بررسی تاثیر متیونین بر تعداد سلول های لانگرهانس پوست رت

ناظم، م.ن.[۱*]، سجادیان، س.م.[۲]، محمدی، ک.[۱]، صابری، م.[۳].

دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۷

خلاصه

سلول های لانگرهانس، زیر مجموعه ای از سلول های دندریتیک ساکن اپیدرم می باشند. آنتی بادی ها یا گاماگلوبولین ها از ترکیب آمینواسیدها به وجود می آیند و در نتیجه، سیستم ایمنی می تواند به وسیله آمینواسید جیره تحت تاثیر قرار گیرد. اسیدآمینه ضروری متیونین، از مهم ترین اسیدآمینه های مورد نیاز پستانداران است. نشان داده شده که کمبود S-آدنوزین متیونین (SAM) باعث تضعیف سیستم ایمنی می شود.

بر این اساس، هدف این مطالعه، ارزیابی مقادیر متفاوت متیونین داخل صفاقی بر تعداد سلول های لانگرهانس پوست رت بود.

۴۰ رت ماده هم سن به صورت تصادفی به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند. گروه های تیمار به ترتیب ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم متیونین داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز دریافت کردند. پس از کشتار، لایه های اپیدرم، درم و نیز سلول های لانگرهانس پوست ارزیابی گردید.

با مشاهده ضخامت اپیدرم و درم، اختلافی بین گروه ها دیده نشد. یافته های هیستوپاتولوژی، خونریزی یا التهابی را بین گروه های تیمار و کنترل نشان نداد.

نتایج بدست آمده نشان داد که متیونین نمی تواند تعداد سلول های لانگرهانس را در پوست سالم تغییر دهد.

واژه‌های کلیدی: متیونین، سلول لانگرهانس، هیستومورفومتری، رت.

---

۱. بخش علوم تشریح دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
۲. دانش آموخته بخش علوم تشریح دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۳. بخش علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
*نویسنده مسئول: nnazem@uk.ac.ir

مقدمه

پوست بزرگترین ارگان بدن می باشد که شامل دو لایه اپیدرم و درم است. در زیر درم، بافت همبند سست‌تری با نام هیپودرم قرار دارد (Bonifant و Holloway، ۲۰۱۹).

مونوسیت های خون پس از مهاجرت به بافت، به ماکروفاژ تغییر نام می دهند. این ماکروفاژها در اپیدرم پوست، سلول های لانگرهانس نامیده می شوند. سلول های لانگرهانس پوست، سلول های دندریتیک ارائه کننده آنتی ژن در اپی درم بدن هستند و در این مناطق دستگاه بسیار کارآمدی برای به دام انداختن آنتی ژنهای وارده به اپی درم تشکیل می دهند. این سلول ها، در مغز استخوان تکوین یافته، سپس وارد جریان خون شده و سرانجام به اپی تلیوم سنگفرشی مطبق پوست مهاجرت می کنند (Nazem و همکاران، ۲۰۱۳).

آنتی بادی ها یا گاماگلوبولین ها از ترکیب آمینواسیدها به وجود می آیند و در نتیجه، سیستم ایمنی می تواند به وسیله آمینواسید جیره تحت تاثیر قرار گیرد. اسیدآمینه ضروری متیونین، از مهمترین اسیدآمینه های مورد نیاز پستانداران است. گرچه خود سیستئین برای پستانداران یک اسید آمینه ضروری به حساب نمی آید، ولی فقط می تواند از متیونین سنتز شود و بنابراین تأمین هر یک از دو اسید آمینه متیونین یا سیستئین در جیره ضروری به نظر می رسد(۲۴). L – متیونین، اسید آمینه ای ضروری است که متابولیت اولیه در فرآیند انتقال متیل و سولفور می باشد. S- آدنوزیل- L متیونین (SAM) که محصول آدنوزیل شدن متیونین است، نقش مهمی در سیستم ایمنی ایفا می کند. همچنین گلوتاتیون نقش مهمی در تنظیم سیستم ایمنی عهده دار است. مطالعات مختلفی، اثر اسید آمینه متیونین را بر سیستم ایمنی طیور و سایر پستانداران بررسی و اثبات کرده اند (Bauer و همکاران، ۲۰۱۲؛ Burrin و Stoll، ۲۰۰۷؛ Nazem و همکاران، ۲۰۱۳؛).

