

# ELEKTRON MİKROSKOBUN TIPTA KULLANIM ALANLARI

Deniz Akçayöz, Kübra Köken, Görkem Kunt, İhsan Barış Müldür, Saniye Gökçe Saykal  
Danışman: Gülten Karabay

## ÖZET

Optik mikroskoplar bilim çağının hızla ilerlemesinde önemli rol oynayan buluşlardandır. Her ne kadar hızlı bir gelişme gösterse de ışığın yarı dalga boyu olan 250 nm'den daha küçük ayrıntıyı göstermeleri mümkün olmamıştır. Hareketli parçacıklara eşlik eden dalga boyunun bulunması, bu konudaki çalışmaları yönlendirmiş ve ışık kullanılan mikroskopların yerine elektron kullanılan, daha yüksek çözünürlük gücü sağlayan mikroskopların keşfine gidilmiştir. Elektron Mikroskoplar çalışma prensibi ve buna bağlı olarak kullanım alanları yönünden iki gruba ayrılmaktadır. Transmission(Geçirimli) Elektron Mikroskobu(TEM) ve Scanning(Tarayıcı) Elektron Mikroskobu(SEM). TEM'in takip prosedürü; tespit, dehidratasyon, gömme, kesit alma ve boyama aşamalarından oluşur. SEM'deki takip prosedürü ise TEM'e benzerlik göstermekle birlikte dokudan kesit alınmaması ve doku yüzeyinin altın gibi bir metal veya karbon ile kaplanması yönünden farklılık gösterir. TEM'in çalışma prensibi kurşun sitrat-uranil asetat ile boyanmış dokunun içinden geçen elektronlarla etkileşimi esasına dayanmaktadır. Oluşan görüntü siyah-beyaz ve iki boyutludur. Buna karşın SEM' de kaplanmış doku yüzeyine çarparak saçılan elektronların bir dedektör ile toplanmasıyla oluşan üç boyutlu bir görüntü söz konusudur. Bu iki mikroskobun çalışma prensibi ve takip prosedürü kullanım alanlarını belirlemektedir. TEM'in çalışma prensibi yumuşak dokuların incelenmesine uygundur. Bu nedenle çoğunlukla patolojik doku biyopsilerinin, mikrobiyolojik materyallerin, doku ve organ araştırmalarının incelenmesinde kullanılır. SEM ise daha büyük boyutta ve sert materyal yüzeylerinin incelenmesine olanak sağladığı için sanayi ağırlıklı olmak üzere tıp ve diş hekimliği alanlarında da kullanılmaktadır. Sonuç olarak tıp alanında TEM yumuşak dokuların incelenmesi nedeniyle daha çok kullanılmakla birlikte yüzey farklanmaların çalışılacağı araştırmalarda SEM tercih edilmektedir.

## GİRİŞ

1600'lü yılların başında keşfedilen elektron mikroskop zamanla oldukça ilerleme kaydetmiş ancak ışık mikroskobunun büyültme gücü 2500'ü geçememiştir. Bu bazı materyallerin incelenmesinde yetersiz kalmıştır ve daha küçük nesnelere incelenmesi için daha büyük büyültme gücüne sahip mikroskoplara gereksinim duyulmuştur[10]. Görme ve görüntü üretme, nesnelere yansıyan ışınların işlenmesine bağlı olduğundan, çözünürlüğün artırılarak daha küçük ölçeklere inilebilmesi için, görünür ışığından çok daha kısa dalga boylarına inilmesi gerekmiştir. Kuantum mekaniğinin sırları çözüldükçe, dikkatler elektronun düşük enerjilerde sergilediği dalga davranışına odaklanmıştır. Sonuç olarak, 1933 yılında Max Knoll ve Ernst Ruska adlı iki Alman bilim adamı görüntüyü oluşturmak için, foton yerine elektronları kullanan elektron mikroskobunu keşfetmişlerdir[10]. Böylece virüsleri, hücre organellerini, metabolit birikimlerini, katı cisimlerin yüzeylerini, artropotların detaylı yapısını, kriminoloji laboratuvarlarında delilleri, klinikte biyopsilerin ışık mikroskopta ayırt edilemeyen yapısal bozukluklarını (sillia yapısı gibi) inceleme fırsatı bulunmuştur[2,8,7].

