

ARAŞTIRMA MAKALESİ /RESEARCH ARTICLE

**FARE DOKULARININ TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOP İÇİN
PREPARASYONUNDA KRİTİK NOKTA KURUTMA VE
HEKZAMETİLDİSİLAZAN İLE KURUTMA YÖNTEMLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI II- AKCİĞER VE MİDE BULGULARI**

Nejat TOPÇUOĞLU¹, Nur SELVİ¹, Esra DOKUMACI²

ÖZ

Biyolojik örneklerin taramalı elektron mikroskop (SEM) için hazırlanmasında, dehidratasyon sonrası kurutma aşaması için en yaygın olarak kullanılan yöntem kritik nokta kurutma (KNK) yöntemidir. Böceklerle yapılan çalışmalarda ve bazı dokularda dehidratasyon sonrasında Hekzametildisilazan (HMDS)'in buharlaştırılması ile yapılan kurutma da, iyi bir alternatif olarak önerilmektedir. Bu çalışmada, akciğer ve mide doku örneklerindeki bulgular karşılaştırıldı. KNK ile hazırlanan örneklerde, hem akciğer dokusundaki hücresel yapılar, hem de midenin hücre yapıları çok iyi korunmuş olarak gözlemlendi. HMDS ile kurutulmuş örneklerin KNK ile aynı kalitede olduğu bazı kaynaklarda bildirilmekle beraber, bizim çalışmamızda HMDS ile kurutulmuş akciğerlerde, küçük büyütmelemlerde belirgin olmayan, ancak büyük büyütmelemlerde alveol yüzeyini döşeyen tip I pnömositlerde kıvrılmalar ve büzülmelemler ile, tip II pnömositlerde büzülmeden kaynaklanan içe çökmeler gözlemlendi. HMDS ile kurutulmuş, mide iç yüzeyini döşeyen epitel hücrelerinde de, büyük büyütmelemlerde yer yer büzülmelemler ve yarılmalar gözlemlendi.

Sonuç olarak, fare akciğer ve mide dokularının hücresel yapılarının SEM için hazırlanmasında en iyi yöntemin KNK olduğu gözlemlenmiştir. Fare ve benzer bazı hayvan çalışmalarda ucuz, herhangi bir aygıt gerektirmeyen HMDS yönteminin, akciğer gibi gözenekli ve çok boşluklu objelerin SEM preparasyonu sırasında, ince bazı ayrıntılardaki bozulmaların göz önüne alınması gerektiği, bu nedenle, bu tür objeler dışında KNK'ya alternatif bir yöntem olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Fare, Akciğer, Mide, KNK, HMDS, SEM.

**THE COMPARISON OF CRITICAL POINT DRYING AND DRYING WITH
HEXAMETHYLDISILAZANE METHODS FOR THE PREPARATION OF MICE
TISSUES FOR SCANNING ELECTRON MICROSCOPY II. LUNG AND STOMACH
FINDINGS**

ABSTRACT

In the preparation of biological samples for scanning electron microscopy (SEM), the method most commonly used for the drying stage after dehydration is Critical Point Drying (CPD) method. This method is suggested as a suitable alternative for the studies made by insects and dehydration process made by the evaporation of Hexamethyldisilazane (HMDS) subsequent to dehydration in some tissues. In this study, findings obtained from stomach and lung tissue samples were compared. Cellular structures of the lung and stomach were very well conserved in samples prepared with CPD. However, it is reported in some literatures that samples dried by HMDS are in the same quality with the samples dried by CPD, in our study folds and shrinkages were observed in type I **pneumocytes** not

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı. nejat.topcuoglu@ege.edu.tr ;
nur.selvi@ege.edu.tr

²Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü.
esra.dokumaci@deu.edu.tr

explicit in low magnitudes but cover the alveolar surface in large magnitudes and also, in type II [pneumocytes](#), collapses through the cells were observed on account of shrinkages. Even in the epithelium cells cover the inner surface of the stomach dehydrated by HMDS, shrinkages and fission were observed in some regions.