با توجه به نقش متیونین به عنوان اولین اسیدآمینه محدود شونده در بدن، هدف از مطالعه حاضر، شناخت و ارزیابی تغییرات تعداد سلول های دندریتیک اپیدرم پوست سالم (سلول های لانگرهانس) به دنبال تزریق داخل صفاقی متیونین در رت بوده است.

مواد و روش کار

کلیه مراحل این مطالعه، بر اساس مقررات و قوانین حمایت از حقوق حیوانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان صورت پذیرفت. تعداد ۴۰ رت بالغ ماده هم سن (حدود ۳ ماهه) و تقریباً هم وزن (تقریباً ۱۰±۲۰۰ گرم)، به مدت ۵ روز در شرایط آزمایشگاه (دمای ۲±۲۴ و رطوبت ۳۲٪) نگهداری شدند تا با شرایط محیط، سازگار گردند و سپس به طور تصادفی به ۴ گروه ، شامل ۱۰ رت در هر گروه تقسیم شدند.

محلول تزریقی

در این مطالعه، از دی–ال متیونین به صورت پودر کریستالی به رنگ سفید متمایل به زرد با خلوص ۹۹ درصد (شارلو، اسپانیا) استفاده شد.

به منظور استریل کردن محلول آب مقطر و متیونین، پس از آنکه میزان متیونین هر گروه در آب مقطر استریل ریخته شد و حدود ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه قرار گرفت، با عبور از فیلتر ۰/۲۲ میکرون، استریلیزاسیون انجام شد (Coelho، ۲۰۰۷).

روش انجام آزمایش

در این مطالعه با توجه به مدت زمان تزریق متیونین در مطالعات قبلی، مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم متیونین به ازای هر کیلوگرم در نیم سی سی محلول استریل بر اساس منابع موجود حل و محلول های آماده شده، به مدت ۱۰ روز از طریق داخل صفاقی به ترتیب به گروه های تیمار تزریق گردید (Coelho، ۲۰۰۷). به اعضای گروه شاهد نیز روزانه نیم سی سی آب مقطر استریل از طریق داخل صفاقی تزریق شد. بر این اساس گروه‌ها شامل گروه کنترل، دریافت کننده ۵۰ میلی‌گرم متیونین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، دریافت کننده ۱۰۰ میلی‌گرم متیونین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم متیونین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن شدند.

در این مطالعه با توجه به مدت زمان لازم برای ایجاد و بلوغ مونوسیت ها و ماکروفاژها (Nazem و همکاران، ۲۰۱۶) پس از ۱۰ روز، حیوانات با تزریق داخل قلبی تیوپنتال سدیم به روش انسانی کشتار و از پوست جانبی ناحیه سینه در سمت راست در محل آخرین دنده به اندازه ۱ سانتی متر مربع به سمت دنده های قدامی با استفاده از اسکالپل، نمونه گیری صورت گرفت. محل نمونه گیری، با توجه به سهولت و نیز دور بودن از محل تزریق به منظور اجتناب از هرگونه تداخل با واکنش های التهابی احتمالی ناشی از تزریق،

انتخاب شد. نمونه ها ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰٪ نگهداری و پس از تعویض فرمالین، به مدت ۱۰ روز در فرمالین ۱۰٪ فیکس گردیدند. پس از طی مراحل فیکساسیون، از نمونه ها بلوک تهیه و مقاطعی به ضخامت ۵ میکرون به گونه ای که کل ضخامت پوست (اپیدرم و درم) را شامل باشد، میانگین ضخامت درم و ضخامت اپیدرم در بین گروه های مختلف به واسطه میکروسکوپ نوری با استفاده از لنز دیجیتال (Dino-eye, AM-7023, 5Mp, Taiwan) اندازه گیری گردید. همچنین به منظور بررسی روند ادم و آماس احتمالی بافت، رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین صورت گرفت و نمونه ها با میکروسکوپ نوری مورد ارزیابی واقع شدند.

