

Yaşın ve Cinsiyetin İnsan Epidermis Kalınlığına ve Melanosit Sayısına Olan Etkilerinin Histolojik Yöntemlerle Araştırılması

The Effects of Age and Sex on The Thickness of Epidermis and The Number of Melanocytes were Determined in Human Skin Samples by Using Histological Methods

Burcu Gültekin, Aydan Canbilen

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji A.D., Konya

Özet

Bu çalışmada, yaşın ve cinsiyetin epidermis kalınlığına ve melanosit sayısına olan etkilerinin histolojik yöntemler yardımıyla belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada değişik yaş gruplarından oluşan 10 erkek ve 10 kadından alınan deri numuneleri %10'luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Deri numunelerine rutin histolojik yöntemler uygulandı ve parafine gömüldü. Epidermiste dermo-epidermal bileşkede yassılaşma ve dermal papillaların sayısında azalma olduğu görüldü. Epidermis kalınlığının yaşa bağlı olarak azaldığı ancak cinsiyetle bu kalınlık arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Ayrıca, yaşla beraber epidermisdeki melanositlerin sayılarında azalmalar bulundu. Melanosit sayısının cinsiyete bağlı olarak değiştiği tespit edildi. Epidermis kalınlığının yaşa bağlı olarak değişip değişmediği test edilmiş değişimin anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,0001$). Bu değişim için korelasyon katsayısı ($r = -0,8047$) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak yaşla beraber epidermis kalınlığı %80 oranında azalmıştır. Epidermis kalınlığı cinsiyetle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p = 0,7622$). Melanosit sayısının yaşa bağlı olarak değişip değişmediği test edilmiş ve bu değişimin anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,0001$) Bu değişim için korelasyon katsayısı ($r = -0,9618$) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak yaşla beraber melanosit sayısı %96 oranında azalmıştır. Ayrıca melanosit sayısı ile cinsiyet karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark görülmüştür ($p = 0,0442$).

Anahtar kelimeler: Epidermis, yaş, cinsiyet, kalınlık, melanosit

Abstract

In this light microscopic study, the effects of age and sex on the thickness of epidermis and the number of melanocytes were determined in human skin samples by using histological methods. Skin samples from a group of various ages including 10 men and 10 women were fixed in 10 % formaldehyde solution. The formalin fixed skin samples were processed using routine histologic procedures and embedded in paraffin. In this study, the most consistent results are in the epidermis of aging individuals is flattening of the dermo-epidermal junction and decreased number of dermal papilla. However, it was found that numbers of melanocytes in epidermis decreased with age and changed with sex. Consequently, there is a significant statistical difference between epidermis thickness and age ($p < 0,0001$). However, a high negative correlation was determined between epidermis thickness and age ($r = -0,8047$). In conclusion epidermal thickness decrease %80 with age. But there is a no significant statistical difference between epidermis thickness and sex ($p = 0,7622$). Also, there is a significant ($p < 0001$) and high negative correlation between the number of melanocytes and age ($r = -0,9618$). The number of melanocyte decrease %96 with age. However, there is a significant difference between the number of melanocytes and sex ($p = 0,0442$).

Key words: Epidermis, age, sex, thickness, melanocyte

GİRİŞ

Yaşlanma, bir sistemin fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlardan kaynaklanan eksojen ve endojen streslere karşı cevap verme yetisinde azalma ile karakterize çok yönlü ve zamana bağımlı kompleks bir olaydır. Deri yaşlanması ise yapısal ve moleküler bozulma ile beraber derinin fonksiyon ve görüntüsünü etkileyen sinsi ve progresif seyreden oldukça karmaşık bir süreçtir ve patogenezini tam olarak anlayamamıştır (1). Yaşlanma hızı, tüm türler ve aynı türün üyeleri arasında şaşırtıcı derecede farklılıklar gösterir (2).