Consequently, it is observed that in the preparation of cellular structures of mouse lung and stomach tissues for SEM, the best method is CPD. In the studies made by mouse and analogous animals, some spoilage in the details should be taken into consideration during the SEM preparation of the porous objects such as lung in HMDS method which is cheap and does not require any equipment. Therefore, it is concluded that HMDS can be used alternatively to CPD method, except this kind of objects.

Keywords: Mouse, Lung, Stomach, CPD, HMDS, SEM.

1. GİRİŞ

Kritik nokta kurutma (KNK) SEM için örneklerin kurutulmasında rutin olarak kullanılan bir yöntemdir (Bray vd., 1993; Hayat, 1974; Kennedy vd, 1989; Nation, 1983). Hekzametildisilazan (HMDS)'in buharlaştırılması ile örneklerin havada kurutulmasını içeren alternatif bir yöntem bildirilmiş, HMDS ile kurutmanın, böcek dokularında ve çeşitli hücrelerde mükemmel yüzey ayrıntısı sunduğu rapor edilmiştir (Nation, 1983). HMDS kurutma, çeşitli hayvansal ve bitkisel hücrelerin SEM preparasyonunda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Solunum mukozasının HMDS ve KNK yöntemi ile SEM'ta incelenmesi (Change, ve Mawhinney, 2004); *Gymnodinoid dinoflagellat* SEM ile incelenmesinde, HMDS basit ve çabuk bir teknik olarak bildirilmektedir (Botes. vd., 2002); HMDS ile kurutmanın KNK'ya göre zaman kazandıran bir yöntem olduğu bildirilmektedir (Kuhneld vd., 1989); Polenlerin SEM incelemesi için kurutulmasında HMDS kullanılması (Chissoe vd., 1994); Jeolojik örneklerin SEM'ta incelenmesi konusundaki çalışma (Fratesi ve Lynch, 2001); Retinal dokuların SEM için preparasyonunda HMDS kullanılması (Heegaard vd., 1986); Allograft semilunar kardiak valflerin hazırlanması ve dondurularak saklanmasında SEM morfolojisinin incelenmesi (Krs, vd., 2006); SEM için örnek kurutmada HMDS kullanılması (Oshel, P. 1997);Biyolojik objelerin SEM için preparasyonunda hızlı kimyasal dehidratasyon için 2,2-Dimethoxypropane kullanılması (Maser, ve Trimble, 1977); Fare midesinde mukoid epitelyumde apoptosis ve fagositozisin sitokimyasal ve SEM ile analizi (Pipan ve Sterle, 1986); Farenin trakeobronşial havayollarında siliogenezle ilgili araştırma (Toksala vd., 2005) gibi çalışmalar, bu konudaki birçok araştırmadan örneklerdir. HMDS'nin yayınlanmış avantajlarına rağmen, hassas çal-

ışmalar için KNK, halen en sık kullanılan yöntemdir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Balb C faresi, intraperitoneal Nembutal anestezi ile uyutuldu, organları alınıp serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra, her organdan iki parça alındı, parçalardan bir tanesi 1. Grup KNK için, diğeri ise 2. Grup HMDS için ayrıldı. Preparasyonda Topçuoğlu'nun (2005a ve 2005b) önerdiği yöntemler uygulandı. 1. ve 2. Grup için ayrılanlar kakodilat tamponlu (kakodilik asit sodyum tuzu) (pH 7,3) % 5'lik Glutaraldehyt ile 2 saat fikse edildikten sonra, 0,1 M kakodilat tamponuna alındı. Daha sonra kakodilat tamponlu % 1'lik Osmium tetroksit ile 2 saat fikse edildi ve 0,1 M kakodilat tamponuna alındı. 1. Grup parçalar ve 2. Grup parçalar, ayrı ayrı parça taşıma kafeslerine alındı ve sırasıyla % 50,70, 90, 95, 98, 100'lük etil alkol serilerinden geçirildi. % 100'lük absolu etil alkol basamğından sonra 1. ve 2. gruplar ayrıldı.