در ادامه، نمونه ها با استفاده از رنگ آمیزی ایمینوهیستوشیمی با استفاده از آنتی بادی اختصاصی CD1a (Dako, M0721, df; 1:100, Denmark) که اختصاصی سلول های لانگرهانس در نمونه های سالم و پاتولوژیک می باشد رنگ آمیزی گردیدند(۱۶). برای شمارش موارد، از میکرومتر چشمی (Zeiss, CPL W 10*/18) در بزرگنمایی ۴۰۰ استفاده شد. برای شمارش سلول های لانگرهانس، حداقل ۱۰ ناحیه مختلف، شمارش شد و سپس میانگین سلول ها در این ۱۰ فیلد محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی مراحل کمی، توسط نرم افزار آماری SPSS(16 Chicago. U.S.A) و روش آماری One - Way Anova مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از آزمون چند دامنه‌ای توکی جهت تعیین معنی داری بین گروه های آزمایشی بهره گرفته شد. در مطالعه حاضر، P<0/05 معنی دار تلقی شده است.

نتایج

ارزیابی هیستومتری اپیدرم

بر اساس نتایج به دست آمده، ضخامت اپیدرم در گروه‌های کنترل، دریافت کننده ۵۰ میلی گرم، دریافت کننده ۱۰۰ میلی گرم و دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم متیونین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب ۱۲۹/۰۹±۳۴/۷۵، ۱۴۸/۳±۱۱/۸۶، ۱۴۸/۱۶±۲۷/۰۱ و ۱۱۰/۷۳±۸/۲۱ میکرومتر بود. نتایج نشان داد که افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم متیونین، سبب افزایش ضخامت اپیدرم نسبت به گروه کنترل گردید اما این افزایش، معنادار نبود (P>0.05). همانطور که در گروه دریافت کننده‌ی ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم متیونین دیده می‌شود، ضخامت اپیدرم از گروه کنترل نیز کمتر شد که بیانگر تاثیر منفی این میزان متیونین بر ضخامت اپیدرم پوست می‌بود (جدول ۱).

ارزیابی هیستومتری درم

بر اساس نتایج به دست آمده، ضخامت درم در گروه های کنترل، دریافت کننده ۵۰ میلی گرم، دریافت کننده ۱۰۰ میلی گرم و دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم متیونین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مطابق با جدول شماره یک به دست امد . بررسی ضخامت درم در گروه‌های دریافت کننده‌ی متیونین، بیانگر کاهش غیر معنی دار (P>0.05) ضخامت درم نسبت به گروه کنترل بود. به بیان دیگر، متیونین سبب کاهش ضخامت درم نسبت به گروه کنترل گردید که با افزایش میزان این مکمل، کاهش بیشتری مشاهده شد (جدول ۱).

ارزیابی تعداد سلول های لانگرهانس اپیدرم با استفاده از رنگ آمیزی ایمینوهیستوشیمی

نتایج رنگ آمیزی پوست با آنتی بادی اختصاصی CD1a نشان داد که تعداد سلول های لانگرهانس موجود در لایه اپیدرم پوست در هیچکدام از گروه های تیمار و شاهد اختلاف معناداری نداشت. بر این اساس تعداد این سلول ها در گروه کنترل، ۰٫۶ و در گروه های تیمار دریافت کننده ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم متیونین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به ترتیب ۰٫۴، ۰٫۶ و ۰٫۶ بود که هیچ اختلاف معناداری با هم نداشتند(P>0.05) (جدول ۱).