Deri yaşlanmaya bağlı değişikliklerin görünür olduğu en temel organdır. Vücut ile dış çevre arasında bir ara yüzey olarak faaliyet gösteren deri; onu tüm vücuda bağlayan bir çok karmaşık yapı ve mekanizma ile karışık bir organdır. Derinin yaşlanmasına intrinsik, yani genetik olarak belirlenen kronolojik yaşlanma ve ekstrinsik, yani çevresel faktörler katkıda bulunur. İntrinsik yaşlanma neticesi gelişen işlevsel fonksiyonel değişiklikler yara iyileşmesinin de yavaş olmasına neden olur (3). Yaşlanmayla beraber keratinosit sitokinlerinin azalması bağışıklık sisteminin duyarlılığını da azaltır. Melanosit sayılarının azalması da

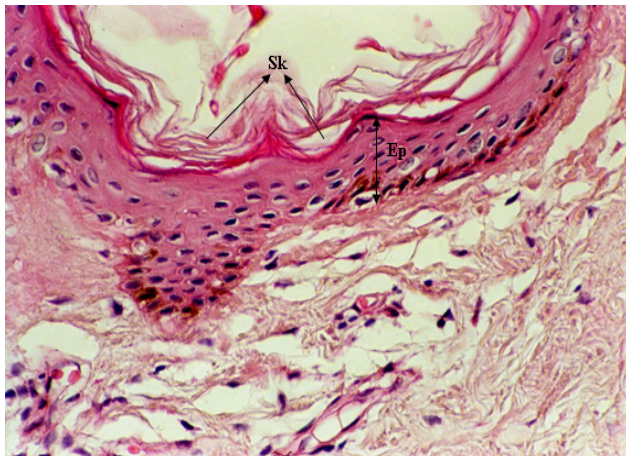
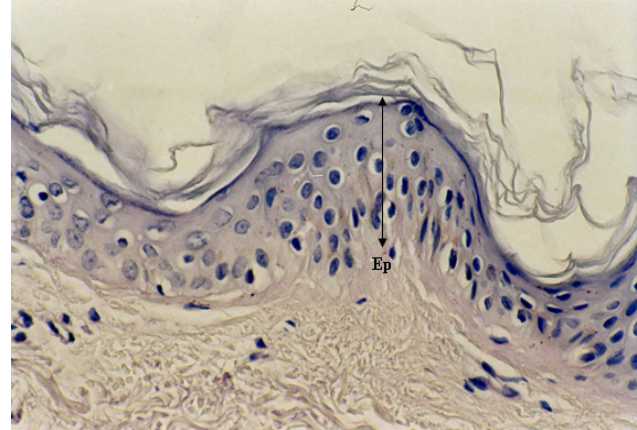
Tablo 1. Mann-Whitney U testinin sonuçları

Değişkenler	Melanosit Sayısı	Epidermis Kalınlığı
Erkek ve Kadın	p=0,0442	P=0,7622
Yaş	p<0,0001	R=-0,9618
	p<0,0001	R=-0,8047

vücudun ultraviyole ışınlarına karşı koruyucu bariyerinin azalmasına neden olur ve yaşlılarda ultraviyoleye bağlı DNA harabiyetinin oluşumunu daha eğilimli kılar. Telomer kromozomun sonunda ardışık olarak dizilmiş nükleotid tekrarından oluşan zincirdir. DNA polimeraz, kromozom replikasyonu sırasında DNA ipliğinin terminal bazlarını transkribe edemediği için her hücre bölünmesi sırasında 150 çift baz uzunluğunda kısalma oluşur (4,5). Böylece yaşlı hücrelerdeki telomer genç hücrelerdekine göre oldukça kısa olmaktadır (6). Telomerdeki aşırı kısalma, hücre siklusunda G1 fazında durma veya apoptozisle sonuçlanır (7,8). Üstelik yaşlılarda DNA onarım oranı da azalmıştır ve böylece deri kanserlerinin gelişim riski artmıştır (9).