1.Grup parçalar; Absolu etil alkol + isoamilasetat (1:1) karışımında 30 dakika, absolu etil alkol + isoamilasetat (1:3) karışımında 30 dakika, isoamilasetat'ta (2 kez) 30 dakika tutuldu ve Hitachi HCP 1 KNK aygıtında CO₂ ile KNK yapıldı, P₂O₅'li vakumlu desikatörlere alınıp saklandı.

2.Grup parçalar; Absolu etil alkol + HMDS (1:2) 15 dakika, HMDS (2 kez) 30 dakika tutulduktan sonra HMDS'den çıkarıldı ve çeker ocak içinde, havada kurutuldu. HMDS'nin zararlı ve toksik özelliğı (Baker, 2005) nedeniyle, tüm işlemler çeker ocak içinde yapıldı. Sonra örnekler P₂O₅'li vakumlu desikatörlere alınıp saklandı.

1. ve 2. Grup parçalar, obje tablalarına Leit C ile yapıştırıldı ve P₂O₅'li desikatörlere alınıp, SEM'de incelemek üzere saklandı.

Parçalar, Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü'nde "Polaron SC 7620 Sputter Coater" aygıtında altın ile kaplandı, Jeol 6060 SEM'ta incelendi ve resimler dijital olarak kaydedildi.

3.BULGULAR

3.1.Akciğerde KNK Bulguları:

Küçük büyütmelelerde (Şekil 1 A), akciğer dokusunda terminal bronşöller (TB), ve alveoller (Al), çok iyi gözlemlendi. Alveol içini döşeyen tip I Epitel hücrelerinin yassı ve düzgün yapıları yanında, yüzeyde serbest dolaşan bir alveoler makrofaj (AlM), yüzeye tutunan sitoplazmik uzantıları ile dikkati çekti. Ayrıca alveol septumu içindeki bir damar kesitinde eritrosit (Er) görüldü (Şekil 1 B). Terminal bronşiol içindeki Clara hücreleri (Cl) ile, silli epitel hücreleri (SE) ve yüzeylerinde sillerinin (S→) karakteristik yapılarını çok iyi koruduğu gözlemlendi (Şekil 1 C).

3.1.2.Akciğerde HMDS Bulguları:

Akciğerde HMDS bulguları: HMDS ile kurutulmuş akciğerlerde, küçük büyütmelelerde (Şekil 2 A) çok belirgin olmayan, ancak büyük büyütmelelerde, alveol yüzeyini döşeyen tip I pnömositlerde (Şekil 2 B) kıvrılmalar ve büzülmele ile, tip II pnömositlerde büzülmeden kaynaklanan içe çökmeler (Şekil 2 C →) gözlemlendi.

3.2.1.Midede KNK Bulguları:

Midenin enine kesilmiş genel görüntüsü (Şekil 3 A) ve yan kesitte (Şekil 3 B) epitel hücreleri ve epitel altı doku normal yapılarında gözlemlendi. 7500 kez büyütülen epitel hücrelerinin dizilimi düzgün olup, yüzeyde değişik büyüklük gösteren salgı damlacıkları ve yer yer bakteri benzeri yapılar izlendi (Şekil 3 C).

3.2.2. Midede HMDS Bulguları:

HMDS ile kurutulmuş, mide iç yüzeyini döşeyen epitel hücrelerinde, küçük büyütmelelerde (Şekil 4 A, Şekil 4 B) belirgin bir değişiklik görülmedi. Büyük büyütmelelerde ise, yer yer büzülme ve yarılmalar yanında, çubuk ve iplikli şekilli bakteriler gözlemlendi (Şekil 4 C →).