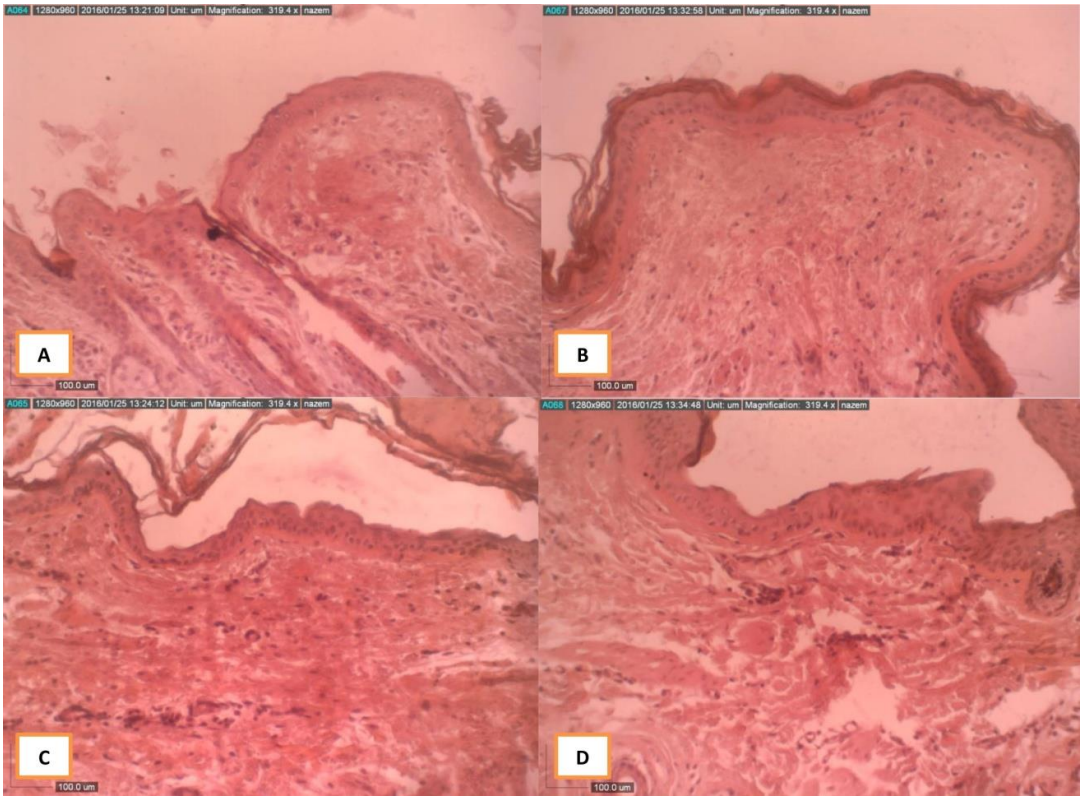
ارزیابی هیستوپاتولوژی

یافته‌های هیستوپاتولوژی، هیچ اثری از آماس و التهاب بافتی را نشان نمی‌داد. به بیان دیگر، پراکندگی سلول‌های ایمنی در تمام نمونه‌های کنترل و تیمار، مشابه و یکنواخت بود که حکایت از عدم وجود هر گونه التهاب و آماس داشت (تصویر ۱).