Son çalışmalarda; deri yaşlanmasının sonucu olarak oluşan dermal incelme, hipodermal kalınlıktaki artma ve epidermal yapıdaki morfolojik değişiklikler interfoliküler epidermal proliferasyona ve periferik immün hücre bolluğunun azalmasına neden olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular ışığında, çevresel faktörlerden çok asıl kök hücre faktörlerinin deri yaşlanmasını etkilediği tesbit edilmiştir (10).

Somatik kök hücre popülasyonundan olan epidermal kök hücreler derinin epidermis tabakasının tamirinden ve korunmasından sorumludur. Epidermal kök hücre popülasyonunun yaşlanma sırasındaki önemi kendini koruyabilmektedir. Internal dokudaki kök hücrelerden farklı olarak epidermal kök hücreleri yaşlanmaya daha az tepki verirler. Bunların yaşla fonksiyonlarında ya da sayılarında azalma olmaz ve yaşa bağlı reaktif oksijen türlerinin artma ya da gelişiminde, gen ekspresyonunda değişiklikler göstermezler. Bu nedenle epidermal kök hücreleri benzersiz bir somatik kök hücre topluluğu olabilir (28). Bu çalışmanın amacı; yaşla beraber derinin epidermis tabakasında oluşan değişiklikleri histolojik yönden tesbit etmektir.

**Şekil 1.** Yaşlı deri kesiti (70 yaş), H-E, FMB: X132, Ep: Epidermis, Sk: Stratum korneum**Şekil 2.** Genç deri kesiti (26 yaş), PAS, FMB: X132, Ep: Epidermis

GEREÇ ve YÖNTEM

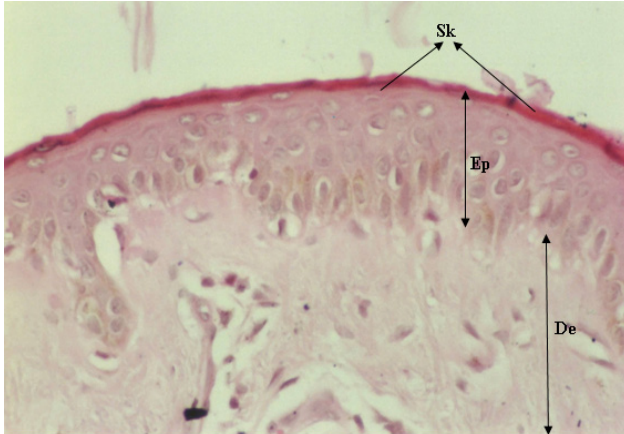
Deri Materyali:

Bu çalışmada Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalında ameliyat edilen değişik yaş gruplarından oluşan 10 kadın ve 10 erkek olmak üzere toplam 20 hastanın ameliyat sonrası abdominal bölgesine ait artık deri örnekleri kullanıldı. (Artık derilerden çalışma yapıldığı için o zaman ki etik kuruluna başvurduğumuzda etik kurul kararına gerek yoktur diye bir belge verdiler.) Alınan deri örnekleri %10 luk formalinde tespit edildi ve histolojik olarak rutin takipleri yapıp bloklandı. Bloklanan dokulardan rotary mikrotomu yardımıyla 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Alınan bu kesitler Hematoksilin-Eosin (H&E), Periodic Acid Schiff (PAS), Toluidin mavisi ve Gümüş nitrat boyaları ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile incelenerek oküler mikrometre yardımıyla epidermis kalınlıkları ölçüldü. Epidermis kalınlığının ölçümünde, bazal membrandan epitel yüzeyine doğru yükseklik ölçümü yapıldı ve ölçümler not edildi. Daha sonra kalınlıklar arası farkın istatistiksel olarak karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi uygulandı.

