

SIÇANDA PRENATAL VE NEONATAL DÖNEMLERDE DERİ GELİŞİMİ

Serpil Ünver SARAYDIN, Yücel Başımoglu KOCA, Yasemin GÜNAY, Emel KOPTAGEL

Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Sivas / TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 23.12.1998

Development of Skin During Prenatal and Postnatal Stages In Rats

SUMMARY

The aim of the present study was to determine the development of paraffin rat skin on prenatal days 13, 17, 19, 21 and on neonatal day 3 several histochemical staining methods. The thick sections of the rat skin were stained with hematoxyline-eosin, Grimelius, Mallory-Azan and periodic acid-Schiff (PAS) reaction on prenatal days 13, 17, 19, 21 and neonatal day 3. Skin samples obtained in prenatal days 17, 21 and neonatal 3 were fixed in 3 % gluteraldehyde, postfixed in 1% osmium tetroxide and embedded in Araldite CY 212. Semi-thin sections were stained with toluidin blue and evaluated under the light microscope.

On day 13 of life, epidermis had 2 layers, periderm and basal layer. While periderm was lined with single layer squamous epithelium, basal layer was lined with single layer cuboidal epithelium. The layer between dermis and epidermis, consisting of a loosely packed mesenchymal cells, was a straight line. On the day 17 of fetal life, epidermis had three distinct cell layers, basal, dikensi and granular cell layers respectively. Callagen and elastic fibers abundant hair follicles and capillaries were seen in the dermis. Prepapillar structures developing in the epidermis-dermis border were also seen on the 17.

On the day 19 of intrauterine life while epidermis layer seemed similar to the mature skin, collagen fibers and capillaries increased in the dermal layer along with papillar processes starting to be distinguished in the epidermis-dermis border. On prenatal day 21, epidermis developed a fiber like keratin layer. Dermis had internal and external root sheats of hair follicle which was similar to the mature skin. On neonatal day 3, epidermis seemed to have its characteristic stratified squamous keratinized epithelium whereas dermis had increased blood capillaries, connective tissue fibers, hair follicles and abundant adipocytes.

Key words: Skin, development, rat, microscopy

ÖZET

Bu çalışmada sıçan derisi gelişiminin prenatal 13, 17, 19, 21 ve neonatal 3. günlerinde farklı histokimyasal boyama yöntemleri ile incelenmesi amaçlanmıştır. Sıçan deri örneklerinin kalın kesitleri hematoksilin-eozin, Mallory-Azan, Grimelius, PAS reaksiyonu ile boyandı. Prenatal 17, 21 neonatal 3. günlerde alınan deri örnekleri gluteraldehit, osmium tetroksitle fikse edilip, Araldit CY 212 içerisinde bloklandı ve alınan yarı-ince kesitler toluidin blue ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Embriyonal 13. günde epidermis, periderm ve bazal tabaka olmak üzere 2 tabaka halindedir. Periderm tek katlı yassı epitelden, bazal tabaka tek katlı kübik epitelden oluşmuştur. Mezenşimal hücrelerin gevşek bir ağından oluşan dermisle epidermis arası düzgün bir hat şeklindedir. Fetal 17. günde oluşan epidermiste, bazal membran üzerine oturan, bazal hücre tabakası ve bunun üzerinde yer alan granüler hücre tabakası belirlenmiştir. Dermis içerisinde kollajen ve elastik lifler, kapiller ve bol miktarda kıl folikülleri bulunmaktadır. Ayrıca bu dönemde epidermis-dermis sınırında prepapiller yapılar oluşmaktadır.

Intrauterin 19. günde epidermis tabakası erişkine benzer bir şekilde düzenlenirken, dermiste kollajen liflerin yanısıra kapillerler sayıca artış göstermiş ve dermisten epidermise doğru papillar uzantılar belirginleşmiştir. Prenatal 21. günde epidermis, lifsel görünümlü belirgin bir keratin tabaka oluşturmuştur. Epidermisle birlikte gelişimini sürdüren dermiste epidermal ve dermal kök kılıflarından oluşan kıl folikülleri erişkine benzer yapı kazanmaktadır. Neonatal 3 günlük deri kesitlerinde epidermisin keratinli çok katlı yassı yapısını kazandığı, dermiste gittikçe artan miktarda kan damarları, bağ dokusu lifleri, fibroblastlar, kıl folikülleri ve dermisin alt bölümlerinde sitoplazması lipid ile dolu çok sayıda yağ hücresi yer aldığı görülmüştür.

