Nas mães suplementadas houve redução das concentrações séricas de IgA e IgG. Em contraste com o efeito tolerogênico do RA na lâmina própria do intestino, observamos o aumento sérico de *interferon* (IFN)- γ nas proles de mães suplementadas e aumento na secreção de IFN- γ por esplenócitos induzida por CL097 (agonista de *Toll-like receptor 7/8*), sugerindo que o RA pode ter um impacto importante na deficiente resposta de perfil Th1 nos neonatos. Para averiguar o efeito modulatório *in vivo* da suplementação materna de

RA, foi avaliada a indução de colite por sulfato de sódio dextrano (DSS) nas proles. Não houve perda de peso acentuado nas proles de mães suplementadas com RA quando comparado às proles de mães controles, além de apresentarem a permeabilidade intestinal conservada e aumento do fator de transformação do crescimento (TGF)- β no homogenato intestinal, indicando menor dano no tecido epitelial do intestino. Apesar disto, o RA não foi capaz de inibir totalmente o processo inflamatório na colite. No conjunto, os achados evidenciam que a suplementação materna com RA foi importante no desenvolvimento da imunidade de mucosa e na manutenção da homeostase intestinal, sendo um importante metabólito para atenuar respostas inflamatórias. A indução sérica de IFN- γ e após estímulo com CL097 pode indicar o uso de RA como estratégia para potencializar respostas Th1, crucial contra infecções virais e bacterianas no período neonatal.

Palavras chaves: ácido retinoico, imunidade neonatal, amamentação, linfócitos T reguladores, colite e microbiota intestinal.

ABSTRACT

OLIVEIRA, L. M. **Effect of maternal RA supplementation during breastfeeding on the immune system of the offspring**. 2018. 107p Thesis (Doctor in Immunology) - Institute of Biomedical Sciences. University of São Paulo, São Paulo, 2018

Retinoic acid (RA), the active metabolite of vitamin A, exerts extensive biological activity mainly in the modulation of the immune response. The interaction of RA with its nuclear receptors induces the transcription of genes that acts on the homeostasis of immunological sites, especially in gut associated lymphoid tissue (GALT). RA promotes the differentiation of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells, migration of effector cells to the intestinal mucosa through gut-homing receptors CCR9 and $\alpha 4\beta 7$, besides inhibiting the differentiation of T helper (Th) 17 cells in the gut, guaranteeing intestinal homeostasis. However, events mediated by RA during the development of the neonatal immune system are not totally known, especially in the maternal-fetal context. Thus, the aim of the study was to evaluate the effect of maternal RA supplementation during breastfeeding on the immune system of offspring. For this, C57BL/6 Foxp3-GFP female mice with 8-10 weeks-old received 6 doses of RA (1mg / gavage) during the breastfeeding period, and the control group received only vegetable oil. The results show that maternal RA supplementation was able to modulate the offspring immune system by increasing the percentage of splenic regulatory T (Treg) cells in offspring at 6 weeks of age. In addition, there was an enhancement in the CCR9 expression on regulatory T cells and CD4⁺ and CD8⁺ T cells, in the spleen and in the mesenteric lymph nodes of mothers and their offspring, which can provide migration of cells into the gut. This effect was long-term in offspring up to 6 weeks of age. Maternal RA supplementation also increasing the percentage of regulatory T cells and B IgA⁺ cells in the offspring's gut, beside increasing the fecal immunoglobulin (Ig) A concentration, but did not alter the composition of the intestinal microbiota. In the supplemented mothers, serum concentrations of IgA and IgG were reduced. In contrast to the tolerogenic effect of RA on intestinal lamina propria, we observed a serum increase of interferon (IFN)- γ in offspring and increasing in CL097(Toll-like receptor 7/8 agonist)-induced IFN- γ secretion by splenocytes, suggesting that RA may have a significant impact on the deficient Th1 profile response in neonates. To investigate the modulatory effect in of RA maternal supplementation, was evaluated the induction of colitis by dextran sodium sulfate (DSS) in the offspring. There was no significant weight loss in the offspring from mothers supplemented with RA in

comparison with the offspring from control mothers, as well as having preserved intestinal permeability and increased transforming growth factor (TGF)- β in the intestinal homogenate, indicating less damage to intestinal epithelial tissue. Despite this, RA was not able to totally inhibit the inflammatory process in colitis. Taken together, the findings show that maternal RA supplementation was important in the development of mucosal immunity and maintenance of intestinal homeostasis, being an important metabolite to attenuate inflammatory responses. Induction of serum IFN- γ after TLR7/8 (CL097) stimulation may indicate the use of RA as a strategy to potentiate Th1 responses, crucial against viral and bacterial infections in the neonatal period.

Key words: retinoic acid, neonatal immunity, breastfeeding, regulatory T cells, intestinal colitis and microbiota.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 A vitamina A	11
1.2 Metabolização do RA e sua via de sinalização.....	13
1.3 Impacto do RA na resposta imunológica.....	15
1.3.1 Efeito do RA em DCs e na indução da migração de células imunes para a mucosa intestinal	16
1.3.2 Efeito do RA nos linfócitos T.....	17
1.3.3 Efeito do RA na diferenciação de linfócitos B e produção de IgA.	20
1.4 O sistema imunológico no período neonatal e o impacto da vitamina A	21
2. CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS	28

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1 A vitamina A

As vitaminas são componentes essenciais na dieta e relevantes para a manutenção de diversos processos biológicos. Nesse contexto, a vitamina A atua em várias condições biológicas que envolvem o desenvolvimento embrionário, função hormonal e manutenção/modulação da resposta imunológica, incluindo dos tecidos epiteliais e de mucosa (Mora *et al.*, 2008; Cassani *et al.*, 2012).

A vitamina A é obtida pela dieta tanto em alimentos de origem animal, como fígado, óleo de peixe e ovos, quanto pela ingestão de vegetais ricos em carotenoides, sendo o β -caroteno o mais abundante (Bono *et al.*, 2016). A deficiência da vitamina A, principalmente na infância, está relacionada ao aumento do risco de morbidade e mortalidade por doenças infecciosas (bacterianas e virais), sendo mais comuns as doenças do trato gastrointestinal e pulmonar. Além disso, pode ocasionar cegueira, anemia, prejuízo em respostas vacinais e complicações durante a gestação (Villamor e Fawzi, 2005; Mora *et al.*, 2008). Sendo assim, uma dieta com quantidades adequadas de vitamina A é vital para um bom desenvolvimento do infante, principalmente no período neonatal, uma vez que recém-natos possuem reservas insuficientes da vitamina e dependem, quase que exclusivamente, do leite materno.

Em países de baixo poder aquisitivo é mais frequente que as crianças recebam quantidades insuficientes de vitamina A durante o aleitamento, tornando esta deficiência um problema de saúde pública. Por esse motivo, a Organização Mundial da Saúde recomenda a suplementação com vitamina A para bebês e crianças de 6 a 59 meses de vida nos países em desenvolvimento (Who, 2011). No Brasil, desde 2005, existe o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A, nas regiões Norte e Nordeste do país, e nos municípios das Regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste contemplados no Programa Brasil sem Miséria, que recomenda a suplementação para bebês e crianças de 6 a 59 meses de vida (Brasil, 2013), garantido assim, a ingestão adequada da vitamina A nesse período da vida.