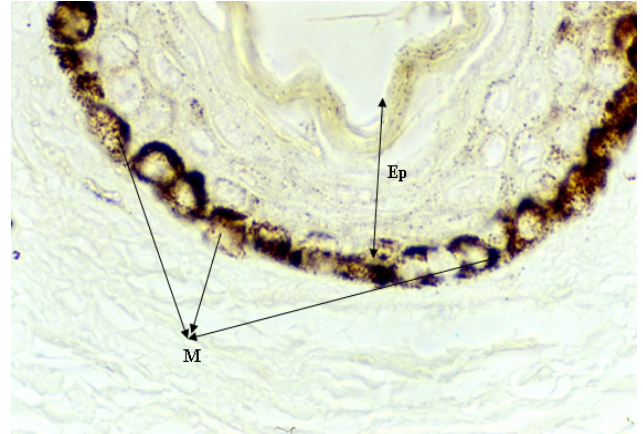
Epidermin bazal tabakasına yerleşmiş olarak bulunan melanosit hücrelerini daha net görebilmek için Gümüş nitrat (Masson Fontana metodu) boyası uygulandı. Işık mikroskobu yardımıyla her preparat için 10 farklı saha seçilip melanositler sayılarak not edildi. Daha sonra sayılmış olan melanositlerin her saha için ortalaması alınıp istatistiksel olarak karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi yapıldı. Ayrıca pigment granüllerinden arınmış boş melanosit hücrelerini göstermek amacıyla melanin bleach metodu 11 uygulandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu (Olympus, BH-2) ile x10, x20, x40 ve x100 büyütmelemlerde incelenerek gerekli görülen bölgelerin fotoğrafları aynı mikroskoba takılı fotoğraf makinesi ile çekildi.

BULGULAR

Değişik yaş gruplarındaki erkek ve kadınlardan alınan abdominal bölgeye ait deri örneklerinin histolojik tespitleri yapıp, boyandıktan sonra hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda incelendi. 6 farklı alanda epidermis kalınlıkları oküler mikrometre ile ölçüldü ve not edildi. Epidermin bazal tabakasına yerleşmiş olarak bulunan melanosit hücreleri ışık mikroskobu altında x100'lük büyütmede 10 farklı sahada



Şekil 3. Erkek bireye ait deri kesiti, H-E, FMB: X132, Sk: Stratum korneum, Ep: Epidermis, De: Dermis



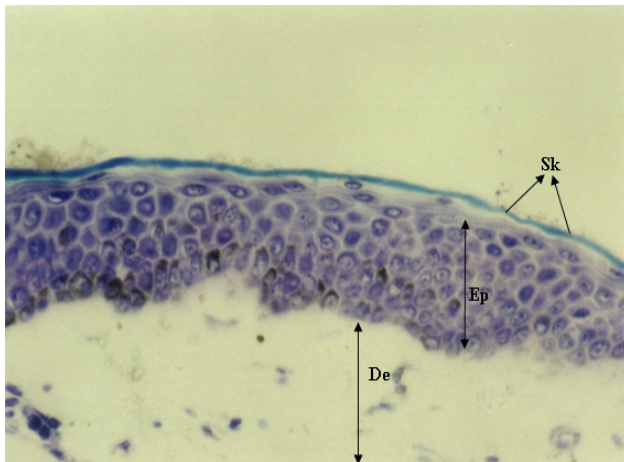
Şekil 5: 28 yaşındaki bireye ait deri kesiti, Masson Fontana, FMB:X330, Ep: Epidermis, M: Melanosit

sayıldı ve not edildi. Daha sonra her saha için ortalamalar alınıp istatistiksel olarak karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi yapıldı (Tablo 1, Şekil 7, Şekil 8). Yaş ilerledikçe epidermis kalınlığında azalmalar tesbit edildi (Şekil 1-2). Farklı cinsiyete ait epidermis kalınlıkları arasında bir fark görülmedi (Şekil 3-4). Yaş ilerledikçe melanositlerin sayılarında azalma görüldü (Şekil 5). Masson-Fontana metoduyla boyanan preparatlarda melanositler epidermisin bazal tabakasında ve kahverengi renkte görüldü (Resim 6).