Anahtar sözcükler : Deri, gelişim, sıçan, mikroskopi

GİRİŞ

Kimyasal, fiziksel ve biyolojik incinmelere karşı vücudu koruyucu bir örtü oluşturan deri kompleks bir organdır. Ağrı, basınç, temas, ısı gibi duyular için reseptör olması, ultraviyole ışınlarına karşı koruyucu, öncül maddeleri vitamin D'ye dönüştürmesi, ısı düzenlenmesi, su kaybının önlenmesi gibi bir çok önemli fonksiyonu üstlenen deri epidermis ve dermis olmak üzere iki tabakadan oluşur. Bu iki tabakanın gelişimleri iki farklı embriyonel germ yaprağından oluşmaktadır. Yüzey ektoderminden gelişen ve yüzeyel bir katman olan epidermis, bazaldan apikale doğru beş tabakadan oluşur: tek katlı prizmatik bazofilik sitoplazmalı hücreler içeren stratum germinativum, hücre yüzeylerinde sitoplazmik uzantılar bulunan dikensi hücrelerin oluşturduğu çok sıralı hücre tabakası stratum spinosum, sitoplazmalarında bazofilik keratohiyalin granülleri bulunan 3-5 sıralı hücre tabakasından oluşan stratum granulozum, yassı, saydam ve nükleusları belli olmayan hücrelerin yer aldığı stratum lusidum, şeffaf, ölü, yassı keratinositlerin yer aldığı stratum korneum (1).

Deri gelişimi bir çok farklı türde epidermis, dermis tabakaları, papilla yapılarının oluşması şeklinde çalışılmıştır (2-4). Çalışmamızda farklı germ yapraklarından gelişen derinin epidermis ve dermis tabakalarının, farklılaşması, tabakaların kalınlıkları sıçanlarda doğum öncesi ve doğum sonrası dönemlerde yarı ince kesitler ve kalın kesitlerle farklı boyama yöntemleri uygulanarak ışık mikroskopi düzeyinde incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında araştırma amacı ile üretilen ve normal laboratuvar koşulları altında beslenen Wistar albino türü 10 gebe sıçandan elde edilen embriyo ve fetuslar kullanılmıştır.

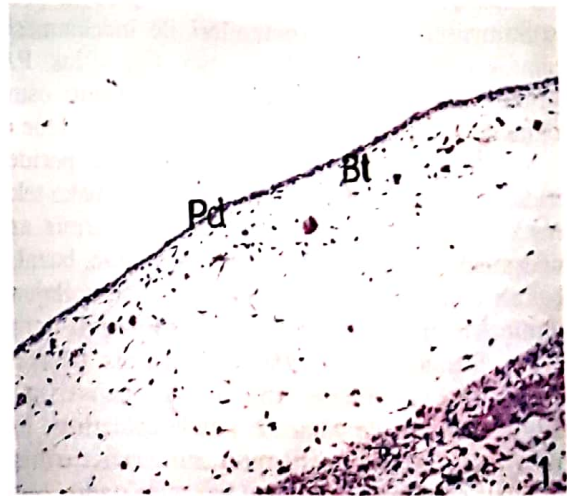
Deri gelişimini incelemek amacı ile gebe bırakılan hayvanlardan eter anestezisi altında sezeryan ile alınan 13 günlük embriyo ve 17, 19, 21 günlük sıçan fetusları bir bütün halinde, neonatal 3 günlük sıçanın ise sırt bölgesinden alınan deri örneği Bouin ve %10'luk tamponlanmış nötral formalin fiksatiflerinde tespit edilmiştir. Rutin protokolü takiben örnekler parafine gömülmüştür. Bütün olarak bloklanan embriyo ve fetusların sırt seviyesine gelinceye kadar seri kesitler alındı, bu seviyedeki kesitlere genel histolojik yapıyı gözlemek amacı ile hematoxilen-eosin, dermiste kollagen lifleri göstermek için Mallory-