A preocupação com relação à deficiência da vitamina A na infância e o aumento do risco de morbidade e mortalidade por doenças infecciosas pode ser explicado pelo amplo papel que a vitamina A desempenha no sistema imunológico. De maneira bem resumida, pois falaremos com mais detalhes à frente, após a ingestão e absorção da

vitamina A ocorre o processo de metabolização, no qual, o ácido retinoico (RA, *retinoic acid*) é gerado, sendo este o metabólito ativo responsável pelas funções exercidas pela vitamina A. O RA desempenha papel importante na resposta imunológica de mucosa, promovendo a diferenciação de linfócitos T reguladores (Treg) (Sun *et al.*, 2007) e a produção de imunoglobulina (Ig) A (Surman *et al.*, 2014). Além disso, o RA induz a migração de células da imunidade inata (Kim *et al.*, 2015) e linfócitos T e B efetores para o intestino (Von Boehmer, 2007; Hall, Grainger, *et al.*, 2011; Cerovic *et al.*, 2014). Durante infecções, o RA pode induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias pelas células dendríticas (DC, *dendritic cells*), promovendo a ativação de linfócitos T e assim, a proteção da mucosa intestinal (Hall, Cannons, *et al.*, 2011). Dessa forma o RA é essencial para a manutenção da homeostase e da barreira da mucosa intestinal.

Tendo em vista seu amplo papel na resposta imunológica da mucosa intestinal, estudos já relataram a redução da mortalidade infantil através da suplementação com vitamina A (Imdad *et al.*, 2010). Mais um dado que ressalta a importância da ingestão de vitamina A durante os primeiros anos de vida, no desenvolvimento da resposta imunológica e manutenção da vida.

O RA também atua durante o desenvolvimento embrionário, principalmente na proliferação e diferenciação de células progenitoras hematopoiéticas (Kinoshita *et al.*, 2000; Berggren Soderlund *et al.*, 2005; Van De Pavert *et al.*, 2014). Embora haja evidências experimentais de que a suplementação de gestantes com quantidades elevadas de vitamina A pode induzir efeito teratogênico no feto (Balkan *et al.*, 1992; Niederreither *et al.*, 1997), ainda assim, a deficiência de vitamina A durante a gestação causa efeitos prejudiciais no desenvolvimento embrionário e no desenvolvimento do sistema imunológico do neonato (Kinoshita *et al.*, 2000; Van De Pavert *et al.*, 2014), tornando essencial uma suplementação com quantidade adequada da vitamina durante esse período.

Além das funções já relatadas, devido sua atividade reguladora, o RA é capaz de atuar no controle de doenças inflamatórias, não somente no intestino (Tejón *et al.*, 2015; Penny *et al.*, 2016), mas em outros tecidos como: mucosa pulmonar (Goswami *et al.*, 2009; Niu *et al.*, 2016), sistema nervoso central (Saboor-Yaraghi *et al.*, 2015; Mohammadzadeh Honarvar *et al.*, 2016; Raverdeau *et al.*, 2016) e pele (Rigopoulos *et al.*, 2004; Khalil *et al.*, 2017).

Contudo, para a atuação do RA, primeiramente a vitamina A precisa ser metabolizada, e esse processo será discutido a seguir.

1.2 Metabolização do RA e sua via de sinalização

A vitamina A pode ser obtida pelo consumo de precursores da vitamina A, ou seja, os carotenoides (principalmente o β -caroteno) quando proveniente de origem vegetal, ou na forma de ésteres de retinil, quando proveniente de origem animal (Bono *et al.*, 2016). Quando os precursores da vitamina A são absorvidos, estes são esterificados em ésteres de retinil pela enzima lecitina retinol aciltransferase (LRAT, *lecithin retinol acyltransferase*), obtendo a mesma forma da vitamina A de origem animal. Após esse processo, os ésteres de retinil são empacotados em quilomícrons e entram na circulação sistêmica (Erkelens e Mebius, 2017) (Figura 1). Na circulação, os quilomícrons sofrem ação da enzima lipase lipoproteica resultando na captura pelos hepatócitos onde sofrem hidrólise gerando o retinol. O retinol é estocado no fígado, principalmente nas células estreladas hepáticas (Mora *et al.*, 2008).

Quando há demanda da vitamina A pelo organismo, o retinol formado é transportado pela circulação sanguínea através de um complexo formado pela proteína de ligação do retinol (RBP, *retinol binding protein*) com a proteína de transporte transtirretina (TTR) (Azais-Braesco e Pascal, 2000). Esse complexo é reconhecido pela proteína transmembrana STRA6 (*stimulated by retinoic acid 6*), que medeia a absorção do retinol extracelular para o citosol (Berry *et al.*, 2012). Ao ser absorvido, o retinol é oxidado em retinal pela enzima álcool desidrogenase (ADH, *alcohol dehydrogenase*). Posteriormente, no epitélio intestinal e nas DCs associadas aos linfonodos mesentéricos (mLN, *mesenteric lymph nodes*) e placa de Peyer (PP), o retinal sofre uma oxidação pela enzima retinal desidrogenase (RALDH, *retinal dehydrogenase*), obtendo-se o RA. (Mora *et al.*, 2008). As células epiteliais do intestino também podem metabolizar a vitamina A, logo após a absorção, em retinal e RA, podendo liberar o RA diretamente na mucosa intestinal (Erkelens e Mebius, 2017).

O RA é gerado em múltiplas formas ativas estereoisoméricas, como a *all-trans*, *9-cis* e *13-cis* (Berggren Soderlund *et al.*, 2005; Campo-Paysaa *et al.*, 2008), sendo a forma *all-trans* (atRA) a mais abundante no organismo (Arnold *et al.*, 2012). O RA sinaliza via receptores nucleares, como o receptor de ácido retinoico (RAR, *retinoic acid receptor*) e o receptor retinoide X (RXR, *retinoid X receptor*) para regular a transcrição de seus genes-alvo (Schuster *et al.*, 2008; Hall, Grainger, *et al.*, 2011). Os receptores formam heterodímeros, sendo o RAR composto por três isoformas principais (α , β e γ)

que interagem com todas as formas do RA, enquanto o RXR, que também possui isoformas α , β e γ , interage, principalmente, com o 9-*cis* RA (Hjertson *et al.*, 2003). O RA também pode sinalizar através do receptor ativador da proliferação de peroxissomos beta (PPAR- β , *peroxisome proliferator-activating receptor beta*), formando um heterodímero com o RXR, importante no metabolismo de lipídeos e na homeostase da glicose (Mora *et al.*, 2008).

O controle da concentração do RA nos tecidos é realizado por um grupo de enzimas pertencentes a família 26 do citocromo P450 (CYP26, *cytochrome P450 family 26*), que catalisa o RA gerando formas oxidadas (5,8-*epoxi* RA, 4-*hidroxi* RA e 18-*hidroxi* RA), evitando seu acúmulo no organismo e controlando suas concentrações fisiológicas (Sakai *et al.*, 2001).

Figura 1. Metabolização e sinalização do RA. (A) A vitamina A e seus precursores (β -caroteno) obtidos da dieta são absorvidos pelas células do epitélio intestinal e esterificados em ésteres de retinil pela enzima LRAT. (B) Os ésteres de retinil são empacotados em quilomícrons e entram em circulação sanguínea onde são capturados pelos hepatócitos e armazenados como retinol. (C) O retinol liga-se à RBP no fígado e é transportado através da corrente sanguínea. Este complexo é reconhecido pelo STRA6, que medeia a absorção do retinol extracelular para o citosol. (D) Após a captação, o retinol é oxidado em retinal pela enzima ADH. Posteriormente, em DCs CD103⁺, o retinal é oxidado pela enzima RALDH para gerar RA. (E) Células do epitélio intestinal também podem metabolizar a vitamina A após absorção do retinal em RA, que pode ser liberado

diretamente na mucosa intestinal. (F) A RA interage com receptores nucleares, como o RAR e o RXR, para regular a transcrição de vários genes-alvo, pela ligação aos elementos responsivos ao ácido retinoico (RAREs, *retinoic acid-responsive elements*) no DNA. (G) O controle da concentração do RA nos tecidos é realizado por um grupo de enzimas pertencentes à família 26 do citocromo P450 (CYP26), que catalisa o RA presente no citosol para gerar as formas oxidadas. (Adaptado, (Oliveira *et al.*, 2018))

1.3 Impacto do RA na resposta imunológica

O RA pode atuar de diferentes formas, tanto nas células envolvidas na imunidade inata, quanto nas células da imunidade adaptativa (Figura 2), e apesar de exercer um papel mais relevante em mucosas, principalmente na mucosa intestinal, também exibe papel sistêmico importante, promovendo a homeostase em diferentes tecidos.