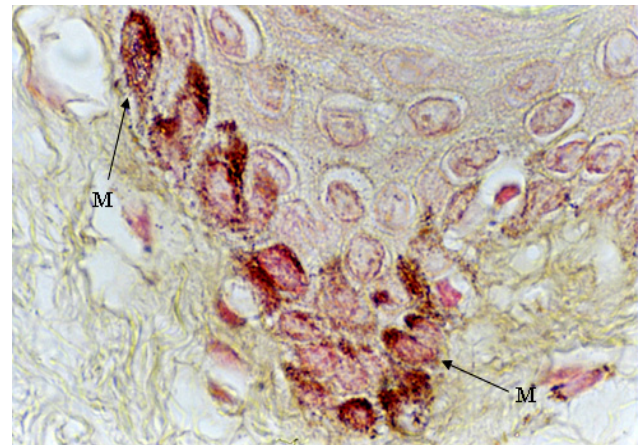
TARTIŞMA

Temel görevlerinden biri kornifikasyon olan epidermis, çok katlı yassı epitel yapısındadır. Çok katlı yassı epitel belirgin mukoza tiplerinde bulunur (örn; vajina, ağız ve deri) ve vücudu dış etkilerden koruyan en önemli bariyerdir (12). Bu bariyer fonksiyonu, ekstrasellüler matriks ve epitel hücrelerinin kimyasal kompozisyonuna ve tabii ki epitel kalınlığına bağlıdır (13,14). Gilhar ve ark 15 yaşlı deriyi, epidermisteki incelmeyeyle,

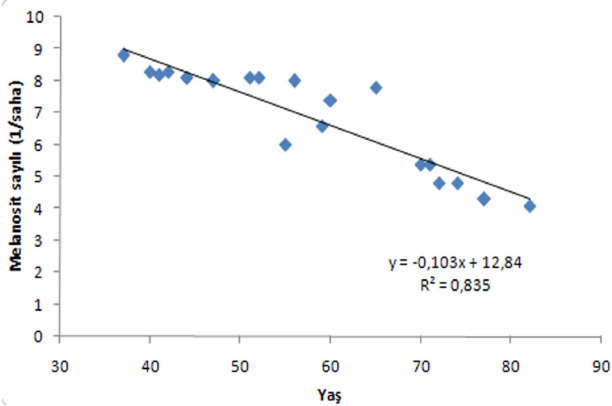
azalmış epidermal proliferasyonla, granüler tabaka altında belirgin artmış apoptozisle ve epidermal faz ekspresyonu ile ilişkilendirmişlerdir. Lee ve Hwang 16 yaşla ilişkili olarak epidermis ve abdominal deride belirgin atrofi olduğunu, yaşlı deride epidermisin ince olduğunu, insan derisi ve epidermis kalınlığının vücuttaki lokalizasyona bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Kurban ve Bhawan 17 hücresel heterojenite ve atrofının meydana gelmesi ile dermal epidermal bileşkedeki düzleşmeyi deri yaşlanması ve epidermal değişikliklerle bağdaştırmışlardır. Genç bireylerde, dermin kontraksiyonu (kasılması) nedeniyle epidermal hücreler bir araya toplanır bu da genç epidermisin daha kalın görünmesine neden olur. Bundan farklı deneyler de bu bulguları doğrular niteliktedir (17). Moragas ve ark 18, derideki biomekaniksel değişiklikleri yaş ile ilişkili bulmuşlar ve bu değişikliklerin temel morfolojinin sağlamlık ve dayanıklılığını etkilediğini ileri sürmüşlerdir. Sağlıklı insanın epidermis kalınlığı lokalizasyona yada yaşa bağlı olarak ya da olmadan değişiklik gösterir. Ancak, bir çok deri hastalığı epidermal kalınlıktaki değişiklikler



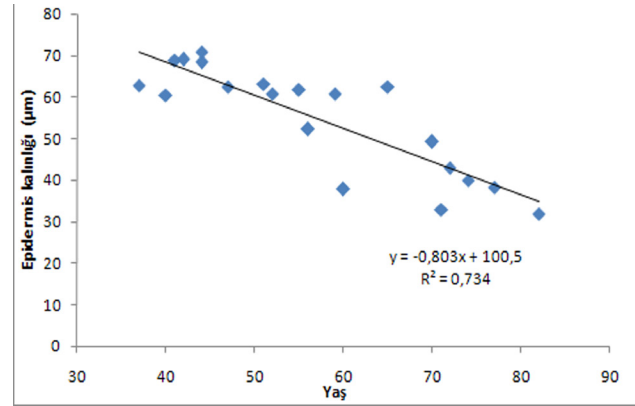
Şekil 4. Kadın bireye ait deri kesiti, Toluidin-Blue, FMB: X132