Ancak elektron mikroskopta incelenmek istenen materyalin yapısal özelliğine göre, hangi tip elektron mikroskopta inceleneceği belirlenmeli ve buna göre de belirli prosedürlerle hazırlanmalıdır. Günümüzde bazı araştırmacılar elektron mikroskopta inceleme yapmak istemekte ancak elektron mikroskopları iyi tanımadıklarından dolayı materyallerini hangi

mikroskopla ve nasıl bir prosedüre göre hazırlanması gerektiği konusunda tereddüt etmektedirler. Bu nedenle biz bu çalışmada hem her iki tip elektron mikroskobunu çalışma ve takip prosedürleriyle tanıtmayı hem de kullanım alanlarını belirtmeyi amaçladık.

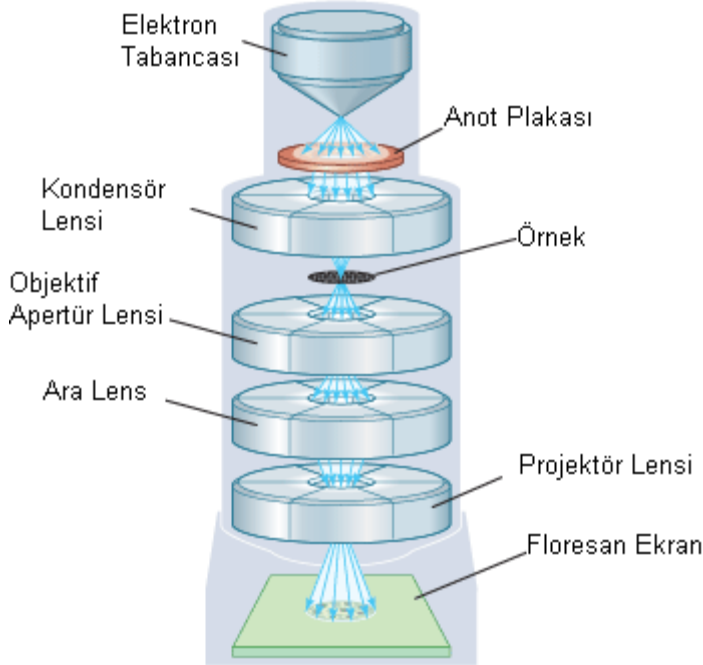
### Tarihçe

- İlk TEM Knoll ve Ruska tarafından 1932’de yapılmıştır.
- İlk bakteri resmi 1937 yılında çekilmiştir.
- İlk taramalı elektron mikroskobu Von Ardenne tarafından 1938 yılında geliştirilmiştir.
- İlk virus resmi ise 1940 yılında çekilmiştir.
- Biyolojik elektron mikroskopinin etkin olarak kullanımı 1970 yılında başlamıştır.
- Ülkemize ise ilk elektron mikroskobu İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü’nde çalıştırılmıştır.[4]

## TRANSMİSSION ELEKTRON MİKROSKOP(TEM)

### TEM Çalışma Prensibi

TEM üç bölümde incelenir.



Birincisi vakum yapan bölümdür burada elektron ışınları elde edilebilmesi için  $10^{-4}$  ile  $10^{-5}$  torr arasında bulunan vakum elde edilmesi gerekmektedir. Bu bölüm hava emen döndürücü pompalardan oluşan rotasyon pompası ve serbest difüzyon olayından istifade ederek hazırlanmış olan difüzyon pompalarından oluşur. İkincisi ise optik silindir bölümüdür. Burada elektron ışınları ile görüntü elde edilir ancak bu bölüm ilerlemiş vakum elde edildikten sonra çalıştırılabilir. Optik silindir bölümünde elektron ışını kaynağı, ışınları odaklama alanları, ışıklandırma ayar sistemi, diyafragmanlar sistemi, kesit taşıyıcısı manyetik bobin devreleri ve floresan görüntü ekranı bulunur. Üçüncü bölüm ise fotoğraf

çekme bölümüdür. TEM’de floresan ekran üzerine net şekilde düşürülen görüntü floresan ekranın kaldırılmasıyla altta bulunan  $7 \times 7$  cm’ lik özel filmler üzerine düşer[15].