4- TARTIŞMA VE SONUÇ

SEM için Biyolojik objelerin preparasyonunda uzun yıllardır kullanılan KNK yöntemi, objelerde yüzeyel bozulma olmadan

kuruma sağladığından, preparasyon yöntemi olarak klasik kitaplara girmiş ve birçok çalışmada kullanılmıştır (Bray vd., 1993; Chance. ve Mawhinney,2004; Hayat, 1974; Topçuoğlu vd., 2005). Ancak KNK yöntemi uygulayabilmek için özel KNK aygıtı gerekmesi ve yöntemin uzunluğu nedeniyle KNK'ya alternatif olabilecek başka yöntemler araştırılmış ve karşılaştırmalı çalışmalar yapılmıştır. Sıçanlarda KNK ve HMDS ile karşılaştırmalı yapılan çalışmada (Bray vd., 1993), HMDS yönteminin KNK yöntemine alternatif bir yöntem olabileceğini rapor edilmiştir. Bizim bundan önceki çalışmamızda da HMDS ile kurutulmuş böbreklerin glomerüllerinde, podosit hücre gövdelerinde büzülmele ve yüzeyel yapı değişiklikleri bildirilmiştir (Topçuoğlu vd., 2005b).

Fare organlarının SEM ile incelenmesinde, akciğerler ve mide ile ilgili az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. KNK uygulanmış fare akciğerlerinde, Amatya, B.M. (2002)'nin Clara hücrelerinin yapısı ile ilgili bir çalışmasındaki normal hücreler ile Junquera, vd., (1993) ve Kesel. ve Kardon, (1979)'un çalışmalarındaki Clara hücrelerinin SEM görüntülerine, bizim KNK grubumuzda gözlediğimiz Clara hücre morfolojisi uyar niteliktedir.

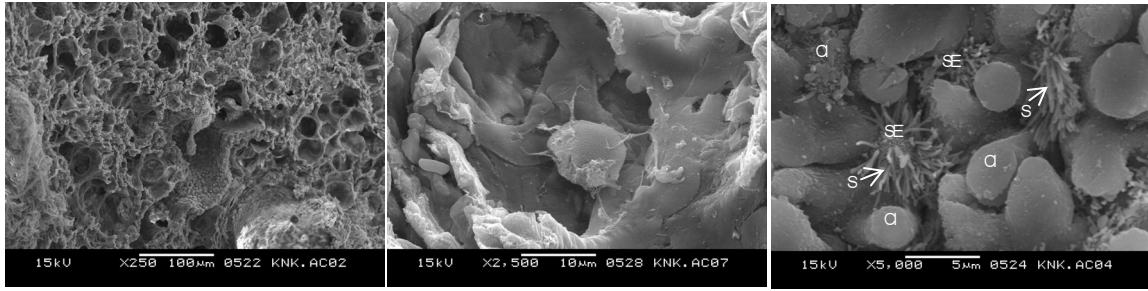
Change ve Mawhinney (2004)' in KNK ve HMDS yöntemlerinin uygulandığı respiratuvar mukosa üzerinde yapılmış bir çalışmada , çıplak fare ksenograf modelde infekte insan solunum epitelinde KNK ile hazırlanmış yüzey epiteli ve siller ile bakteriler SEM'ta gösterilmiştir. Normal epiteldeki sil morfolojisi ile bizim KNK örneklerimizdeki sil morfolojisi benzer yapı göstermektedir. Ayrıca aynı bu çalışmada HMDS ile kurutulmuş solunum epitelinde büzülmele ve sillerde bozulmalar yanında bakteriler de gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da HMDS ile kurutulmuş akciğerlerde büyük büyütmelelerde epitel hücrelerinde büzülmele ve bazı hücrelerde içe çökmeler şeklinde yapı bozulmaları gözlenmiştir.

Farenin gastrointestinal bölgesinin epitelyal yüzeyinde mikrobiyal kominitelerdeki elemanların araştırılmasında (Savage, D.C. ve Blumersine, R.V.H. 1974), preparasyonda KNK uygulanmış ve SEM kullanılmıştır. Midede salgı yapılmayan alanın epitel hücreleri yüzeyinde bakteri yoğun bir tabaka gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da KNK uygulanmış epitel hücreleri yüzeyinde de çok küçük bakteri benzeri yapılar gözlenmiştir. Ayrıca HMDS uygulanmış mide epitel hücreleri yüzeylerinde de bakteriler izlenmiştir. *Campylobacter pylori*'nin ve gastrodouedonal lezyonların taramalı elektron mikroskobu ile değerlendirilmesi çalış-