جدول ۱. اطلاعات مربوط به تاثیر مقادیرمختلف متیونین بر پارامترهای هیستومتری پوست*

	تعداد سلول لانگرهانس اپیدرم	تعداد سلول دندریتیک درم	ضخامت درم Mean ± SE	ضخامت اپیدرم Mean± SE
کنترل	۰,۶±۰,۴	۱,۴±۰,۵۱	۱۹۹۱/۲±۴۲/۳۶	۱۲۹/۰۹±۳۴/۷۵
۵۰ میلی‌گرم متیونین	۰,۴±۰,۲	۱,۲±۰,۳۷	۱۹۱۲/۲۵±۱۶۸/۶۷	۱۴۸/۳±۱۱/۸۶
۱۰۰ میلی‌گرم متیونین	۰,۶±۰,۳۷	۱±۰,۴۵	۱۵۸۸/۹±۱۶۶/۱۴	۱۴۸/۱۶±۲۷/۰۱
۲۰۰ میلی‌گرم متیونین	۰,۶±۰,۴	۱,۲±۰,۲۳	۱۶۹۷/۳۱±۱۰۲/۱۷	۱۱۰/۷۳±۸/۲۱

*اندازه های مربوط به ضخامت، بر اساس میکرومتر می باشند.



تصویر ۱. مقایسه هیستوپاتولوژی گروه های کنترل و تیمار. هیچ گونه یافته هیستوپاتولوژیکی مبنی بر التهاب در گروه های تیمار در مقایسه با گروه کنترل دیده نمی شود (A: گروه کنترل، B: گروه Met 50، C: گروه Met 100، D: گروه Met 200 رنگ امیزی هماتوکسیلین و ائوزین).

بحث

افزایش ضخامت اپیدرم در موارد مواجهه پوست با سطوح زبر و نیز تابش پرتوهای UV دیده شده است (Mildner و همکاران، ۲۰۰۷ و ۲۰۱۰). در مطالعه حاضر، افزایش ضخامت اپیدرم در گروه‌های مصرف کننده متیونین را می‌توان به حضورعامل گوگرد در این اسیدآمینه و مشارکت این ماده در ساخت ماتریکس زمینه ای توجیه کرد (Bonifant و Holloway، ۲۰۱۹). تخریب دیرتر این لایه، یکی از عوامل افزایش ضخامت و ماندگاری بیشتر آن می باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که تغییری در تعداد سلول های لانگرهانس گروه های تیمار در مقایسه با گروه شاهد به وجود نیامده است. امروزه اطلاعات نشان می دهند که بسیاری از زیرمجموعه های ماکروفاژها و بیشتر سلول های دندریتیک در بافت های غیر لنفوئیدی و ارگان های ثانویه لنفوئیدی موش، خاستگاه یا جایگزینی شان از طریق سلول های بنیادین مغز استخوان می باشد. نتایج نشان می دهد که مونوسیت ها و سلول های کلاسیک دندریتیک به طور مداوم از تکثیر مغز استخوان تجدید می شوند (Bonifant و Holloway، ۲۰۱۹). در مطالعه ای مشخص شده که سلول های لانگرهانس به عنوان یک پاسخگو در بیمارانی که تحت عمل جراحی پیوند پوست قرار گرفته اند از مغز استخوان به وجود آمده اند (Kohli و Pillarisetty، ۲۰۲۰). این امکان وجود دارد که سلول های پیش ساز موجود در اپیدرم، حوالی روز ۱۸ جنینی از سلول های مشتق شده از مغز استخوان به اپیدرم وارد گردند. همچنین این امکان وجود دارد که پیش سازهای لانگرهانس اپیدرم، از کبد جنین یا کیسه زرده مشتق شده باشند (Dooley و همکاران، ۲۰۱۱). مسیر تکثیر مستقل از مغز استخوان برای تکامل و تجدید فاگوسیت های تک هسته ای که توسط برخی محققین شرح داده شده می تواند برای اندام ها از جمله اپیدرم مورد استفاده قرار گیرد. جمع بندی مطالب فوق نشان می دهد که سلول های لانگرهانس پوست، در یک مسیر چرخه ای حضور دارند. فرض بر این است که سلول های پیش ساز لانگرهانس پوست در درم یا در فولیکول های مو یا در سلول هایی که در حال تکثیر پیش سازهای لانگرهانس در پوست جنین یا تازه متولدین هستند یافت شوند (Chorro و همکاران، ۲۰۰۹). از طرف دیگر، مونوسیت ها می توانند به سلول های شبه لانگرهانس در بدن تبدیل شوند و سلول های لانگرهانس می توانند به وسیله سلول های مشتق شده از مغز استخوان جایگزین گردند (Dooley و همکاران، ۲۰۱۱). بدین ترتیب ماهیت و طبیعت درونی سلول های پیش ساز لانگرهانس روشن نیست. به طور کلی، سلول های لانگرهانس اپیدرم گرچه جزو رده میلوئیدی ها هستند اما دیده شده که در بافت ها و به طور مستقل از مغز استخوان دوباره به وجود می آیند و جایگزین سلول های قبلی می شوند که در لایه های درم یا سلول های پیش ساز اپیدرم وجود دارند (Chorro و همکاران، ۲۰۰۹). با توجه به این مطالب، این فرضیه به وجود می آید که متیونین فاقد توانایی احتمالی در اثرگذاری بر سلول های مغز استخوان به منظور تکثیر و تولید مونوسیت هاست تا در ادامه به سلول های لانگرهانس تبدیل شوند. از طرفی با توجه به آن دسته از مطالعات فوق که ازدیاد سلول های لانگرهانس را به تزاید این سلول ها در اپیدرم مربوط می دانند، این نتیجه به دست می آید که متیونین احتمالا فاقد اثر تحریکی بر تکثیر سلول های لانگرهانس اپیدرم می باشد.