Bir optik sistemin ayırma gücü ne kadar fazla ise iki nokta arasında görülebilen uzaklık o kadar küçüktür. Bu da kullanılan ışığın dalga boyu uzunluğu ( $\lambda$ ) ile doğru, objektif nümerik açıklığı ile ters orantılıdır. Objektifi nümerik açıklığı bir taraftan apertür açısına, diğer taraftan kırılma indisine ( $n$ ) bağlıdır. Daha küçük cisimlerin görülebilmesi için daha küçük dalga boyuna sahip ışınların kullanılması gerekmektedir. 1924’de Louis de Broglie hareket halindeki her cisme bir dalganın eşlik ettiğini teorik olarak ortaya koymuştur. Hızlandırılmış elektronlarla yapılan difraksiyon denemeleri, de Broglie ye Nobel Ödülü kazandırarak bu teoremin doğruluğunu teyit etmiştir[4]. TEM’in çalışması ışığın cam merceklerdeki sapma davranışının benzeri olan,

elektron demetinin elektromanyetik alanlarda sapma ilkesine dayanır. Elektronlar vakum ortamında metalik bir filamanın (katot) yüksek dercede ısınmasıyla elde edilir. Bu elektronlar salıverildikten sonra katot ile anot arasında 60-100 Kv ya da daha fazla potansiyel farkına sokulur. Anod merkezinde ufak bir delik olan metalik bir plakadır. Elektronlar katottan anoda doğru ivme kazanarak hızlanır. Bu hızlanmayla da 0,04 -0,05 A° dalga boyunda elektron ışınları elde edilir. Bu ışın demeti elektromanyetik mercekler tarafından saptırılır. Böylece kondansör mercek elektron demetini nesne düzlemine odaklar ve objektif mercek incelenen nesnenin bir görüntüsünü oluşturur. Bu görüntü yansıtıcı merceklerle daha da büyütülür ve son olarak floresan ekranda bir görüntü oluşturulur. İstenirse bu görüntü fotoğraf plakaları üzerine aktarılır[14].

TEM ünitesi her türlü titreşim, manyetik ve elektrik tesirlerden, tozdan uzak olmalıdır. İyi şekilde havalandırılmalı ve sıcaklık 18-25°C arasında tutulmalıdır. Vakum sistemi için gerekli soğutma suyunun yeterli, temiz ve ısısının 18-22°C arasında olması gereklidir. Mikroskobun çalıştırılacağı oda mümkünse zemin ya da bodrum katta olmalıdır[15].

### **Işık Mikroskobu ile Karşılaştırma**

TEM ile ışık mikroskobu(IM) arasında aydınlatma kaynağı, çözünürlük (Tablo:1) ve çalışma prensibi açısından bazı farklar bulunmaktadır. Bunlar: Işık mikroskobunda ışık kaynağı lamba veya gün ışığı iken TEM’de ise elektron kaynağıdır. IM’da ışınlar cam kondensatör mercekten geçer, TEM’de ise manyetik kondensatör kullanılır. Preparat IM’de cam lam üzerindedir, TEM’de ise metal gridler kullanılır. Preparata çarparak kırılan ışınlar IM’de cam mercek objektifte kırılır, TEM’de ise manyetik mercek kullanılır. IM’de ilk görüntü okülerden geçen ışınlar ile gözümüze yansır, TEM’de ise oküler yerinde ikinci bir manyetik mercek sistemi mevcuttur. Buradan geçen elektronlar son görüntünün floresan bir ekran üzerine veya fotoğraf plakaları üzerine düşüşünü sağlar[4].

	<b>Işık Mikroskobu</b>	<b>Elektron Mikroskobu</b>
<b>Aydınlatma Kaynağı</b>	Görünür ışınlar ( $\lambda =550$ nm)	Elektron demeti ( $\lambda =0.005$ nm)
<b>Çözünürlük</b>	0.25 $\mu$ m	0.05nm
<b>Max büyütme</b>	1400 $\times$	1000000 $\times$