Azan boyaları ve bazal laminayı izleyebilmek için Periodic Acid Schiff (PAS) reaksiyonu uygulandı. Fetal gelişim sırasında şekillenmeye başlayan epiderminin tabakalarını daha belirgin bir şekilde ortaya koyabilmek için prenatal 17, 21, neonatal 3. günlerde alınan deri örnekleri önce % 5'lik gluteraldehit, ardından % 1'lik osmium tetroksitle fikse edilip Araldit CY 212 içerisinde bloklandı ve alınan yarı ince kesitler toluidin blue ile boyanarak ışık mikroskobunda incelenerek fotoğraflandı.

Her bir deney grubu için üçer hayvandan alınan deri örneklerinin 10 ayrı yerinden epidermis ve dermis kalınlıkları LEICA marka ışık mikroskobunda mikrometrik cetvel ile ölçülmüştür. Bu kalınlık ölçümlerinin ortalaması alınarak her bir periyottaki dermis ve epiderminin ortalama kalınlığı bulunmuştur. Deri kalınlığı ise dermis ve epiderminin kalınlığı toplanarak hesaplanmıştır. Bu şekilde bulunan dermis, epidermis ve deri kalınlıkları (μm), gelişim süresine (gün) karşı grafiğe geçirilmiş ve Şekil 9' da verilmiştir. Elde edilen verilere Student'in eşleştirilmiş t testi uygulanmıştır.

BULGULAR

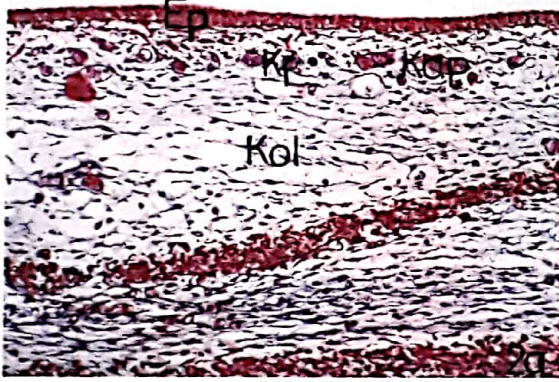
Embriyonel 13. günde epidermis, periderm ve bazal tabaka olmak üzere iki tabaka halindedir. Periderm tek katlı yassı epitelden, bazal tabaka tek katlı kübik epitelden oluşmuştur. Mezensefmal hücrelerin gevşek bir ağından oluşan dermisle epidermis arası düzgün bir hat şeklindedir (Şekil 1).



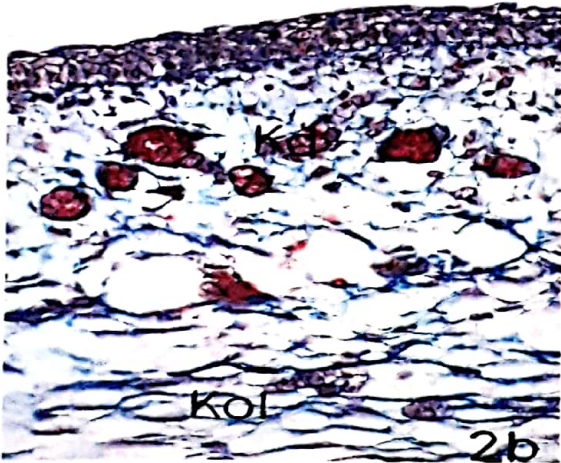
Şekil 1.13 günlük sıçan embriyosunda yüzeyel yassı hücrelerden oluşan periderm(Pd)ve tek katlı kübik epitelden oluşan bazal tabaka (Bt) H-E,x20

Fetal 17. günde epidermiste, bazal membran üzerine oturan, bazal hücre tabakası ve bu tabakadaki hücrelerin mitotik aktivasyonu ile oluşan dikensi hücre tabakası ile bunun üzerinde yer alan granüler hücre tabakası belirlenmiştir. Gevşek bağ dokusu görünümü sergileyen dermis içerisinde kollajen ve elastik lifler mezensimden farklılaşan endotel ile döşeli kapillerler ve bol miktarda kıl folikülleri bulunmaktadır. Ayrıca bu dönemde epidermis-dermis sınırında dermal papilla yapıları oluşmaktadır (Şekil 2a-b, 3).