TGF-beta1 یک تنظیم کننده اساسی رشد و نمو و عملکرد سلول های ایمنی می باشد. TGF-beta1، یک سایتوکاین قوی سرکوبگر سیستم ایمنی می باشد که کنترل تعادل حالت پایدار سیستم ایمنی، پاسخ التهابی و بقای تحمل خودی را بر عهده دارد. TGF-beta1 مخصوصا از این جهت که سبب ثبات و نگهداری ایمنی پوست است، حائز اهمیت می باشد. کمبود TGF-B1 منجر به کاهش تعداد سلول های لانگرهانس پوست می شود که بیانگر اثر مستقیم TGF-B1 بر تمایز سلول لانگرهانس است. TGF-B1 تمایز سلول های لانگرهانس را از طریق گیرنده ALK3 تیپ I پیش می برد. TGF-B1 یک لیگاند کلاسیک برای ALK5 است در حالی که گیرنده های ALK2 و ALK3 توسط TGF-B1 و BMP فعال می شوند (Fogg و همکاران، ۲۰۰۶؛ Yasminو همکاران، ۲۰۱۳). با توجه به عدم تغییر در تعداد سول های لانگرهانس گروه های دریافت کننده متیونین نسبت به گروه کنترل چنین به نظر می رسد متیونین بر میزان TGF-B1 بی اثر باشد.

تکامل سلول های لانگرهانس به وسیله گیرنده های M-CSF و TGF-beta1 کنترل می شود (Allan و همکاران، ۲۰۰۶). مهاجرت لکوسیت ها به اپیدرم و به طور