Tablo:1

### **TEM’de Takip Prosedürü**

Geçirimli elektron mikroskop için preparat hazırlamada ilk aşama boyutu 1mm<sup>3</sup>,ten küçük olan dokunun tespiti. Bu işlem TEM’ de tamponlanmış gluteraldehit ile yapılan fiksasyon ve osmium tetroksit ile yapılan post fiksasyondur[5]. Dokunun tipine göre kullanılacak fiksatif çeşidi, süresi ve oranı değişiklik gösterebilir. Takip işleminde ikinci aşama dokunun yıkanmasındaki amaç fazla fiksatifin dokudan distile su veya tampon solüsyonu ile uzaklaştırılmasıdır. Üçüncü aşama dokuyu fazla sudan kurtulmak amacıyla dereceli etil alkol ve aseton ile yapılan dehidratasyondur. Dördüncü aşama propilen oksit ile yapılan şeffaflandırma işlemidir. Bu işlemin amacı gömme materyali ile yer değiştirebilecek bir madde ile dokuyu etkileştirmektir. Beşinci aşama ise dokunun yapısını bozmadan ultramikrotomda kesit alınabilecek şekle getirmektir için yapılan gömmedir. Gömme materyali dehidratasyon gerçekleştirilen maddede çözünmeli, parçanın içine bir hasar vermeden homojen olarak

dağılabilmeli ve sertleşebilmelidir. Bu maddelerden epoksi resin en çok tercih edilenlerdendir. Bunların yanı sıra suda eriyebilen reçineler de kullanılabilir. Daha net ve gerçeğe yakın sonuçlar gözlenir. Çünkü dehidratasyonda oluşabilecek artefaktlar oluşmaz. Ancak uzun ömürlü değildir. Ayrıca patolojide çok acil olarak incelenmesi gereken dokular için dondurma mikrotomu ya da kriyostat kullanılır. Bu alet dokuyu dondurarak sertleştirir. Doku gerçeğe en yakın ve en net görüntüyü verir (dehidratasyon olmadığından), diğer bir avantajı da hemen incelenebilir olmasıdır. Altıncı aşama 56°C'lik etüvde dokuyu kesilebilecek şekilde sertleştirmektir. Yedinci aşama da yarı ince kesit alma aşamasıdır. Doku 1500 µ kalınlığında kesilir ve toluidin blue boyası ile boyanarak ışık mikroskopta bakılarak ve EM'de incelenecek alana karar verilir. Daha sonra dokudan ultramikrotomda cam ya da elmas bıçak yardımıyla 400-600Å kalınlığında ince kesitleri alınır ve bakır gridlere yerleştirilir. Sekizinci aşama da kesitlerin boyanmasıdır. Rutin olarak kurşun sitrat ve uranil asetat kullanılır. Kesitin üzerine bir miktar boya damlatıldıktan sonra belirli bir süre beklenir, ardından fazla boyadan kurtulmak için kesit üzerine az miktarda su damlatılır. Su filtre kâğıdı yardımı ile çekilir ve kurumaya bırakılır. Kuruma işlemi tamamlandıktan sonra kesit incelenmeye hazır hale gelir. Dokuya göre ya da inceleme amacına göre kullanılacak boyalar değişiklik gösterir. [15,16].

### **TEM'in Kullanım Alanları**

TEM'in tıp alanında öneminin artması, patoloji ve mikrobiyoloji anabilim dallarında rutinde kullanıma girmesi ile olmuştur. TEM' in sağladığı teknik destek ile patolojik biyopsilerde tanıya yardımcı olması, araştırma alanlarında kullanımını yaygınlaştırmıştır. TEM'in kullanım alanları:

1. Doku ve Organ Örnekleri: Beyin dokusu ve BOS örnekleri, lenf düğümü stromal bileşenleri ve lenfoma tanılarında kemik iliği incelemesi, hasarlı ya da anormal yapıların değerlendirilmesi, kan kültürlerinin incelenmesi, kemik dokusunun dekalsifikasyon işlemi yapıldıktan sonra incelenmesi[8,12,13]
2. Doku mühendisliği uygulamalarında
3. Hücre ve doku kültürünün yapısal incelemelerinde[13]
4. Embriyonel dokuların, bakteriyel translokasyon içinde mezenter lenf nodu, dalak, karaciğerin incelenmesi[14]
5. Tümör tanılarında, konjenital metabolik hastalıkların tanısında[1]
6. Yüksek çözünürlüklü TEM 0,089 ve 0,078 nm aralıklarla dizilmiş karbon ve silikon atomlarını çözümleyebilmekte ve malzeme kusurlarını bulabilmektedir. Bu özelliğinden dolayı bilgisayar sanayinde de kullanılmaktadır.[9,11]

### **SCANNING ELEKTRON MİKROSKOP (SEM)**

Neden SEM?