Figura 2. Papel do RA nas células do sistema imunológico. (A) Associado às citocinas pró-inflamatórias, o RA contribui para a ativação das DCs e para a geração de células T efectoras; (B) o RA também promove modulação de macrófagos, inibindo mediadores inflamatórios e liberação de TNF e NO; (C) ativa ILC3, especialmente células LTi, que são necessárias para a formação de tecidos linfóides, inclusive durante o desenvolvimento fetal; (D) induz a expressão das moléculas $\alpha 4 \beta 7$ e CCR9 em linfócitos e ILCs e o direcionamento dessas células para o intestino e promove o equilíbrio de células Th17 / Treg no GALT, assegurando tolerância, mas também é capaz de induzir Th17 na presença de infecção e inflamação; e (E) promove a ativação de células B e sua diferenciação em plasmócitos. (Adaptado, (Oliveira *et al.*, 2018))

1.3.1 Efeito do RA em DCs e na indução da migração de células imunes para a mucosa intestinal

A mucosa intestinal é exposta a uma variedade de antígenos e possui um ambiente tolerogênico para suprimir a resposta imunológica aos antígenos ingeridos e à microbiota, prevenindo a exacerbação da resposta inflamatória. Em paralelo, este ambiente também é capaz de gerar resposta imune efetora aos patógenos.

O balanço entre a tolerância e a resposta efetora é direcionado principalmente pelas células apresentadoras de antígeno (APC, *antigen presenting cells*), especialmente DCs (Siddiqui e Powrie, 2008). Já foi visto em camundongos que o RA é capaz de regular a diferenciação dos precursores das DCs da medula óssea em precursores de DCs de mucosa pela indução da expressão da integrina $\alpha 4\beta 7$, garantindo a migração dessas células para o trato gastrointestinal, originando assim, as DCs $CD103^+CD11b^+$ da mucosa intestinal (Czarnewski *et al.*, 2017). A população de DCs nos tecidos linfoides associados à mucosa intestinal (GALT, *gut associated lymphoid tissue*) com fenótipo $CD103^+$ é responsável pela manutenção da homeostase, por ser capaz de promover a indução de linfócitos Treg $Foxp3^+$ e de proporcionar a migração de células reguladoras e efetoras para o GALT (Von Boehmer, 2007; Hall, Grainger, *et al.*, 2011; Cerovic *et al.*, 2014).

A migração das células T mediada pelas DCs no GALT está relacionada com a sua capacidade de sintetizar o RA (Eksteen *et al.*, 2009; Hall, Grainger, *et al.*, 2011), uma vez que essas DCs possuem alta expressão das enzimas RALDH 1 e RALDH 2, responsáveis pela conversão do retinal em RA, tornando-as as principais sintetizadoras deste metabólito (Agace e Persson, 2012). Desta forma, no momento da apresentação do antígeno, as DCs $CD103^+$ liberam o RA capaz de passar livremente pela membrana celular da célula alvo. No núcleo o RA sinaliza via receptor $RAR\alpha$ induzindo a transcrição das regiões promotoras do gene da subunidade $\alpha 4$ da integrina $\alpha 4\beta 7$ e do gene para o receptor de quimiocina CCR9 (Hall, Grainger, *et al.*, 2011), proporcionando a expressão de $\alpha 4\beta 7$ e CCR9 na membrana celular. Assim a integrina $\alpha 4\beta 7$ e o CCR9 são capazes de interagirem com a quimiocina CCL25 e a molécula de adesão MadCAM-1, respectivamente (Eksteen *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2010). Como o MadCAM-1, está presente nas vênulas do mLN e nas PP, e a CCL25 é produzida pelas células epiteliais do intestino, essa combinação garante a migração não só de linfócitos T, como também de outras células imunes (linfócitos B, células linfoides inatas) para o intestino (Iwata *et al.*,

2004; Eksteen *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2010; Hammerschmidt *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2015).

Com relação a migração de células linfoides inatas (ILCs – *innate lymphoid cells*) para o intestino, o RA atua principalmente nas ILCs 1 e 3. As ILCs podem ser divididas em três subgrupos principais ILC1, ILC2 e ILC3, baseados na expressão dos fatores de transcrição T-bet, GATA3 e ROR γ t, e perfil de citocinas, como interferon (IFN)- γ e fator de necrose tumoral (TNF – *tumor necrosis factor*) (ILC1), interleucina (IL)-5 e IL-13 (ILC2) ou IL-17 e IL-22 (ILC3). Nesse contexto, as ILC 1 e 3 são muito importantes contra infecções virais e bacterianas na mucosa intestinal (Kim *et al.*, 2015), o que torna relevante o papel do RA na migração dessas células para o intestino, garantido maior proteção contra doenças infecciosas intestinais.

Outro papel importante das DCs CD103⁺ é promover a indução de células TCD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ (Treg) importantes para a manutenção do ambiente tolerogênico no GALT. Além das DCs CD103⁺, outras DCs RALDH⁺ presentes na lamina própria do intestino delgado, na pele e mucosa pulmonar, também sintetizam RA (Sun *et al.*, 2007; Williams *et al.*, 2010; Ruane *et al.*, 2013) sendo as DCs RALDH⁺ do intestino capazes de induzir Treg na presença do TGF- β (Mucida e Cheroutre, 2007; Sun *et al.*, 2007). Assim, é possível afirmar que as DCs produtoras de RA, ou seja, as DCs RALDH⁺, são DCs de perfil tolerogênico.

Contudo, o RA também pode participar da maturação e ativação de DCs, pois em conjunto com citocinas pró-inflamatórias, o RA induz o aumento na expressão do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC - *Major Histocompatibility Complex*)-II e CD86 em DCs derivadas de monócitos (MoDCs) (Geissmann *et al.*, 2003), e, durante infecções, sinalização pelo RA pode induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias em DCs e, por sua vez, promover a diferenciação de células T efectoras (Hall, Cannons, *et al.*, 2011). Dessa forma, a ação do RA vai depender do contexto imunológico, podendo ativar ou suprimir respostas imunológicas, garantindo a homeostase.

1.3.2 Efeito do RA nos linfócitos T

O RA desempenha papéis distintos nas subpopulações de linfócitos T, dependendo do ambiente em que está inserido e da subpopulação em questão. Sendo assim, o RA pode influenciar no balanço das respostas dos linfócitos TCD4⁺ tendo maior

relevância no balanço da resposta de linfócitos T auxiliares (Th – *T helpers*) Th1 e Th2, além do balanço na diferenciação e na resposta Treg/Th17.

A diferenciação de células T naïve para as diferentes subpopulações depende de fatores do microambiente da resposta inflamatória inicial e das citocinas secretadas pelas populações de células ativadas. Entre as citocinas envolvidas neste processo, a IL-12 é secretada principalmente por APCs e favorece a diferenciação de células Th1 (Coffman *et al.*, 1991), que secretam IL-2 e IFN- γ . Já a IL-4 contribui para a diferenciação de células Th2, caracterizado pela expressão do fator de transcrição GATA3 e secreção de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, favorecendo a produção de anticorpos IgE em humanos e de IgE e IgG1 em camundongos (Coffman *et al.*, 1991).