کلی مشاهده آنها در حالت سلامت پوست، بسیار نادر است. زمانی مهاجرت و تکثیر آنها مشاهده می شود که یک رخداد التهابی روی دهد. به بیان دیگر التهاب پوست به واسطه مهاجرت و تحرک سلول های لانگرهانس به غدد لنفاوی رخ می دهد. این وضعیت در موارد پیوند پوست نیز دیده شده است (Kohli و Pillarisetty، ۲۰۲۰). سلول دندریتیکی که مورد هدف واقع شود به سمت پوست مهاجرت کرده و در عقده های لنفی تخلیه می شود. نشان داده شده که سلول های دندریتیک، در پوست تحت درمان با داروی ایمیکویمود نیز قابل مشاهده هستند (Meymandi و همکاران، ۲۰۰۹). بنابراین چنین به نظر می رسد با توجه به نظر محققینی که تکثیر و ازدیاد سلول های لانگرهانس را در حضور یک عامل التهابی گزارش نموده اند (Merad و همکاران، ۲۰۰۲؛ Huber و همکاران، ۲۰۱۸)، تا زمانی که عامل محرکی پوست را تحریک نکند تغییری در تعداد سلول های لانگرهانس رخ ندهد. چنین فرضیه ای با توجه به عدم تغییر تعداد سلول های لانگرهانس در مطالعه ما نیز وجود دارد و بنابراین نمی توان از این اسید آمینه به عنوان عاملی در افزایش تعداد سلول های لانگرهانس قبل از تحریکات پوستی استفاده کرد. با توجه به مطالعات قبلی و مطالعه حاضر می توان اینگونه نتیجه گرفت که

عدم کاهش سلول های لانگرهانس توسط متیونین، بیانگر این امر باشد که این اسید آمینه، فاقد هرگونه خاصیت سرکوبگری و کاهنده سیستم ایمنی در پوست سالم است.

Journal of Veterinary Medicine & Laboratory 14(2022-23) 213-221

Evaluation the effect of the methionine on the number of the skin Langerhans cells in the rat

Nazem MN[1*], Mohammadi K[2], Sayed Mohsen Sajjadian[1], Saberi M[3]

Received: 06.06.2022 Accepted: 16.02.2023

Abstract

Langerhans cells (Lc) are a subset of dendritic cells that reside in the epidermis. Antibodies or immunoglobulins arise from a combination of amino acids and as a result, the immune system can be affected by dietary amino acid.

Methionine, in particular, is a vital amino acid for mammals, and studies have shown that a deficiency in S-adenosine methionine (SAM) can lead to a weakened immune system So, the aim of this study was to evaluate the effect of different levels of intra peritoneal methionine on LC numbers in rat.

Forty female rats of the same age were divided randomly into the four equal groups. Treatment groups received a daily corresponding dose of L-methionine (50, 100 and 200 mg/kg B.W.; i.p.) for 10 consequent days. After slaughtering, epidermis,dermis. and Langerhans cells were

The results in the epidermis and dermis showed no difference in the thickness of these layers in all groups. Histopathologic findings did not display any congestion or inflammatory cells infiltration in all treatment groups compare to the controls.

Obtained results revealed that methionine cannot change the number of Langerhans cells in healthy skin.

Keywords: Methionine, Langerhans cell, Histomorphometry, Rat

1.Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

2. Post Graduate Student of Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, kerman, Iran.

3. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

[*]**Corresponding author:** nnazem@uk.ac.ir

منابع

Bonifant, H., Holloway, S. 2019. A review of the effects of ageing on skin integrity and wound healing. British Journal of Community Nurse. **24**, S28-S33.

Nazem, M.N., Rezaian, M., Adib Moradi, M., Asadi Fuzi, M., Kyaei, S.M.M., Razavi Ebrahim, P. 2013. The effect of oral administration of coated methionine on the female goats and suckling kids hair follicles: A histomorphometrical approach. Journal of Veterinary Research. **68**(1), 61-68.

Allan, R.S., Waithman, J., Bedoui, S., Jones, C.M., Villadangos, J.A., Zhan, Y., Lew, A.M., Shortman, K., Heath, W.R., Carbone, F.R. 2006. Migratory dendritic cells transfer antigen to a lymph node-resident dendritic cell population for efficient CTL priming. Immunity. **25**, 153–162.

Kohli, K., Pillarisetty, V.G. 2020. Dendritic Cells in the tumor icroenvironment. Advances in Experimental and Medical Biology. 1273:29-38. doi: 10.1007/978-3-030-49270-0_2. PMID: 33119874.