Intrauterin 19. günde epidermis tabakası erişkine benzer bir şekilde düzenlenirken, dermiste kollajen liflerin yanı sıra kapillerin sayıca arttığı ve dermisten epidermise doğru papiller uzantuların belirginleştiği izlenmiştir (Şekil 4-6).



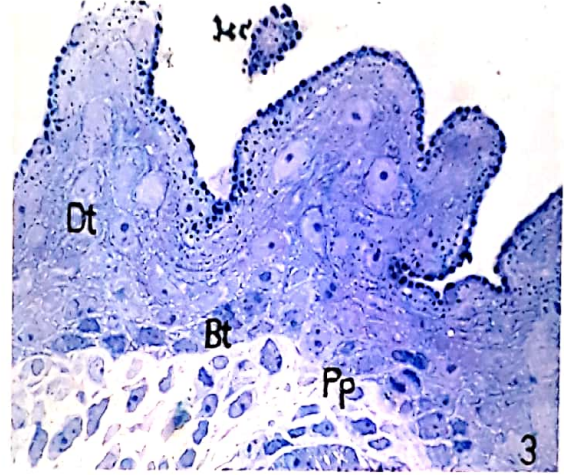
Şekil 2a. Fetal 17 günlük sıçanda deri gelişimi Tabaka sayısı artmış epidermis (Ep), dermiste kollajen lifler (Kol), kapiller (Kap), kıl folikülleri (Kf), Mallory-Azan, x20



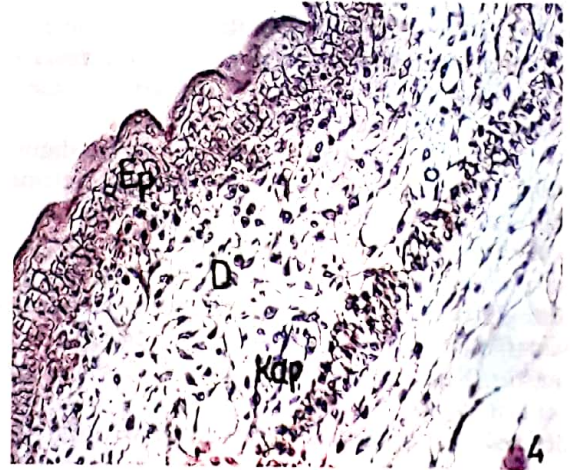
Şekil 2b. Belirginleşmiş kollajen lifler (Kol), hiperemik kan damarları (Kd); Mallory-Azan, x20

Prenatal 21. günde epidermis, lifsel görünlü belirgin bir tabaka oluşturmuştur. Epidermiste birlikte gelişimini sürdüren dermiste epidermal ve dermal kök kılıflarından oluşan kıl

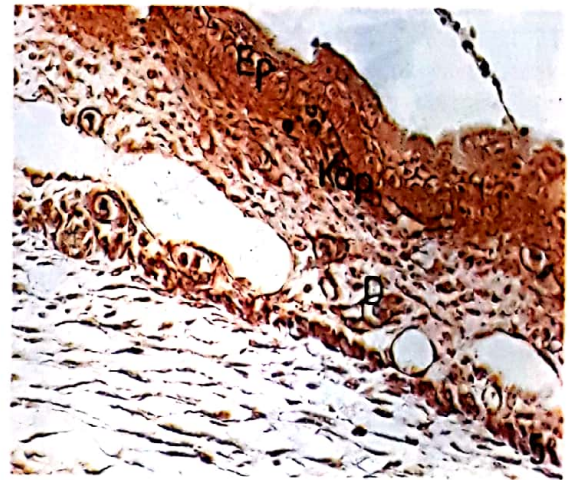
folikülleri erişkine benzer bir yapı kazanmıştır (Şekil 7a-b).