- Işık mikroskobunun ayırma gücünün yetersizliği ve büyütme gücünün buna bağlı olarak düşük olması
- Işık mikroskobunda alan derinliğinin düşük olması nedeniyle, pürüzlü yüzeye sahip örneklerin yüksek büyütmelede incelenmesindeki yetersizlik
- Işık mikroskobunun sanayide incelenen malzemelerin kimyasal bileşenleri hakkında bilgi verememesi

### **SEM Çalışma Prensipleri**

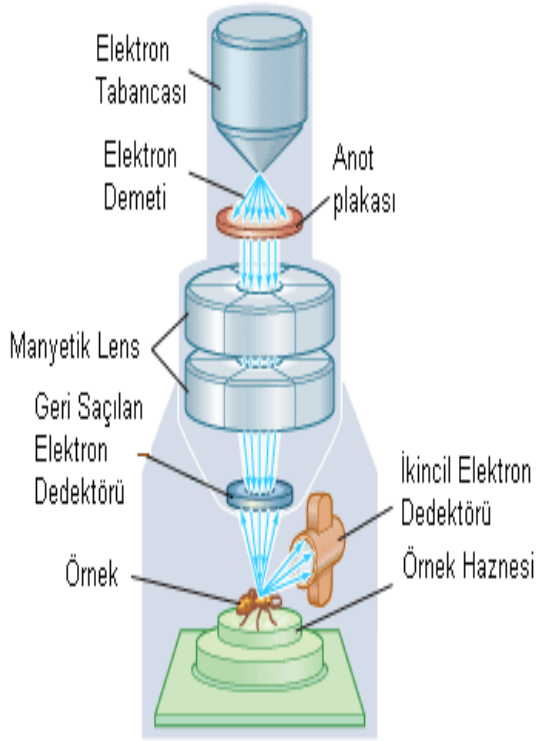
Taramalı Elektron Mikroskop, optik kolon, örnek haznesi ve görüntüleme sistemi olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır.

Optik kolon kısmında, elektron demetinin kaynağı olan elektron tabancası, elektronları örneğe doğru hızlandırmak için yüksek gerilimin uygulandığı anot plakası, ince elektron demeti elde etmek için yoğunlaştırıcı mercekler, demeti örnek üzerinde odaklamak için objektif merceği, bu merceğe bağlı çeşitli çapta apartürler ve elektron demetinin örnek yüzeyini taraması için tarama bobinleri yer almaktadır. Mercek sistemleri elektromanyetik alan ile elektron demetini inceltmekte veya örnek üzerine odaklamaktadır. Tüm optik kolon ve örnek belirli bir vakum seviyesinde tutulmaktadır.

Örnek haznesinde, incelemek için uygun şartlara getirilen örnek bulunmaktadır.

Görüntü sisteminde, elektron demeti ile örnek girişimi sonucunda oluşan çeşitli elektron ve ışınları toplayan dedektörler, bunların sinyal çoğaltıcıları ve örnek yüzeyinde elektron demetini görüntü ekranıyla senkronize tarayan manyetik bobinler bulunmaktadır.

Elektron tabancası tarafından gönderilen birincil elektronlar, örnek yüzeyi ile çeşitli etkileşimlere girerler:



© 2008 Encyclopædia Britannica, Inc.

- Etkileşime giren birincil elektronlar, örnek yüzeyine çarpar ve enerjilerini neredeyse hiç kaybetmeden saçılırlarsa bu elektronlara gerçi saçılan elektronlar denir.
- Birincil elektronlar, örnek yüzeyine çarpar ve enerjisinin bir kısmını kaybederse ikincil elektron adını alır. İkincil elektronlar örnek haznesinde bulunan sintilatörde toplanarak ikincil elektron görüntüsüne çevrilir. İkincil elektronlar örnek yüzeyinin 10 nm veya daha düşük derinliğinden geldiği için örneğin yüksek çözünürlüğe sahip topoğrafik görüntüsü elde edilir.[6]
- Gelen demetin diğer elektronları ise örnek tarafından absorbe edilerek toprağa verilir ve böylece oluşan akıma “örnek akımı” adı verilir.
- Birincil elektronlarla örneğin etkileşimi sırasında, örnekten X ışınları da yayılır.