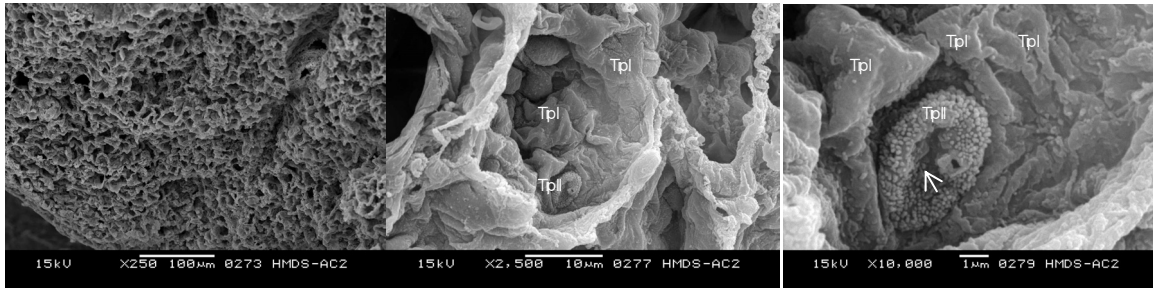
masında da KNK ve HMDS preparasyonda kullanılmış olup, SEM'in bakteri morfolojisinin ayrımı ve lokalizasyonun belirlenmesi için spesifik ve çabuk teknik olduğu bildirilmiştir (Foliguet vd., 1989).

Sonuç olarak, fare akciğer ve mide dokularının hücresel yapılarının SEM için hazırlan

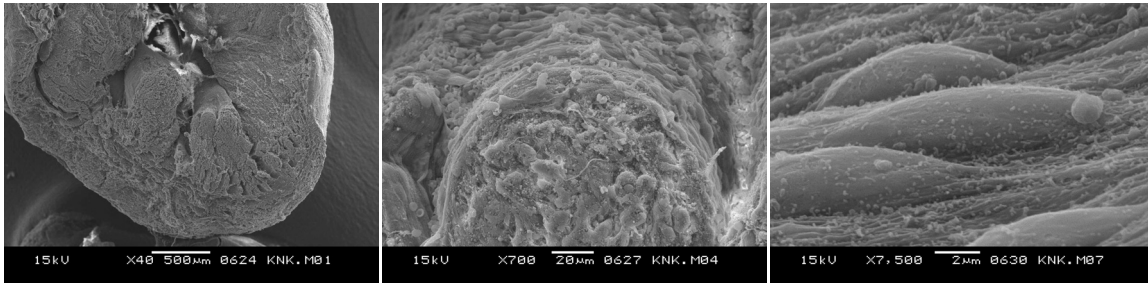
masında en iyi yöntemin KNK olduğu gözlenmiştir. HMDS yönteminin, akciğer gibi gözenekli ve çok boşluklu objelerin SEM preparasyonu sırasında, bozulmalara neden olduğu ve bu tür objeler dışında KNK'ya alternatif bir yöntem olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.



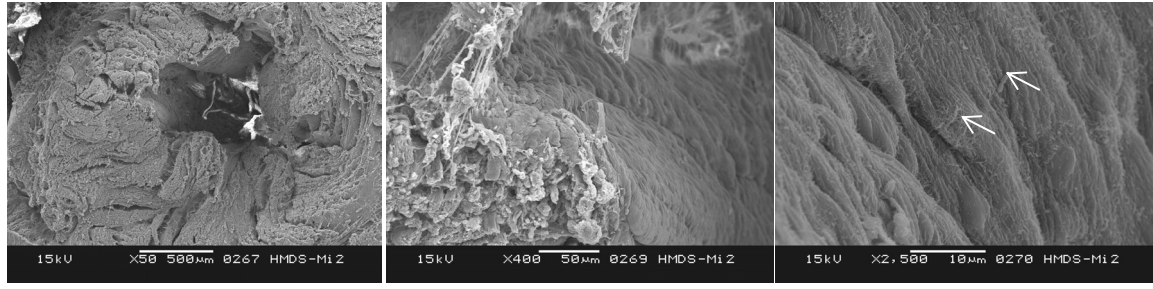
Şekil 1. KNK yapılmış Akciğer A: Genel görünüş , B: Alveol epiteli ve alveoler makrofaj, C: Silli epitel ve Clara hücreleri