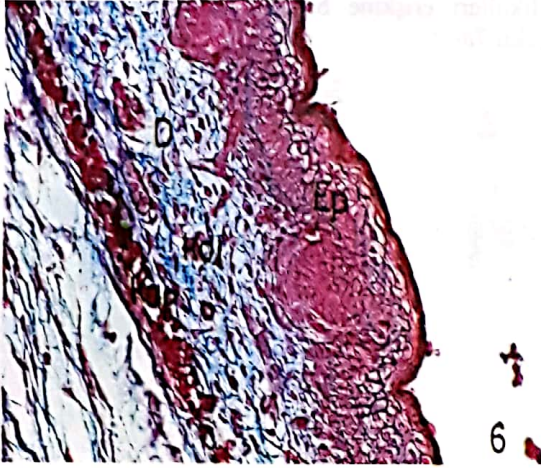
Şekil 3. 17 günlük sıçan fetusunda bazal hücre tabakası (Bt) dikensi hücre tabakası (Dt) ve granüler hücre tabakası (Gt), veprepapiller yapıları (Pp). Toluidin Blue, x100



Şekil 4. Intra uterin 19.günde epidermis (Ep), dermis (D) ve kapillerlerin görünümü (Kap).PAS;x40



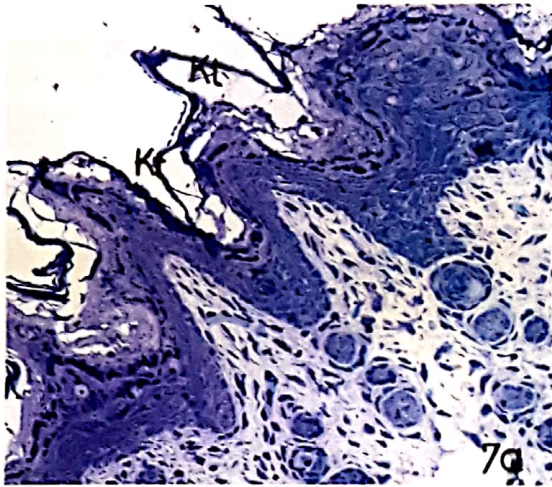
Şekil 5. Fetal 19.günde epidermis (Ep), dermis (D), Kapiller (Kap). Grimelius x40



Şekil 6. Fetal 19.günde epidermis (Ep), dermis (D), papiller uzantılar (Pu), kapiller (Kap) ve kollejen lifler (Kol), Mallory –Azanx40

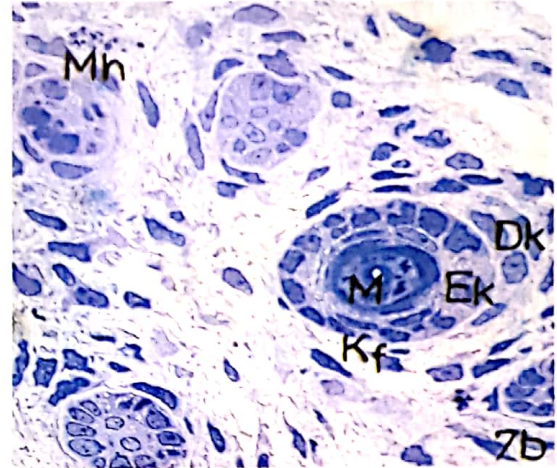
Neonatal 3 günlük deri kesitlerinde epidermisin keratinli çok katlı yassı epitel yapısını kazandığı, dermiste ise vaskularizasyonun arttığı, bağ dokusu lifleri, fibroblastlar, kıl foliküllerinin arttığı ve dermisin alt bölümlerinde sitoplazmaları lipid ile dolu çok sayıda yağ hücresinin yer aldığı saptanmıştır (Şekil 8).