Şekil 6. 70 Yaşındaki bireye ait deri kesiti, FMB: X330, M: Melanosit



Şekil 7. Melanosit sayısının yaşa bağlı değişim eğrisi



Şekil 8. Epidermis kalınlığının yaşa bağlı değişim eğrisi

ile ortaya çıkar (Örn; akantozis, sedef hastalığı) (2). Koehler ve ark , çalışmalarında in vivo olarak morfolojik ölçümlere olanak sağlayan konfokal laser mikroskopi kullanmışlar ve 21-82 yaşları arasında 30 sağlıklı bireyin epidermis kalınlığı karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulamamışlardır (29). Shuster ve ark (19), 12-93 yaşları arasında 107 bayan ve 90 erkek üzerinde yaptıkları çalışmada, erkeklerde ilerleyen yaşla birlikte aşamalı deri incilmesi bayanlarda ise 50 yaşına kadar kalın daha sonra yaşla gelen incelmeye olduğunu tespit etmişlerdir. İnsan epidermisi yaşla beraber karışık fakat anlamlı yapısal değişiklikler geçirmektedir. 30 ve 80 yaş arasında epidermiste %10-50 arasında kapsamlı bir incelmeye olmaktadır (20). Ya-Xian ve ark (21), yaptıkları çalışmada, stratum korneum'da hücre tabakalarının sayısında cinsiyete bağlı bir değişiklik bulamamışlardır.

Epidermiste en göz alıcı değişiklikler dermo-epidermal bileşke (DEB) nin düzleşmesi ve dermal papillalar ile epidermal rete çizgilerinin silinmesidir (7). DEB'in düzleşmesi sonucu epidermis ve dermis arasındaki bağlantı yaklaşık olarak % 35 oranında azalır böylece iletişim ve besin transferi yeterince sağlanamaz (8, 9). Bu değişiklikler iki kompartman arasındaki adezyonun zayıf olmasına ve minör travmalar sonrası yüzeysel sıyrıklar, veziküller ve hatta büller oluşmasına neden olur (5,22). Epidermis kalınlığının birçok deri bölgesinde yaşla birlikte azaldığı bildirilmiştir (7). Epidermal atrofide, stratum korneum ve stratum granulozum tabakalarında belirgin değişiklik olmaksızın stratum spinosum incilmesi görülür (8). Yaşlılıkla birlikte stratum korneumun ortalama kalınlığı ve sıklığı aynı kalmasına rağmen lipid profilinde değişiklikler gözlenir (4, 23). Ayrıca keratin filamentlerine bağlanmak için gerekli olan epidermal filagrin, bariyer fonksiyon değişikliğine ve kuruluştaki artışa bağlı olarak yaşlı deride azalmıştır (4). Richard ve ark., in vivo ölçümlerinde genç insanların derisi ile yaşlı derileri karşılaştırmışlar ve minimal dermal büzümler not etmişlerdir. Yaşa bağlı dermal büzümlerdeki azalma epidermis kalınlığında değişikliklerle açıklanabilir ki örneğin; sonradan yaş ile azaldığı ya da sabit kaldığı hatta arttığı bile bulunmuştur. Bu çelişkili sonuçlardan da anlaşılacağı gibi in vivo ölçüm yöntemi artefaktan dolayı oluşan büzümleri önlediği için önemlidir (30). Chappart ve ark. 24 da, deri kalınlığı ile kronolojik yaş arasında negatif korelasyon olduğunu göstermiştir. Smeets ve ark25 ise deri kalınlığı ile kronolojik yaş ve menopozal yaş arasında korelasyon olmadığını bildirmişlerdir. Bütün bu çalışmalardan anlaşılacağı üzere yaşın epidermis kalınlığına etkileri üzerine çelişkili sonuçlar bildirilmiştir.