Os relatos sobre o papel do RA no balanço das respostas de perfil Th1/Th2 são controversos. Alguns estudos indicam que concentrações elevadas de RA podem promover a diferenciação de células T naïve em Th2 pela indução da expressão do gene para IL-4 (Mora *et al.*, 2008), além de modular a produção de IL-12 das APCs, inibindo a diferenciação das células Th1 (Iwata *et al.*, 2003) e induzindo a expressão de fatores de transcrição GATA3 e STAT 6, importantes na manutenção da resposta Th2 (Mora *et al.*, 2008; Siddiqui e Powrie, 2008). O uso *in vitro* de agonistas do receptor RXR também favorece o desenvolvimento das células Th2 (Stephensen *et al.*, 2007). Entretanto, trabalhos mais recentes sugerem que a deficiência de vitamina A está relacionada com aumento da incidência de asma em crianças devido a prejuízos na formação da mucosa pulmonar e manutenção do epitélio das vias aéreas (Marquez e Cardoso, 2016). Já em modelo experimental de asma induzida por ovalbumina, a deficiência vitamina A induz citocinas do perfil Th2, como IL-5 e IL-13, aumentando assim a inflamação pulmonar (Cui *et al.*, 2016). Contudo, administração oral de RA atenua a inflamação pulmonar em decorrência do aumento da população de células T reguladoras no pulmão (Goswami *et al.*, 2009; Niu *et al.*, 2016).

Em relação a resposta de perfil Th1, apesar do RA inibir a diferenciação desse perfil, é essencial para a estabilidade e manutenção de células Th1 por reprimir o fator de transcrição ROR γ t, importante para indução de células Th17 (Brown *et al.*, 2015). Além disto, apresenta um papel importante na manutenção de respostas antígeno-específicas, visto que camundongos deficientes de vitamina A mostram prejuízo na resposta Th1 após imunização com ovalbumina e toxina colérica (Hall *et al.*, 2011).

Mas é no balanço entre as respostas Treg/Th17 em que o RA tem maior importância, principalmente durante repostas inflamatórias na mucosa intestinal.

Conforme abordado anteriormente, a mucosa intestinal, por ser exposta a diversos antígenos, necessita de um balanço eficiente entre tolerância e a resposta efetora, para que respostas imunológicas não se tornem exacerbadas causando inflamações crônicas e danos teciduais. Nesse contexto, o RA produzido pelas DCs RALDH⁺ presentes na lâmina própria do intestino propicia a geração de Treg, na presença de TGF- β (Mucida e Cheroutre, 2007; Sun *et al.*, 2007). A diferenciação de Treg a partir de células TCD4 naíve se dá por um mecanismo dependente de RA no qual o atRA promove a acetilação das histonas no promotor do gene para Foxp3, fazendo com que a cromatina fique frouxa, o que facilita a transcrição gênica (Coombes *et al.*, 2007; Von Boehmer, 2007; Pino-Lagos *et al.*, 2011).

O RA também controla a diferenciação de células T com perfil inflamatório no GALT, suprimindo a diferenciação de células T naíve em Th17 na mucosa (Wang *et al.*, 2010), principalmente pelo bloqueio da sinalização via IL-23 e IL-6. Por outro lado, a IL-6 é capaz de inibir a geração de Treg, favorecendo a expansão de Th17 em camundongos com colite (Duriancik *et al.*, 2010; Collins *et al.*, 2011).

Os linfócitos Th17 são gerados na presença de IL-6 e IL-21 e de baixas concentrações de TGF- β na mucosa intestinal, principalmente em inflamações crônicas (Collins *et al.*, 2011; Moore *et al.*, 2011). São capazes de secretar citocinas como IL-17A, IL-21 e IL-22 e promovem o controle de infecções bacterianas e fúngicas nas mucosas (Hall, Grainger, *et al.*, 2011). O RA possui um papel ambíguo nas Th17, pois, apesar de inibir a geração de linfócitos Th17, durante as infecções na mucosa intestinal, baixas concentrações de RA na presença de IL-6 induz a geração de linfócitos Th17, potencializando a resposta protetora na mucosa (Uematsu *et al.*, 2008).

Além disso, o RA é essencial para a geração *in situ* de linfócitos Th17 na mucosa intestinal durante a infecção causada por *Toxoplasma gondii* (Hall, Cannons, *et al.*, 2011). Desta forma, o RA exerce papel tolerogênico na mucosa saudável e inflamatório em respostas infecciosas, garantindo a proteção.

O RA também induz a migração de células Th17 e outras células efetoras para o GALT. A expressão de CCR9 é importante para a migração de células para o intestino delgado (jejuno e íleo), enquanto que a integrina $\alpha 4\beta 7$ propicia a migração de células por toda extensão do intestino (Wang *et al.*, 2010). Contudo, a suplementação oral com RA em camundongos com inflamação crônica no íleo é capaz de atenuar a inflamação, por restaurar o balanço entre as populações Th17 e T reguladoras, elevando o número de DC

CD103⁺ e a expressão de RALDH 2, por um mecanismo de *feedback* positivo, aumentando, assim a concentração de RA na mucosa (Wang *et al.*, 2010; Collins *et al.*, 2011). Além disso, camundongos submetidos a uma dieta deficiente de vitamina A são mais suscetíveis ao desenvolvimento de colite induzida por sulfato de sódio dextrano (DSS - *dextran sulfate sodium*) e câncer de colón devido ao agravamento da inflamação crônica no intestino (Okayasu *et al.*, 2016). Dessa forma, o RA faz um balanço entre a geração de células T reguladoras e Th17, mantendo a homeostase da mucosa intestinal.

Nos linfócitos TCD8⁺, o efeito do RA está mais relacionado com indução da migração dessas células para o GALT e mucosas e não em sua diferenciação, sendo importante durante infecções virais. Nesse contexto, foi visto que a administração de RA é capaz de estabelecer uma resposta protetora antiviral em camundongos, por aumentar a migração e a geração de linfócitos T CD8⁺ e células de memória (Tan *et al.*, 2011), capazes de inibir a infecção pelo vírus da gastroenterite na mucosa intestinal (Chen *et al.*, 2016).

1.3.3 Efeito do RA na diferenciação de linfócitos B e produção de IgA.

O RA também exerce papel importante na resposta humoral, sendo essencial para a produção de linfócitos B secretores de anticorpos IgA (Mora *et al.*, 2006; Hall, Grainger, *et al.*, 2011). A administração oral de RA em camundongos deficientes de vitamina A mostrou-se eficiente em reestabelecer a produção de IgA após vacinação contra influenza (Surman *et al.*, 2014). Além disto, a deficiência de vitamina A e zinco leva a diminuição de IgA sérica e uma diminuição acentuada da imunidade humoral de mucosa (Kheirouri e Alizadeh, 2014). Neste sentido, estudos mostraram que o uso do RA como adjuvante vacinal, potencializa a resposta imunológica, tanto em camundongos adultos quanto neonatos, sendo um importante fator para a indução de resposta imunológicas, principalmente em fases precoce da vida (Ma *et al.*, 2005; Ma e Ross, 2005).

Os retinoides também são descritos como cofatores para estimulação e proliferação dos linfócitos B, capazes de acelerar a linfopoiese dessas células e aumentar seu número no baço, decorrentes do aumento de fatores de transcrição EBF1 e Pax-5, essenciais para o desenvolvimento de linfócitos B (Morikawa e Nonaka, 2005). Além disso, também acelera a maturação de linfócitos B humanos e sua diferenciação em células produtoras de anticorpos (Morikawa e Nonaka, 2005).

O RA também induz a diferenciação de linfócitos B esplênicos aumentando a expressão de CD138 e IgG de membrana celular por induzir a expressão da enzima deaminase induzida pela ativação (AID - *activation induced deaminase*), responsável pela indução da troca de classe de anticorpos, e a expressão do fator regulador do interferon 4 (IRF4, *interferon regulatory factor 4*), envolvido na geração de plasmócito e produção de IgG (Chen e Ross, 2007; Indrevær *et al.*, 2015). E, assim como ocorre nas outras células imunológicas, o RA também favorece a migração e sobrevivência de células B na geração preferencial de IgA no intestino.