Bauer, T., Zagórska, A., Jurkin, J., Yasmin, N., Köffel, R., Richter, S., Gesslbauer, B., Lemke, G., Strobl, H. 2012. Identification of Axl as a downstream effector of TGF-B1 during Langerhans cell differentiation and epidermal homeostasis. Journal of Experimental Medicine. **209**(11), 2033-2047.

Burrin, D.G., Stoll, B., 2007. Emerging aspects of gut sulfur amino acid metabolism. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. **10**(1), 8-63.

Chorro, L., Sarde, A., Li, M., Woollard, K.J., Chambon, P., Malissen, B., Kissenpfennig, A., Barbaroux, J.B., Groves, R., Geissmann, F. 2009. Langerhans cell (LC) proliferation mediates neonatal development, homeostasis, and inflammation-associated expansion of the epidermal LC network. Journal of Experimental Medicine. **206**, 3089–3100.

Coelho, C.S. 2007. Increase in dermal collagen fibril diameter and elastogenesis with UVB exposure: an optical and ultrastructural study in albino Balb/c mice. Acta Dermatovenerologica Croatica Journal. **15**(2), 65-71.

Dooley, M., Peebles, E.D., Zhai, W., Mejia, L., Zumwalt, C.D., Corzo, A. 2011. Effects of L-carnitine via in ovo injection with or without L-carnitine feed supplementation on broiler hatchability and post-hatch performance. The Journal of Applied Poultry Research. **20**, 491–497.

Fogg, D.K., Sibon, C., Miled, C., Jung, S., Aucouturier, P., Littman, D.R., Cumano, A., Geissmann, F. 2006. A clonogenic bone marrow progenitor specific for macrophages and dendritic cells. Science. **311**, 83–87.

Huber, A., Dammeijer, F., Aerts, J.G.J.V., Vroman, H. 2018. Current State of Dendritic Cell-Based Immunotherapy: Opportunities for in vitro Antigen Loading of Different DC Subsets? Frontiers Immunology. **9**, 2804. doi: 10.3389/fimmu.2018.02804

Merad, M., Manz, M.G., Karsunky, H., Wagers, A., Peters, W., Charo, I., Weissman, I.L., Cyster, J.G., Engleman, E.G. 2002. Langerhans cells renew in the skin throughout life under steady-state conditions. Nature Immunology. **3**, 1135–1141.
Meymandi, S., Dabiri, S., Shamsi-Meymandi, M., Nikpour, H., Kharazmi, A. 2009. Immunophenotypic pattern and cytokine profiles of dry type cutaneous leishmaniasis. Archives of Iranian Medicine. **12** (4): 371 – 376.
Mildner, A., Schmidt, H., Nitsche, M., Merkler, D., Hanisch, U.K., Mack, M., Heikenwalder, M., Brück, W., Priller, J., Prinz, M. 2007. Microglia in the adult brain arises from Ly-6ChiCCR2^{+} monocytes only under defined host conditions. Nature Neuroscience. **10**, 1544–1553.
Mildner, M., Jin, J., Eckhart, L., Kezic, S., Gruber, F., Barresi, C., Stremnitzer, C., Buchberger, M., Mlitz, V., Ballaun, C. 2010. Knockdown of filaggrin impairs diffusion barrier function and increases UV sensitivity in a human skin model. Journal of Investigate Dermatology. **130**, 2286-2294.
Nazem, M.N., Teymouri, M., Jahantigh, M., 2016. The histomorphometric and histopathologic effect of methionine on the epidermis and dermis layers of skin in rat. Comparative Clinical Pathology. **25**, 609–704.
Yasmin, N., Bauer, T., Modak, M., Wagner, K., Schuster, C., Köffel, R., Seyerl, M., Stöckl, J., Elbe-Bürger, A., Graf, D., Strobl, H. 2013. Identification of bone morphogenetic protein 7 (BMP7) as an instructive factor for human epidermal Langerhans cell differentiation. Journal of Experimental Medicine. **210**(12), 2597-2610.