Dermis, epidermis ve total deri kalınlığının prenatal ve neonatal dönemdeki artışını izlemek için incelenen her üç örnekten alınan 10'ar ölçüm sonucu gelişim sırasında epidermis ve dermis tabakasının kalınlıklarının birbirine göre farklılık gösterdiği, epidermisin prenatal dönemden doğuma kadar önce yavaş sonra hızla kalınlaştığı görülmüştür. Neonatal dönemde (prenatal 21 ve doğum sonrası 3. gün) ise artış çok yavaşlamaktadır. Epidermisin kalınlığının artışı dermise göre daha hızlı olmaktadır. Dermis ve epidermisin toplam kalınlığı olan deri kalınlığı ise bu dönemde epidermisin kalınlaşma hızıyla paralel olarak artmaktadır.

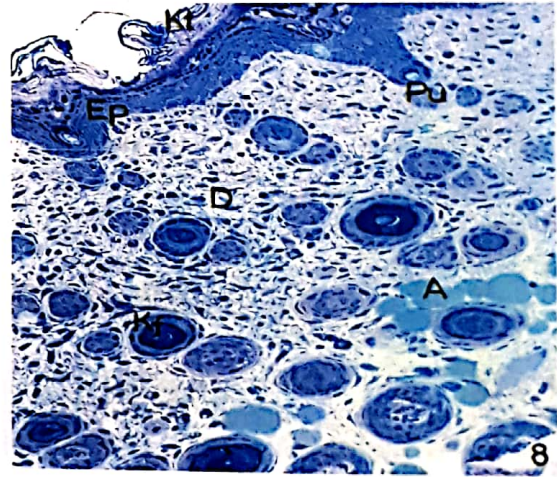


Şekil 7a. Prenatal 21. günde epidermis (Ep), lifsel görünümde keratin tabaka (Kt), dermiste kıl folikülleri (Kf). Toluidin Blue,x40

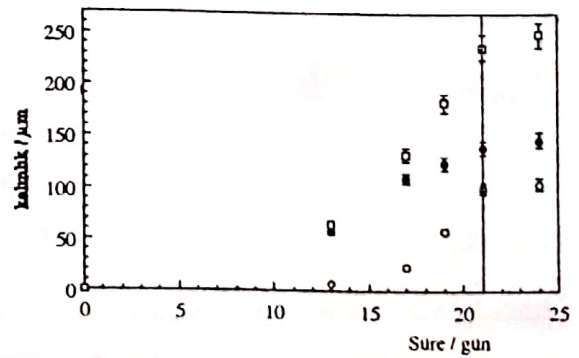
28



Şekil 7 b. Dermiste kıl folikülleri (Kf), mitotik bölünme (M) geçiren hücreler, gelişen epidermal (Ek)dermal (Dk) kök kılıfları ile dermiste granüllerden zengin mast hücresi (Mh).Toluidin Blue, x100



Şekil 8.Neonatal 3.günde epidermis (Ep), keratin tabaka (Kt), papiller uzantı (Pu), dermiste (D), kıl folikülleri (Kf) çevresinde şekillenmeye başlayan adipositler (A). Toluidin Blue,x40



Şekil 9.Deri kalınlığının prenatal vedönemlerdeki değişimi (dik çizgi doğumu göstermektedir.)

O;epidermis ● ; dermis □; deri

TARTIŞMA

Şıçanda embriyonal, fetal ve neonatal dönemlerde derinin, epidermis ve dermis farklılaşmasının araştırıldığı çalışmamızda yüzey ektoderminin gelişen ve yüzeyel bir katman olan epidermis, başlangıçta tek katlıdır ve giderek çok katlı epitale dönüşür (5, 6).