Portanto, a vitamina A possui um papel multifatorial na modulação da resposta imune, na homeostase e na indução de resposta reguladora e/ou efetora. Entretanto, ainda não está totalmente determinado como a suplementação materna com RA, via amamentação, pode influenciar no desenvolvimento imunológico do neonato, período marcado por uma imaturidade imunológica e dependência de fatores maternos para proteção contra infecções e desenvolvimento do sistema imunológico.

1.4 O sistema imunológico no período neonatal e o impacto da vitamina

A

Devido à baixa exposição de antígenos durante o desenvolvimento intrauterino, o período neonatal é caracterizado pela ausência de memória e relativa imaturidade celular, com diminuição numérica e funcional das DCs, dos linfócitos T, B e ILCs em relação aos adultos (Adkins *et al.*, 2004; Takeda *et al.*, 2005; Futata *et al.*, 2012). Essas características no período neonatal fazem da imunidade materna uma importante ferramenta para garantir a proteção contra os patógenos e na manutenção da homeostase imunológica.

Contudo, algumas particularidades da resposta imune inata do neonato atuam para compensar o lento desenvolvimento da resposta imune adaptativa, como um aumento da resposta inflamatória aos agonistas de receptores *Toll-like* (TLRs) e *NOD-like* (NLRs) pelos granulócitos. Estes receptores reconhecem padrões moleculares conservados em microrganismos como bactérias, fungos e vírus iniciando vias de sinalização que resultam na produção de citocinas pró-inflamatórias e maturação das células favorecendo o desenvolvimento da resposta adaptativa (Khoo *et al.*, 2011).

As ILCs, além de atuarem na manutenção de barreiras em mucosas e no controle de bactérias comensais, também conferem a proteção contra patógenos, o que as

torna essenciais no período neonatal por participarem do desenvolvimento do GALT. As células indutoras de tecido linfóide (LTi), um dos subtipos de ILC3, promovem a formação de tecidos linfóides, como as PP, essenciais para o estabelecimento de respostas imunológicas eficientes (Bostick e Zhou, 2016).

Já as DCs derivadas de monócitos provenientes de cordão umbilical mostram baixa expressão de moléculas coestimuladoras após estímulo com lipopolissacarídeo (LPS), quando comparadas às DCs de adultos, resultando em menor capacidade de apresentação de antígenos e polarização para respostas de perfil Th1 (Goriely *et al.*, 2001). Em resposta à maioria dos ligantes de TLRs os monócitos e as DCs plasmocitoides secretam menos IL-12p70 e IFN- α (Hallwirth *et al.*, 2002).

Como as DCs secretaram menos IL-12, há uma diminuição da resposta Th1 e desvio para Th2, em especial em camundongos (Adkins *et al.*, 2004). Além disto, após a ativação de linfócitos T, a secreção preferencial de IL-4 e IL-13 é devida à hipometilação na região reguladora dos genes *IL4* e *IL13*, enquanto há uma regulação epigenética do promotor de IFN- γ inibindo a diferenciação para resposta Th1 (Adkins, 2007; Rose *et al.*, 2007). Dessa forma, existe um desvio para um perfil de resposta Th2 no período neonatal, o que prejudica a formação de respostas às infecções bacterianas e virais, que são recorrentes nesta fase e durante a infância.

Além da diminuição quantitativa e qualitativa das DCs e células T, a falta de um microambiente anatômico apropriado para a interação entre as DCs e as células T e B, pode gerar diferenças fenotípicas e funcionais das células B, que refletem na baixa produção de anticorpos. Assim, a resposta humoral neonatal é mais tardia, com quantidades menores de anticorpos e de menor duração, pois as poucas células B maduras do neonato expressam menos CD40 que, somado com a diminuída expressão de CD40L nas células T, contribuem para a baixa produção de IgG, IgA e IgE (Bot e Bona, 2002). Outro fator que prejudica a resposta humoral é a formação inadequada dos centros germinativos (CG) em neonatos, regiões presentes nos órgãos linfóides, onde ocorre a interação de linfócitos T auxiliares foliculares (T_{FH}) e linfócitos B, com posterior troca de classe e maturação da afinidade dos anticorpos.

Por esses motivos, o aleitamento é essencial não só para proteção como também para o desenvolvimento do sistema imunológico do neonato (Ma *et al.*, 2008), através da transferência de anticorpos, citocinas e TGF- β , que podem propiciar a formação ou proliferação de populações de linfócitos Treg, além da transferência de células maternas à prole. (Verhasselt *et al.*, 2008). A transmissão de células da mãe para

a prole pode ser evidenciada em camundongos GFP⁺ (*Green fluorescent protein*), por duas vias independentes: placentária e amamentação. A transferência de células maternas por via placentária é evidenciada em 50% da prole e situam-se nos órgãos, como timo, baço e fígado. Após o nascimento, o colostro de camundongos tem uma composição de leucócitos semelhante aos humanos, com 50-70% de granulócitos, 10-20% de monócitos, 3-10% de células T e menos que 2% de células B (Zhou *et al.*, 2000). Contudo, a migração trans-epitelial é feita por 3-4% de células T que migram para as PP, baço e timo, sendo evidenciado o número máximo no período de 3 a 4 semanas após o nascimento (Ma *et al.*, 2008).

A vitamina A é transferida pelo leite materno como retinol (Garcia *et al.*, 2005) e pode influenciar no desenvolvimento da resposta imune do neonato. A suplementação com vitamina A durante o período neonatal confere uma melhor resposta antígeno-dependente em camundongos adultos jovens, mostrando que o impacto pode ocorrer até o estágio adulto (Sankaranarayanan *et al.*, 2007).

Além disso, as concentrações maternas de RA durante o desenvolvimento neonatal têm grande impacto no sistema imunológico do infante. Proles de camundongos deficientes de vitamina A, apresentavam órgãos linfoides secundários menores devido a redução da população de células LT_i, responsável pela indução dos tecidos linfoides durante a fase neonatal (Van De Pavert *et al.*, 2014). Isso ocorre devido ao RA materno, durante a gestação, ser essencial para o desenvolvimento de LT_i fetal, pois aumenta o fator de transcrição ROR γ t nos precursores de ILCs. Com isso, a resistência às infecções é prejudicada, pois não há a formação adequada de estruturas imunológicas necessárias para a resposta aos patógenos. Da mesma forma, o RA é necessário na fase pós-natal para a geração de células ILC3 e LT_i intestinais em animais adultos, uma vez que sua deficiência ou o bloqueio da sinalização RA-RAR reduz o desenvolvimento de tecido linfoide entérico (Goverse *et al.*, 2016).

Tendo em vista que o sistema imunológico da prole ainda está em desenvolvimento e a relação entre a redução da mortalidade infantil e suplementação com vitamina A (Imdad *et al.*, 2010), acreditamos que a suplementação materna com RA durante o período de amamentação possa modular o sistema imunológico da prole trazendo benefícios para a mesma.

Desta forma, a hipótese do trabalho é que a suplementação materna com o RA pode modular a resposta imune da prole, aumentando a migração de linfócitos T para o intestino, contribuindo, dessa forma, com o desenvolvimento da imunidade da mucosa

intestinal no período neonatal, além de atuar reduzindo inflamações agudas na mucosa intestinal devido a seu papel tolerogênico.

Conclusão

2. CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho nos permitem concluir que:

- A suplementação materna com RA durante a amamentação possui um importante impacto na maturação e homeostase da mucosa intestinal das proles, induzindo a migrações de linfócitos Treg e aumento de linfócitos B IgA⁺ e IgA fecal;
- A homeostase intestinal favorecendo um ambiente mais tolerogênico foi evidenciada pelo processo inflamatório mais tênue na colite induzida por DSS das proles de mães suplementadas com RA;
- Apesar do efeito tolerogênico, a suplementação materna com RA pode potencializar o desenvolvimento de resposta Th1, que pode sobrepor a diminuição de IFN- γ presente no período neonatal.