Şekil 2. HMDS ile kurutulmuş Akciğer A: Genel görünüş, B: Alveoller, C: Tip I ve Tip II Epitel hücreleri (iç çöküntü beyaz ok)



Şekil 3. KNK yapılmış Mide kesiti A: Genel görünüm, B: Yan kesit ve iç yüzey C: İç yüzey epiteli



Şekil 4. HMDS ile kurutulmuş Mide kesiti A: Genel görünüm, B: Yan kesit ve iç yüzey, C: İç yüzey epiteli (Bakteriler beyaz ok)

TEŞEKKÜR:

Bu çalışmanın Tarama Elektron Mikroskop ile inceleme aşamasında, bölümlerinde bulunan Jeol 6060 SEM'in kullanılmasına olanak sağladıkları için, Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR ile, Bölüm Başkan Yardımcısı Sayın Doç. Dr .A. Bülent ÖNAY'a teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR:

- Amatya, B.M. (2002). The Clara cells activated by acetaminophen. *J.Med.Dent.Sci* 49; 103-108.
- Baker, J.T. (2005). Hexamethyldisilazane Material Safety Data Sheet. <http://www.jtbaker.com/msds/englishhtml/H2066.htm>.
- Botes, L., Price, B., Waldron, M., Pitcher, G.C. (2002). A simple and rapid scanning electron microscope preparative technique for delicate "gymnodinoid" dinoflagellates. *Micros.Res.Tech.Oct.* 15; 59(2); 128-30.
- Bray, D.F., Bagu, J. Koegler, P. (1993). Comparison of hexamethyldisilazane (HMDS), Peldri II. and critical point drying methods for scanning electron microscopy of biological specimens. *Microsc. Res. Technique*, 26, 489- 495.
- Chance, DL., Mawhinney, T.P. (2004). SEM Examination of Host-Pathogen Interaction in the Respiratory Mucosa with Drying by HMDS and by Critical Point Method. *Microsc. Microanal.* 10 (Suppl 2), 38-239.
- Chissoe., WF., Vezey, E.L., Skvarla, J.J. (1994). Hexamethyldisilazane as a drying agent for pollen scanning electron microscopy. *Biotech Histochem.* 69(4): 192-8
- Fratesi, S.E., Lynch, F.L. (2001). Comparison of organic matter preservation techniques for SEM study of geologic samples. GSA Annual Meeting, November 5-8, 2001, Paper No. 126-0
- Foliguet, B., Vicari, F., Guedenet, J.C., De Korwin, J.D., Marchal, L. (1989). Scanning electron microscopic study of *Campylobacter pylori* and associated gastroduodenal lesions. *Gastroenterol Clin Biol.* 1989,13(1Pt1):65B-70B.
- Hayat, M.A. (1974). Principles Techniques of Scanning Electron Microscopy. Biological Applications Vol.1. Van Nostrand Reinhold Company. New York, London,
- Heegaard, S., Jensen., Prause, J.U. (1986). Hexamethyldisilazane in preparation of retinal tissue for scanning electron microscopy. *Ophthalmic Res.* 18(4); 203-8
- Junquera, L.C., Carerio, J., Kelley, R.O. Çeviri Ed., Aytekin, Y.vd., (1993). Basic Histology -Temel Histoloji 7. Baskı. Barış Kitabevi, İstanbul., 347-414.
- Kennedy, J.R. Williams, R.W., Gray, J.P. (1989). Use of Peldri II (a fluorocarbon solid at room temperature) as an alternative to critical point drying for biological tissues. *J.Electron.Microsc. Tech.* 11(2), 117-25
- Kessel, R.G., Kardon, R.H. (1979). Tissues and Organs: a text-atlas of scanning electron microscopy. W.H.Fremann and Company/ San Francisco , P165-169; P211-215.
- Krs, O., Burkert, J., Slizova, D., Kobylka, P., Spatenka, J. (2006). Allograft semilunar

cardiac valves processing and cryopreservation – morphology in scanning electron microscope. *Cell Tissue Bank.* 7(3), 167-73.