Bizim çalışmamızda embriyonal 13. günde epidermis periderm ve bazal tabaka olmak üzere iki tabaka halindedir. Periderm tek katlı yassı epitelden, bazal tabaka tek katlı kübik epitelden oluşmuştur. Gevşek bir ağ görünümünde izlenen ve mezenşimal hücrelerden oluşan dermisle epidermis arası düzgün bir hat şeklindedir (Şekil 1). Epidermin gelişiminde çeşitli faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Çok katlı epidermin düzenlenmesinde dermal mezodermin, ektodermal farklılaşmada sinir sisteminin rol alabileceği konusunda ileri sürülen düşünceler vardır (3). İnsanda 7-9. haftalardaki fetuslarda epidermis nispeten düz ve 2-3 hücre sırasından oluşmuştur (4). Farede yapılan bir çalışmada intrauterin 9-12. günlerde ektodermden gelişen epitelin fetusu boydan boya saran çok hücreli periderme dönüştüğü söylenmektedir (7).Fetal 17. günde oluşan epidermiste, bazal membran üzerine oturan bazal hücre tabakası ve bu tabakadaki hücrelerin mitotik aktivasyonu ile oluşan dikensi hücre tabakası ile bunun üzerinde yer alan granüler hücre tabakası belirlenmiştir (Şekil 2). Delphinidae (Cetacea: Odontoceti) embriyoları periderm, stratum intermedium I, stratum intermedium II, stratum spinosum olmak üzere dört farklı epidermal generasyondan oluşan çok tabakalı bir doku ile sınırlanmıştır. Spinosum hücreleri ilk olarak embriyo 225-260 mm boyunda iken gelişmiştir (8). Bizim çalışmamızda gösterdiğimiz dikensi hücrelerin oluşturduğu stratum spinosum (dikensi hücre) tabakası erişkin fare derisinde saptanamamıştır (9-11).

Çalışmamızda 17. günde dermis gevşek bağ dokusu görünümünde olup kollagen ve elastik lifler, endotel ile döşeli kapiller ve bol miktarda kıl folikülleri içermektedir, 17. günde epidermis-dermis sınırında ise dermal papilla yapısının olduğu görülmektedir (Şekil 2a-b, 3). Papiller yapıların keseli sıçanda doğumdan sonra geliştiği belirtilmektedir (3). Dermiste vasküler gelişim Delphinidae (Cetacea: Odontoceti) embriyolarında, erabriyo boyu 150-225 mm boyunda iken gerçekleşmektedir (8). Fetal 19. günde epidermis tabakası prenatal 21. güne oranla daha kalındır ve epiderminin apikalinde belirgin bir keratin tabakası o-

luşmamıştır. Dermiste kollagen liflerin yanısıra kapillerler sayıca artış göstermiş ve dermisten epidermise doğru papiller yapılar şekillenmiştir (Şekil 4-6). Prenatal 21. günde epidermis yüzeyinde, lifsel görünümlü belirgin bir keratin tabaka oluşmuştur. Epidermisle birlikte gelişimini sürdüren dermiste epidermal ve dermal kök kılıflarından oluşan kıl folikülleri erişkine benzer bir yapı kazanmaktadır (Şekil 7a-b). Morfogenetik aktivitenin arttığı alanlarda kıl folikül oluşumunda hücre adezyon moleküllerinin rolü olduğu belirtilmektedir (12). Williams ve arkadaşlarının (1988) yaptığı bir çalışmada insan embriyolarında 60-90. günlerde kıl kökleri sephalokaudal doğrultuda görülmeye başladığı saptanmıştır (5). Araştırmamızda neonatal 3. günde epiderminin çok katlı yassı epitel yapısını kazandığı, 6-7 katlı geniş aralıklı keratin katı içerdiği, epiderminin yüzeyine doğru gittikçe irileşen granül bulunduran hücrelerin varlığı dikkati çekmiştir (Şekil 8) ve bu oluşumlar Eşrefoğlu M.'nin (1994) çalışmasıyla paralel yöndedir (13). Dermiste ise bağ dokusu lifleri, fibroblastlar, kıl foliküllerinin, vaskülarizasyonun arttığı ve derminin alt bölümlerinde sitoplazmaları lipid ile dolu çok sayıda yağ hücresinin olduğu saptanmıştır. İnsan fetusunda 2. trimesterde (90-150. gün) deri epidermal tabakasının artışı, yağ bezleri ve kıl foliküllerinin gelişimi ile karakterizedir (5). Keratinizasyonun bu evrede görülmeye başladığı ilk olarak foliküler bölgede ve sephalokaudal doğrultuda olduğu bilinmektedir. Gebeliğin 22-24. haftasında dermiste kollajen lif demetlerinin yoğun bir şekilde görüldüğü ve adipositlerin subkutenöz dokuda sayıca arttığı bildirilmektedir (5).