Yapılan bu çalışmada, epidermis kalınlığının yaşa bağlı olarak değişip değişmediği test edilmiş değişimin anlamlı olduğu görülmüştür (p<0,0001). Bu değişim için korelasyon katsayısı (r= -0,8047) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak yaşla beraber epidermis kalınlığı %80 oranında azalmıştır. Epidermis kalınlığı cinsiyetle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p= 0,7622).

Yaşlanan deride bir diğer değişiklik melanositlerde görülmektedir. 30 yaşından sonra her 10 yılda deride birim alandaki enzimatik aktivite gösteren melanositlerin sayısı %10-20 azalır. Bu nedenle, ileri yaşlarda ultraviyole hasarı daha kolay ve fazla olarak ortaya çıkar (5). Yıllar içerisinde aktivitesini kaybeden melanositler özellikle saç folikülünde birikirler. Buna bağlı olarak saçlarda beyazlaşma görülür (8, 26). Coll 27, çalışmasında, derideki her bir birim alandaki melanositleri saymış ve yaşlılara göre gençlerde melanositleri önemli derecede yüksek bulmuştur. Ancak kadın ve erkeklerde epidermal melanosit sayısında dikkat çekici bir fark bildirmemiştir. Bu çalışmada, Hematoksilin-Eosin , Toluidin blue ve gümüş nitrat boyaları ile boyanmış preparatlarda epidermin bazal tabakasına yerleşmiş melanositler görüldü. Gümüş nitrat ile boyanmış preparatlarda melanositler sayıldı. Melanosit sayısının yaşa bağlı olarak değişip değişmediği test edildi ve bu değişimin anlamlı olduğu görülmüştür (p<0,0001) Bu değişim için korelasyon katsayısı (r= -0,9618) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak yaşla beraber melanosit sayısı %96 oranında azalmıştır. Ayrıca melanosit sayısı ile cinsiyet karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark görülmüştür (p= 0,0442). Yaşlara göre kesit alıp boyadığımız preparatlar mikroskopta incelendiğinde, yaşın ilerlemesi ile birlikte epidermis tabakasına histolojik olarak bir takım değişikliklere rastlandı. Bunlar DEB'de düzleşme, dermal papillaların sayısında azalma olarak not edildi. Epidermis kalınlığı ile yaş faktörü karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü (p<0,0001). Gümüş nitrattla boyanan preparatlarda melanositler bazal tabakada çok net olarak seçildi. Birim alandaki melanositler sayıldı ve istatistiksel olarak melanosit sayısının yaşa bağlı olarak değişimi anlamlı olarak bulundu (p<0.0001).

KAYNAKLAR

1. Tüzün Y, Dolar N. Fotoyaşlanma ve kronolojik yaşlanma arasındaki farklar. T Klin J Int Med Sci 2005;1:1-6.
2. Norman RA, Henderson JN. Aging: an overview, Dermatol Ther 2003, 16(3), 181-185.