Referências

REFERÊNCIAS

ADKINS, B. Heterogeneity in the CD4 T Cell Compartment and the Variability of Neonatal Immune Responsiveness. **Curr Immunol Rev**, v. 3, n. 3, p. 151-159, Aug 2007. ISSN 1573-3955 (Electronic) 1573-3955 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19122799 >.

ADKINS, B.; LECLERC, C.; MARSHALL-CLARKE, S. Neonatal adaptive immunity comes of age. **Nat Rev Immunol**, v. 4, n. 7, p. 553-64, Jul 2004. ISSN 1474-1733. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15229474> >.

AGACE, W. W.; PERSSON, E. K. How vitamin A metabolizing dendritic cells are generated in the gut mucosa. **Trends Immunol**, v. 33, n. 1, p. 42-8, Jan 2012. ISSN 1471-4981 (Electronic) 1471-4906 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22079120> >.

ARNOLD, S. L. et al. A sensitive and specific method for measurement of multiple retinoids in human serum with UHPLC-MS/MS. **J Lipid Res**, v. 53, n. 3, p. 587-98, Mar 2012. ISSN 1539-7262. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22192917> >.

AZAIS-BRAESCO, V.; PASCAL, G. Vitamin A in pregnancy: requirements and safety limits. **Am J Clin Nutr**, v. 71, n. 5 Suppl, p. 1325S-33S, May 2000. ISSN 0002-9165 (Print)0002-9165 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10799410> >.

BALKAN, W. et al. Transgenic indicator mice for studying activated retinoic acid receptors during development. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 89, n. 8, p. 3347-51, Apr 15 1992. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1314386> >.

BERGGREN SODERLUND, M.; FEX, G. A.; NILSSON-EHLE, P. Concentrations of retinoids in early pregnancy and in newborns and their mothers. **Am J Clin Nutr**, v. 81, n. 3, p. 633-6, Mar 2005. ISSN 0002-9165 (Print)0002-9165 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15755833> >.

BERRY, D. C. et al. Transthyretin Blocks Retinol Uptake and Cell Signaling by the Holo-Retinol-Binding Protein Receptor STRA6. **Mol Cell Biol**, v. 32, n. 19, p. 3851-9, Oct 2012. ISSN 1098-5549 (Electronic)0270-7306 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22826435> >.

BONO, M. R. et al. Retinoic Acid as a Modulator of T Cell Immunity. **Nutrients**, v. 8, n. 6, Jun 2016. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27304965> >.

BOSTICK, J. W.; ZHOU, L. Innate lymphoid cells in intestinal immunity and inflammation. **Cell Mol Life Sci**, v. 73, n. 2, p. 237-52, Jan 2016. ISSN 1420-9071. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26459449> >.

BOT, A.; BONA, C. Genetic immunization of neonates. **Microbes Infect**, v. 4, n. 4, p. 511-20, Apr 2002. ISSN 1286-4579. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11932202> >.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de condutas gerais do Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BROWN, C. C. et al. Retinoic acid is essential for Th1 cell lineage stability and prevents transition to a Th17 cell program. **Immunity**, v. 42, n. 3, p. 499-511, Mar 2015. ISSN 1097-4180. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25769610> >.

CAMPO-PAYSAA, F. et al. Retinoic acid signaling in development: tissue-specific functions and evolutionary origins. **Genesis**, v. 46, n. 11, p. 640-56, Nov 2008. ISSN 1526-968X (Electronic) 1526-954X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19003929> >.

CASSANI, B. et al. Vitamin A and immune regulation: role of retinoic acid in gut-associated dendritic cell education, immune protection and tolerance. **Mol Aspects Med**, v. 33, n. 1, p. 63-76, Feb 2012. ISSN 1872-9452. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22120429> >.

CEROVIC, V. et al. Intestinal macrophages and dendritic cells: what's the difference? **Trends Immunol**, v. 35, n. 6, p. 270-7, Jun 2014. ISSN 1471-4981. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24794393> >.

CHEN, Q.; ROSS, A. C. Retinoic acid promotes mouse splenic B cell surface IgG expression and maturation stimulated by CD40 and IL-4. **Cell Immunol**, v. 249, n. 1, p. 37-45, Sep 2007. ISSN 1090-2163. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18082674> >.

CHEN, X. et al. Retinoic acid facilitates inactivated transmissible gastroenteritis virus induction of CD8(+) T-cell migration to the porcine gut. **Sci Rep**, v. 6, p. 24152, 2016. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27080036> >.

COFFMAN, R. L. et al. Role of cytokines in the differentiation of CD4+ T-cell subsets in vivo. **Immunol Rev**, v. 123, p. 189-207, Oct 1991. ISSN 0105-2896 (Print) 0105-2896 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1684779> >.

COLLINS, C. B. et al. Retinoic acid attenuates ileitis by restoring the balance between T-helper 17 and T regulatory cells. **Gastroenterology**, v. 141, n. 5, p. 1821-31, Nov 2011. ISSN 1528-0012 (Electronic) 0016-5085 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22027263> >.

COOMBES, J. L. et al. A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism. **J Exp Med**, v. 204, n. 8, p. 1757-64, Aug 6 2007. ISSN 0022-1007 (Print) 0022-1007 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17620361> >.

CUI, W. et al. Vitamin A Deficiency Promotes Inflammation by Induction of Type 2 Cytokines in Experimental Ovalbumin-Induced Asthma Murine Model. **Inflammation**, Aug 2016. ISSN 1573-2576. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27525423> >.

CZARNEWSKI, P. et al. Retinoic Acid and Its Role in Modulating Intestinal Innate Immunity. **Nutrients**, v. 9, n. 1, Jan 2017. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28098786> >.

DURIANCIK, D. M.; LACKEY, D. E.; HOAG, K. A. Vitamin A as a regulator of antigen presenting cells. **J Nutr**, v. 140, n. 8, p. 1395-9, Aug 2010. ISSN 1541-6100 (Electronic) 0022-3166 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20554902> >.

EKSTEEN, B. et al. Gut homing receptors on CD8 T cells are retinoic acid dependent and not maintained by liver dendritic or stellate cells. **Gastroenterology**, v. 137, n. 1, p. 320-9, Jul 2009. ISSN 1528-0012 (Electronic) 0016-5085 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19233184> >.

ERKELENS, M. N.; MEBIUS, R. E. Retinoic Acid and Immune Homeostasis: A Balancing Act. **Trends Immunol**, v. 38, n. 3, p. 168-180, 03 2017. ISSN 1471-4981. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28094101> >.

FUTATA, E. A. et al. The neonatal immune system: immunomodulation of infections in early life. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 10, n. 3, p. 289-98, Mar 2012. ISSN 1744-8336 (Electronic) 1478-7210 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22397563> >.

GARCIA, A. L.; RUHL, R.; SCHWEIGERT, F. J. Retinoid concentrations in the mouse during postnatal development and after maternal vitamin A supplementation. **Ann Nutr**

Metab, v. 49, n. 5, p. 333-41, Sep-Oct 2005. ISSN 0250-6807 (Print) 0250-6807 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16113519> >.

GEISSMANN, F. et al. Retinoids regulate survival and antigen presentation by immature dendritic cells. **J Exp Med**, v. 198, n. 4, p. 623-34, Aug 2003. ISSN 0022-1007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12925678> >.

GORIELY, S. et al. Deficient IL-12(p35) gene expression by dendritic cells derived from neonatal monocytes. **J Immunol**, v. 166, n. 3, p. 2141-6, Feb 1 2001. ISSN 0022-1767 (Print) 0022-1767 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11160266 >.