Görülen farklı etkileşimlerden her biri SEM de ayrı bir görüntü yöntemi oluşturur. Bu yöntemler kısaca şunlardır:

- Sekonder elektron yöntemi: Esas olarak yüzey topoğrafyasını verir.
- Geri saçılan elektron yöntemi: Yüzey topoğrafyası ve parlatılmış düzgün yüzeyler üzerindeki kimyasal dağılım ve etkileri gösterir.
- X ışınları görüntü yöntemi: Kimyasal bileşim dağılımlarını gösterir. Bu yöntem Elektron Mikroskop Analizi olarak bilinir.
- Örnek akımı yöntemi: Geri saçılan elektron yöntemine benzer biçimde görüntü oluşturur; fakat görüntü kontrastı tam tersidir.[17]

## SEM'de Preparat Hazırlanması

SEM için incelenecek örnek dokular kadavralardan, biyomateryallerden, biyopsilerden, deney hayvanlarından, endüstri ve sanayi alanından gelir. Örnek fiksatifin dokunun içine işleyebileceği en büyük boyutta alınır. Yumuşak dokuda yüzey detayını yüksek ölçüde görmek istiyorsak, dokuyu daha küçük boyutta alırız. Alacağımız dokunun eni, boyu ve yüksekliği çalışılan mikroskobun örnek haznesine uygun olmalıdır.

## SEM'de Takip Prosedürü

1)**Fiksasyon:** Fiksasyon süresi ve sıcaklığı dokudan dokuya farklılık göstermektedir.

- **Birincil Fiksasyon:** Gluteraldehit ile yapılır.(%2,5 )
- **Yıkama:** Tamponlar ile yapılır. Bu aşamada Sorrenson Buffer fosfat çözeltisi kullanılır. Tamponların pH'ı önemlidir. İdeal pH≈7,4.
- **İkincil Fiksasyon:** Osmiyum tetroksit ile ve 1'e 10 kuralıyla yapılır yani örnek kendinin en az 10 katı hacimde olan bir solüsyon içinde olmalıdır.
- Örnek ne kadar yumuşak ve yağ içeriği ne kadar fazla ise o kadar çabuk kararır.
- Sert doku örnekleri ise içlerine daha az osmiyum tetroksit alır.

## 2)Dehidratasyon

Etil alkol, aseton, amil asetat serileri kullanılır (amil asetat toksik olduğundan daha az kullanılır).

Düşük Derişim → *Aşamalı olarak* → → → → Yüksek Derişim

Örneğin hassasiyetine göre aşamalarda yüzde derişim belirlenir. Hassas örneklerde derişim aralığı dar iken daha sert örneklerde derişim aralığı geniştir. Örnek bu serilerin her birinde 15-20 dakika bekletilir.

## 3)Kurutma

Ortamın sıcaklığına ve materyalin büyüklüğüne göre kurutma süresi değişir.

Yumuşak dokularda, yüzey değişimleri önemli ise kritik nokta kurutması uygulanır. Bu yöntemde kullanılan cihaz, dokuda bulunan aseton, etanol veya amil asetat ile sıvı CO<sub>2</sub> yerini değiştirmesini sağlar. Cihazda bulunan vana açıldığında, sıvı CO<sub>2</sub> kritik noktada, belirli basınçta ve sıcaklıkta(35°C ve 1100 Bar) gaz haline geçerken örnek deforme olmadan kurumuş olur. Hava ile teması minimum düzeyde olmalıdır. Bu sayede örnek yüzeyi daha az bozulur. Örnek hangi madde ile dehidrate edildiyse, o madde ile kurutma yapılmalıdır.



Kemik, diş gibi sert dokularda ise havada kurutma yöntemi uygulanır. Kurutma tozdan korunma amacıyla Petri kabı gibi üstü kapalı bir cam kaptaki yapılmalıdır.