3. Scharffetter-Kochanek K. Skin aging, *Clin Exp Dermatol*, Oct 2001, 26(7), 561.
4. Hadshiew IM, Eller MS, Gilchrist BA. Skin aging and photoaging: the role of DNA damage and repair. *Am J Contact Dermat* 2000;11:19-25.
5. Oğuz O. Yaşlılık ve deri. *T Klin Dermatol* 2002;12:225-8.
6. Kosmadaki MG, Gilchrist BA. The role of telomeres in skin aging/ photoaging. *Micron* 2004;35:155-9.
7. Allı N. Deri yaşlanmasında hücresele ve moleküler mekanizmalar. *T Klin Kozmetol* 1998;1:10-6.
8. Wulf HC, Sandby-Moller J, Kobayasi T, Gniadecki R. Skin aging and natural photoprotection. *Micron* 2004;35:185-91
9. Chiang HY, Huang IT, Chen WP, Chien HF, Shun CT, Chang YC and Hsieh ST. Regional difference in epidermal thinning after skin denervation, *Exp Neurol* 1998, 154, 137 – 145.
10. Giangreco A, Quin M, Pintar JE and Watt FM. Epidermal stem cells are retained in vivo throughout skin aging. *Aging cell* 2008;7:250-259
11. Johnson FB. Pigments and Minerals In "Laboratory Methods in Histotechnology" Ed. by, EB Prophet, B Mills, JB Arrington, LH Sobin, 1992 183-188, American Registry of Pathology, Washington.
12. Fawcett DN. Skin In "A text Book of Histology" Ed. by W Bloom, DN Fawcett, 1986, 11 th ed, 543-578, W.B Saunders Company Philadelphia.
13. Ghadially R. Aging and the epidermal permeability barrier: implications for contact dermatitis, *Am J Contact Dermat* 1998, 9, 162–169.
14. Cartledge P. The epidermal barrier, *Seminars in Neonatology* 2000, 273–280.
15. Gilhar A, Ulman Y, Karry R, Shalaginov R, Assy B, Serafimovich S and Kalish RS. Aging of human epidermis reversal of aging changes correlates with reversal of keratinocyte fas expression and apoptosis, *J Gerontol S A, Biol Sci Med Sci* 2004, 59(5), 411-415.
16. Lee Y, Hwang K. Skin thickness of Korean adults, *Surg Radiol Anat*, Aug-Sep 2002, 24(3-4), 183-189.
17. Kurban RS, Bhawan J. Histologic changes in skin associated with aging, *J Dermatol Surg Oncol* 1990, 16, 908-914.
18. Moragas A, Garcian BM, Sams M, Toran N, Hugvet P and Martin PC. Image analysis of dermal collagen changes during skin aging, *Anal Quant Cytol Histol* Dec 1998, 20 (6), 493–499.
19. Shuster S, Black MM and McVitie E. The influence of age and sex on skin thickness, skin collagen and density, *Br J Dermatol* 1975, 93, 639-643.
20. Sams M, Moragas A. Mathematical morphologic analysis of the aortic medial structure, Biochemical implications, *Anal Quant Cytol Histol* 1993, 152, 93-100.
21. Ya-Xian Z, Suetaka T and Tagami H. Number of cell layers of the stratum corneum in normal skin: relationship to the anatomical location on the body, age, sex and physical parameters, *Arch Dermatol Res* 1999, 291, 555-559.
22. Dönderici L, Taşpınar A. Deri yaşlanması. *T Klin Dermatol* 1994;456-61.
23. Tekin NS. Deri yaşlanmasının biyolojik mekanizmaları. *T Klin J Int Med Sci* 2005;1:170.5.
24. Chappart D, Alexandre C, Robert J and Riffat G. Relationships between bone and skin atrophies during aging, *Acta, Anat* 1991, 141, 239–244.
25. Smeets AJ, Kuiper JW, Kuijck C, et al. Skin thickness does not reflect bone mineral density in postmenopausal women, *Osteoporosis Int* 1994, 4, 23–35.
26. Yılmaz B, Eskioğlu F. Yaşlanma ile birlikte deride gözlenen makroskopik ve histopatolojik değişiklikler. *T Klin Kozmetol* 1998;1:4-9.
27. Coll J. Microscopic analysis of epidermal melanocytes in human abdominal skin, *Physicians Surg Pak* Feb 2003, 13(2), 79 – 81.
28. Racila D, Bickenbach JR. Are epidermal stem cells unique with respect to aging? *Aging* 2009, Vol 1, No:8.
29. Koehler MJ, Vogel T, Elsner P, König K, Bückle R and Kaatz M. In vivo measurement of the human epidermal thickness in different localizations by multiphoton laser tomography. *Skin Research and Technology* 2010; 16: 259-264.
30. Richard SN, Monot M, Bastien P and Lacharrie O. In vivo epidermal thickness measurement: ultrasound vs. confocal imaging. *Skin Research and Technology* 2004;10: 136-140.