GOSWAMI, S. et al. Divergent functions for airway epithelial matrix metalloproteinase 7 and retinoic acid in experimental asthma. **Nat Immunol**, v. 10, n. 5, p. 496-503, May 2009. ISSN 1529-2916. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19329997> >.

GOVERSE, G. et al. Vitamin A Controls the Presence of ROR γ + Innate Lymphoid Cells and Lymphoid Tissue in the Small Intestine. **J Immunol**, v. 196, n. 12, p. 5148-55, 06 2016. ISSN 1550-6606. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27183576> >.

GUILLIAMS, M. et al. Skin-draining lymph nodes contain dermis-derived CD103(-) dendritic cells that constitutively produce retinoic acid and induce Foxp3(+) regulatory T cells. **Blood**, v. 115, n. 10, p. 1958-68, Mar 2010. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20068222> >.

HALL, J. A. et al. Essential role for retinoic acid in the promotion of CD4(+) T cell effector responses via retinoic acid receptor alpha. **Immunity**, v. 34, n. 3, p. 435-47, Mar 2011. ISSN 1097-4180. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21419664> >.

_____. The role of retinoic acid in tolerance and immunity. **Immunity**, v. 35, n. 1, p. 13-22, Jul 22 2011. ISSN 1097-4180 (Electronic) 1074-7613 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21777796> >.

HALLWIRTH, U. et al. Monocyte phagocytosis as a reliable parameter for predicting early-onset sepsis in very low birthweight infants. **Early Hum Dev**, v. 67, n. 1-2, p. 1-9, Apr 2002. ISSN 0378-3782 (Print) 0378-3782 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11893430 >.

HAMMERSCHMIDT, S. I. et al. Retinoic acid induces homing of protective T and B cells to the gut after subcutaneous immunization in mice. **J Clin Invest**, v. 121, n. 8, p.

3051-61, Aug 2011. ISSN 1558-8238. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21737878> >.

HJERTSON, M. et al. Retinoic acid inhibits in vitro development of mast cells but has no marked effect on mature human skin tryptase- and chymase-positive mast cells. **J Invest Dermatol**, v. 120, n. 2, p. 239-45, Feb 2003. ISSN 0022-202X (Print) 0022-202X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12542529> >.

IMDAD, A. et al. Vitamin A supplementation for preventing morbidity and mortality in children from 6 months to 5 years of age. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 12, p. CD008524, Dec 2010. ISSN 1469-493X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21154399> >.

INDREVÆR, R. L. et al. IRF4 Is a Critical Gene in Retinoic Acid-Mediated Plasma Cell Formation and Is Deregulated in Common Variable Immunodeficiency-Derived B Cells. **J Immunol**, v. 195, n. 6, p. 2601-11, Sep 2015. ISSN 1550-6606. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26276871> >.

IWATA, M.; ESHIMA, Y.; KAGECHIKA, H. Retinoic acids exert direct effects on T cells to suppress Th1 development and enhance Th2 development via retinoic acid receptors. **Int Immunol**, v. 15, n. 8, p. 1017-25, Aug 2003. ISSN 0953-8178 (Print) 0953-8178 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12882839> >.

IWATA, M. et al. Retinoic acid imprints gut-homing specificity on T cells. **Immunity**, v. 21, n. 4, p. 527-38, Oct 2004. ISSN 1074-7613. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15485630> >.

KHALIL, S. et al. Retinoids: a journey from the molecular structures and mechanisms of action to clinical uses in dermatology and adverse effects. **J Dermatolog Treat**, v. 28, n. 8, p. 684-696, Dec 2017. ISSN 1471-1753. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28318351> >.

KHEIROURI, S.; ALIZADEH, M. Decreased serum and mucosa immunoglobulin A levels in vitamin A and zinc-deficient mice. **Cent Eur J Immunol**, v. 39, n. 2, p. 165-9, 2014. ISSN 1426-3912. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26155118> >.

KHOO, J. J.; FORSTER, S.; MANSELL, A. Toll-like receptors as interferon-regulated genes and their role in disease. **J Interferon Cytokine Res**, v. 31, n. 1, p. 13-25, Jan 2011. ISSN 1557-7465 (Electronic) 1079-9907 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21198355> >.

KIM, M. H.; TAPAROWSKY, E. J.; KIM, C. H. Retinoic Acid Differentially Regulates the Migration of Innate Lymphoid Cell Subsets to the Gut. **Immunity**, v. 43, n. 1, p. 107-

19, Jul 2015. ISSN 1097-4180. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26141583> >.

KINOSHITA, T. et al. Retinoic acid is a negative regulator for the differentiation of cord blood-derived human mast cell progenitors. **Blood**, v. 95, n. 9, p. 2821-8, May 1 2000. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10779427> >.

MA, L. J. et al. Trans-epithelial immune cell transfer during suckling modulates delayed-type hypersensitivity in recipients as a function of gender. **PLoS One**, v. 3, n. 10, p. e3562, 2008. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18958163> >.

MA, Y.; CHEN, Q.; ROSS, A. C. Retinoic acid and polyribonucleosinic:polyribocytidylic acid stimulate robust anti-tetanus antibody production while differentially regulating type 1/type 2 cytokines and lymphocyte populations. **J Immunol**, v. 174, n. 12, p. 7961-9, Jun 2005. ISSN 0022-1767. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15944302> >.

MA, Y.; ROSS, A. C. The anti-tetanus immune response of neonatal mice is augmented by retinoic acid combined with polyribonucleosinic:polyribocytidylic acid. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 102, n. 38, p. 13556-61, Sep 2005. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16157890> >.

MARQUEZ, H. A.; CARDOSO, W. V. Vitamin A-retinoid signaling in pulmonary development and disease. **Mol Cell Pediatr**, v. 3, n. 1, p. 28, Dec 2016. ISSN 2194-7791. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27480876> >.

MOHAMMADZADEH HONARVAR, N. et al. Retinyl Palmitate Supplementation Modulates T-bet and Interferon Gamma Gene Expression in Multiple Sclerosis Patients. **J Mol Neurosci**, v. 59, n. 3, p. 360-5, Jul 2016. ISSN 1559-1166. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27122150> >.

MOORE, C. et al. Retinoic acid generates regulatory T cells in experimental transplantation. **Transplant Proc**, v. 43, n. 6, p. 2334-7, Jul-Aug 2011. ISSN 1873-2623 (Electronic) 0041-1345 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21839265> >.

MORA, J. R. et al. Generation of gut-homing IgA-secreting B cells by intestinal dendritic cells. **Science**, v. 314, n. 5802, p. 1157-60, Nov 17 2006. ISSN 1095-9203 (Electronic) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17110582> >.

MORA, J. R.; IWATA, M.; VON ANDRIAN, U. H. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. **Nat Rev Immunol**, v. 8, n. 9, p. 685-98, Sep

2008. ISSN 1474-1733 (Print) 1474-1733 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19172691> >.

MORIKAWA, K.; NONAKA, M. All-trans-retinoic acid accelerates the differentiation of human B lymphocytes maturing into plasma cells. **Int Immunopharmacol**, v. 5, n. 13-14, p. 1830-8, Dec 2005. ISSN 1567-5769. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16275619> >.

MUCIDA, D.; CHEROUTRE, H. TGFbeta and retinoic acid intersect in immune-regulation. **Cell Adh Migr**, v. 1, n. 3, p. 142-4, 2007 Jul-Sep 2007. ISSN 1933-6926. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19262136> >.

NIEDERREITHER, K. et al. Restricted expression and retinoic acid-induced downregulation of the retinaldehyde dehydrogenase type 2 (RALDH-2) gene during mouse development. **Mech Dev**, v. 62, n. 1, p. 67-78, Feb 1997. ISSN 0925-4773 (Print) 0925-4773 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9106168> >.