## 4)Kaplama

Yüzeyin görüntülenebilmesi için elektron yansıtıcı/elektron saptırıcı bir madde olan altın-paladium ile kaplanması gerekmektedir. Aynı zamanda bu kaplama ile kırılğan olan örnekler bozulmalara karşı korunmuş olmaktadır. [16]

## **SEM'in Kullanım Alanları**

**Adli Tıp:** Metal parçaları, tahta parçaları, boya ve mürekkep gibi maddelerin karşılaştırılmasında ayrıca saç, deri parçaları, iplik gibi maddeleri inceleyerek polis laboratuvarlarında delilleri incelemede kullanılır.

**Metaller:** Sıcak ve soğuk gibi farklı koşullarda metallerin dayanıklılığının belirlenmesinde kullanılır. Uçak, otomotiv, savunma sanayinde, güvenlik nedeniyle güçlü metal kullanımı gerektiren uçak, otomobil, tren, gemi gibi araçlarında yapımında kullanılan metallerin dayanıklılığının belirlenmesinde kullanılır.

**Bilimsel Araştırmalar:** Biyologlar bitki ve hayvan dokularının incelenmesinde, kimyagerler ise mikroskopik kristalleri, metal, plastik, seramik vs. yapısını incelemede SEM'den yararlanırlar.[7] Bunun yanı sıra, biyolojik botanik, hücre biyolojisi, tıp (anatomi, biyokimya, fizyoloji, mikrobiyoloji, patoloji, toksikoloji...), madde bilimleri (maddelerin içerik analizleri), malzeme araştırmaları, pürüzlü yüzeylerin incelenmesi, üç boyutlu cisim incelemesi ve yüzey topografyası, malzeme hasarlarının incelenmesi, diş hekimliği, arkeoloji, tekstil, mikroelektronikte yonga (chip) üretimi, sanayide hata analizleri gibi pek çok alanda da SEM'den yararlanılır.[17]

## **SONUÇ**

Tıp alanında elektron mikroskop çoğunlukla hücre ve doku araştırmalarında yapısal inceleme için ve patolojik biyopsilere ışık mikroskobun yetersiz kaldığı durumlarda tanı koymayı kolaylaştırmada ileri incelenme için kullanılır. SEM ise daha çok sert ya da yumuşak dokularda yüzey araştırmalarında tercih edilen mikroskop tipidir.

## **Kaynaklar:**

1. Bancroft J, Stevens A. Theory and Practise of Histological Techniques; 2nd Ed, London : Wilham Clowes( Beccles) Limited;1982
2. Barbato A, Frischer T, Kuehni CE, et al. Primary Ciliary Dyskinesia: A Consensus Statement on Diagnostic and Treatment Approaches in Children. Eur Respir J.;2009 Dec;34(6):1264-76.
3. Bilim ve Teknik Dergisi; Doku Mühendisliğinde Nanoteknoloji; Haziran 2007
4. Cireli E.: Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, 1966.
5. Glauert A., Lewis P.: Biological Specimen Preparation for Transmission Electron Microscopy,1998: Portland Pres.
6. <http://host.nigde.edu.tr>
7. <http://vfdergi.yyu.edu.tr/arsiv/2006/55-58.pdf>
8. <http://www.biltek.tubitak.gov.tr>
9. <http://www.nasa.gov>
10. <http://www.turkcebilgi.com>
11. <http://www.tubitak.gov.tr>
12. Huang S, Chen JC, Hsu CW, et al. Effects of Nano Calcium Carbonate and Nano Calcium Citrate on Toxicity in ICR Mice and on Bone Mineral Density in an Ovariectomized Mice Model. Nanotechnology 2009;16;20(37):375102.

13. J Neurosci. Hypothermia-Associated Loss of Dendritic Spines. 2004;24(36):7843-7.
14. Junqueira L.C., Carneiro J.: Basic Histology.
15. Köktürk İ.: Elektron Mikroskobu ve Genel Araştırma Metodları,1967.
16. Mustafa F. Sargon; Elektron Mikroskobun Bilimdeki Yeri ve Metodjisi; Sunu, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Ankara
17. Savaşkan T.: Elektron Mikroskoplarının Endüstriyel Problemlere Uygulanması, Karadeniz Üniversitesi;1986
18. Yu XX, Wan CX, Chen HQ. Preparation and Endothelialization of Decellularised Vascular Scaffold for Tissue-Engineered Blood Vessel. J Mater Sci Mater Med.;2008;19(1):319-26.
19. 19.Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi Özet Kitabı;22-25 Haziran 2009