Gelişim sırasında epidermis ve dermis tabakasının kalınlıkları birbirine göre farklılık göstermektedir.

Şekil 9'da sunulan grafikte görüldüğü gibi epidermis prenatal dönemden doğuma kadar önce yavaş sonra hızla kalınlaşmaktadır. Prenatal 21. günde ve neonatal 3. günde artış çok yavaşlamaktadır. Epidermis kalınlığının artışı dermise göre daha hızlı olmaktadır. Dermis ve epiderminin toplam kalınlığı olan deri kalınlığı ise bu dönemde epiderminin kalınlaşma hızıyla paralel olarak artmaktadır. Dermis ve epiderminin kalınlıklarının prenatal dönemdeki artışları için Student's eşleştirilmiş t testi uygulanmış ve anlamlı bir fark ($p > 0.001$) olmadığı görülmüştür. Sonuçta prenatal dönemde epiderminin kalınlığının derminin kalınlığına göre daha hızlı bir artış gösterdiği, neonatal dönemde ise derminin kalınlığının artmasının prenatal döneme göre çok yavaşladığı söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Ross MH, Reith EJ, Romrell LJ. Histology A Text and Atlas 2nd ed. Williams and Wilkins. Sydney-Tokyo 1989; pp. 347-376.
2. Morohunfolo AK, Jones ET, Munger LB. The differentiation of the skin and Its appendages. II. Altered development of papillary ridges following neuralectomy. The Anat. Rec. 1992; 232:599-611.
3. Morohunfolo AK, Jones ET, Munger LB. The differentiation of the skin and Its appendages. I. normal development of papillary ridges. The Anat. Rec. 1992; 232:587-598.
4. Moll I, Moll R, Franke WW. Formation of epidermal and dermal Merkel cells during human fetal skin development. J. Invest. Dermatol. 1986; 87:779-787.
5. Williams LM, Hincenbergs M, Holbrook AK. Skin lipid content during early fetal development. J. Invest. Dermatol. 1988; 91:263-268.
6. Buer FW. Differentiation and keratinization of fetal rat skin. Dermatologica 1972; 145: 16-36.
7. Bonekov M, Merker HJ. Development and morphology of the periderm of mouse embryos (days 9-12 of gestation). Acta. Anat. 1988; 133 (4): 325-336.
8. Meyer W, Neurand K, Klima M. Prenatal development of the integument in Delphinidae (Cetacea: Odontoceti). J. Morphol. 1995; 223(3):269-287.
9. Rowden G. Ultrastructural studies of keratinized epithelia of the mouse. J. Invest. Dermatol. 1975; 64:1-3.
10. Eşrefoğlu M, Temelli A, Parlak M. Farklı ortamlarda yaşayan canlılarda derinin yapısı. Türk. J. Dermatopathol 1996; 3-4: 152-155.
11. Eşrefoğlu M, Gazilerli S. Fötüs-yenidoğan ve erişkin fare epidermisinin ışık ve elektron mikroskopik özellikleri. Türk. J. Dermatopathol. 1995; 1-2: 122-127.
12. Karger S, Vielkind U, Hardy Mh. Changing patterns of cell adhesion molecules during mouse pelage hair follicle development 2. follicle morphogenesis in the hair mutants, tabby and downy. Acta. Anat. 1996; 157: 3.
13. Eşrefoğlu M. Beyaz farede epidermis ve kıl foliküllerinin yapısı ve gelişimi. Atatürk Üniv. Tıp Bül. 1994; 26(1-2) 245-256.