NIU, C. et al. Vitamin A maintains the airway epithelium in a murine model of asthma by suppressing glucocorticoid-induced leucine zipper. **Clin Exp Allergy**, v. 46, n. 6, p. 848-60, Jun 2016. ISSN 1365-2222. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26399569> >.

OKAYASU, I. et al. Vitamin A Inhibits Development of Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis and Colon Cancer in a Mouse Model. **Biomed Res Int**, v. 2016, p. 4874809, 2016. ISSN 2314-6141. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27298823> >.

OLIVEIRA, L. M.; TEIXEIRA, F. M. E.; SATO, M. N. Impact of Retinoic Acid on Immune Cells and Inflammatory Diseases. **Mediators Inflamm**, v. 2018, p. 3067126, 2018. ISSN 1466-1861. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30158832> >.

PENNY, H. L. et al. Restoring Retinoic Acid Attenuates Intestinal Inflammation and Tumorigenesis in APCMin/+ Mice. **Cancer Immunol Res**, v. 4, n. 11, p. 917-926, Nov 2016. ISSN 2326-6074. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27638841> >.

PINO-LAGOS, K. et al. A retinoic acid-dependent checkpoint in the development of CD4+ T cell-mediated immunity. **J Exp Med**, v. 208, n. 9, p. 1767-75, Aug 29 2011. ISSN 1540-9538 (Electronic) 0022-1007 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21859847> >.

RAVERDEAU, M. et al. Retinoic acid suppresses IL-17 production and pathogenic activity of $\gamma\delta$ T cells in CNS autoimmunity. **Immunol Cell Biol**, v. 94, n. 8, p. 763-73,

09 2016. ISSN 1440-1711. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27089940> >.

RIGOPOULOS, D. et al. Comparison of topical retinoids in the treatment of acne. **Clin Dermatol**, v. 22, n. 5, p. 408-11, 2004 Sep-Oct 2004. ISSN 0738-081X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15556727> >.

ROSE, S. et al. Murine neonatal CD4+ cells are poised for rapid Th2 effector-like function. **J Immunol**, v. 178, n. 5, p. 2667-78, Mar 1 2007. ISSN 0022-1767 (Print) 0022-1767 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17312108 >.

RUANE, D. et al. Lung dendritic cells induce migration of protective T cells to the gastrointestinal tract. **J Exp Med**, v. 210, n. 9, p. 1871-88, Aug 2013. ISSN 1540-9538. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23960190> >.

SABOOR-YARAGHI, A. A. et al. The Effect of Vitamin A Supplementation on FoxP3 and TGF- β Gene Expression in Avonex-Treated Multiple Sclerosis Patients. **J Mol Neurosci**, v. 56, n. 3, p. 608-12, Jul 2015. ISSN 1559-1166. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25985851> >.

SAKAI, Y. et al. The retinoic acid-inactivating enzyme CYP26 is essential for establishing an uneven distribution of retinoic acid along the antero-posterior axis within the mouse embryo. **Genes Dev**, v. 15, n. 2, p. 213-25, Jan 15 2001. ISSN 0890-9369 (Print) 0890-9369 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11157777> >.

SANKARANARAYANAN, S. et al. Neonatal-age treatment with vitamin A delays postweaning vitamin A deficiency and increases the antibody response to T-cell dependent antigens in young adult rats fed a vitamin A-deficient diet. **J Nutr**, v. 137, n. 5, p. 1229-35, May 2007. ISSN 0022-3166 (Print) 0022-3166 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17449586> >.

SCHUSTER, G. U.; KENYON, N. J.; STEPHENSEN, C. B. Vitamin A deficiency decreases and high dietary vitamin A increases disease severity in the mouse model of asthma. **J Immunol**, v. 180, n. 3, p. 1834-42, Feb 1 2008. ISSN 0022-1767 (Print) 0022-1767 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18209081> >.

SIDDIQUI, K. R.; POWRIE, F. CD103+ GALT DCs promote Foxp3+ regulatory T cells. **Mucosal Immunol**, v. 1 Suppl 1, p. S34-8, Nov 2008. ISSN 1935-3456 (Electronic) 1933-0219 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19079226> >.

STEPHENSON, C. B.; BOROWSKY, A. D.; LLOYD, K. C. Disruption of Rxra gene in thymocytes and T lymphocytes modestly alters lymphocyte frequencies, proliferation, survival and T helper type 1/type 2 balance. **Immunology**, v. 121, n. 4, p. 484-98, Aug 2007. ISSN 0019-2805 (Print) 0019-2805 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17433077> >.

SUN, C. M. et al. Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. **J Exp Med**, v. 204, n. 8, p. 1775-85, Aug 6 2007. ISSN 0022-1007 (Print) 0022-1007 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17620362> >.

SURMAN, S. L. et al. Oral retinyl palmitate or retinoic acid corrects mucosal IgA responses toward an intranasal influenza virus vaccine in vitamin A deficient mice. **Vaccine**, v. 32, n. 22, p. 2521-4, May 2014. ISSN 1873-2518. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24657715> >.

TAKEDA, K. et al. TRAIL identifies immature natural killer cells in newborn mice and adult mouse liver. **Blood**, v. 105, n. 5, p. 2082-9, Mar 1 2005. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15536146> >.

TAN, X. et al. Retinoic acid as a vaccine adjuvant enhances CD8+ T cell response and mucosal protection from viral challenge. **J Virol**, v. 85, n. 16, p. 8316-27, Aug 2011. ISSN 1098-5514 (Electronic) 0022-538X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21653670> >.

TEJÓN, G. et al. Vitamin A Impairs the Reprogramming of Tregs into IL-17-Producing Cells during Intestinal Inflammation. **Biomed Res Int**, v. 2015, p. 137893, 2015. ISSN 2314-6141. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26583087> >.

UEMATSU, S. et al. Regulation of humoral and cellular gut immunity by lamina propria dendritic cells expressing Toll-like receptor 5. **Nat Immunol**, v. 9, n. 7, p. 769-76, Jul 2008. ISSN 1529-2916. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18516037> >.

VAN DE PAVERT, S. A. et al. Maternal retinoids control type 3 innate lymphoid cells and set the offspring immunity. **Nature**, v. 508, n. 7494, p. 123-7, Apr 2014. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24670648> >.

VERHASSELT, V. et al. Breast milk-mediated transfer of an antigen induces tolerance and protection from allergic asthma. **Nat Med**, v. 14, n. 2, p. 170-5, Feb 2008. ISSN 1546-170X (Electronic)

1078-8956 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18223654> >.

VILLAMOR, E.; FAWZI, W. W. Effects of vitamin a supplementation on immune responses and correlation with clinical outcomes. **Clin Microbiol Rev**, v. 18, n. 3, p. 446-64, Jul 2005. ISSN 0893-8512 (Print) 0893-8512 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16020684> >.

VON BOEHMER, H. Oral tolerance: is it all retinoic acid? **J Exp Med**, v. 204, n. 8, p. 1737-9, Aug 6 2007. ISSN 0022-1007 (Print) 0022-1007 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17620364> >.

WANG, C. et al. Retinoic acid determines the precise tissue tropism of inflammatory Th17 cells in the intestine. **J Immunol**, v. 184, n. 10, p. 5519-26, May 15 2010. ISSN 1550-6606 (Electronic) 0022-1767 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20400707> >.

WHO. *Guideline: Vitamin A supplementation in infants and children 6–59 months of age*. Geneva, World Health Organization 2011.

ZHOU, L. et al. Two independent pathways of maternal cell transmission to offspring: through placenta during pregnancy and by breast-feeding after birth. **Immunology**, v. 101, n. 4, p. 570-80, Dec 2000. ISSN 0019-2805 (Print) 0019-2805 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11122462> >.