Kuhnel, T., Koveker, G., Muller, G.H. (1989). Drying with hexamethyldisilazane—a time-saving alternative to the “critical point” method. *Handchir. Mikrochir. Plast. Chir.* 21(3), 164-5.

Maser, M.D., Trimble, III.J.J. (1977). Rapid chemical dehydration of biologic samples for scanning electron microscopy using 2,2-Dimethoxypropane. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* Vol 25(4), 247-251.

Nation, J.L. (1983). A new method using hexamethyldisilazane for preparation of soft insect tissues for scanning electron microscopy. *Stain Technol.* 58, 347- 351.

Oshel, P. (1997) HMDS and Specimen Drying for SEM. *Microscopy Today* 97(4), 16.

Pipan, N., Sterle, M. (1986). Cytochemical and scanning electron-microscopic analysis of apoptotic cells and their phagocytosis in mucoid epithelium of the mouse stomach. *Cell Tissue Res.* 246(3); 647-52.

Savage, D.C., Blumershine, R.V.H. (1974). Surface-Surface Associations in Microbial Communities Populating Epithelial Habitats in the Murine Gastrointestinal Ecosystem: Scanning Electron Microscopy. *Infection and Immunity* Vol.10,(1), 240-250.

Topçuoğlu, N. (2005a). Taramalı elektron mikroskop ile biyolojik objeleri inceleme yöntemleri. 17.Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi Uluslararası Katılımlı 22-24 Haziran 2005 Bildiriler Kitabı S. 19-24.

Topçuoğlu, N., Selvi, N., Dokumacı, E., Kayatekin, I. (2005b). Fare dokularının taramalı elektron mikroskop için preparasyonunda kritik nokta kurutma ve hegzametildisilazan ile kurutma yöntemlerinin karşılaştırılması. I – Böbrek ve karaciğer bulguları. 17.Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi Uluslararası katılımlı 22-24 Haziran 2005 Bildiriler Kitabı S.171-174.

Toskala, E., Smiley-Jewell, S.M., Wong, V.J., Plopper, D.K.G. (2005). The temporal and spatial distribution of ciliogenesis in the

tracheobronchial airways of mice. *Am.J.Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 289(3), L454-L459.



Nejat TOPÇUOĞLU, 1944 İzmir doğumlu olup E.Ü.Fen Fakültesi’nde Tabii İlimler Bölümünde Lisans ve Zooloji dalında Yüksek Lisans yaptı. 1971-1974 yıllarında E.Ü.Tıp Fakültesi Patoloji Kürsüsünde “Sitoloji Doktorası” nı tamamladıktan sonra 1983 yılında Doçent, 1988 yılında Profesör oldu. 1991’den bu yana Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı ve 2005 yılından buyana, Ege Üniversitesi Elektron Mikroskopi, Görüntüleme, Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürlüğünü yürütmektedir. 10 Yurt dışı, 25 yurt içi makalesi, 9 yurt dışı, 68 Yurt içi bildirisi, 1 tanesi çeviri olan 3 kitabı vardır.



Esra DOKUMACI, 2003 yılında DEÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü’nden mezun olmuştur. 2006 yılında DEÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü’nde doktora başlamıştır. Çalışma alanları; yüksek sıcaklık korozyonu, yüksek sıcaklık malzemelerinin üretimi ve elektron mikroskopu kullanarak malzemelerin incelenmesidir.

2003 yılından beri aynı bölümde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.



Nur SELVİ, 1995 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Biyokimya Bölümünde Yüksek Lisans eğitimine başladı. 1995-1996 yılları arasında Ege Üniversitesi Yabancı Diller Bölümünde 1 yıl İngilizce hazırlık eğitimi aldı. 1999 yılında Yüksek Lisansını bitirdi. 2000-2002 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Laboratuvarında gönüllü olarak çalıştı. 2002-2003 öğretim yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında doktora programına başladı. Halen aynı anabilim dalında doktora öğrencisi ve araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.