

# Optik mikroskopların akıllanma serüveni

**Dr.Öğr.Üye. Muhammed Fatih Toy**



1983 yılında Ankara'da doğdu. Koç Üniversitesi Elektrik - Elektronik Mühendisliği bölümünden mezun oldu (2006). 2013 yılında fotonik alanında doktora derecesini İsviçre Federal Teknoloji Enstitüsü Lozan'dan (EPFL) aldı. Avrupa Uzay Ajansı (ESA) ve İsviçre Uzay Ofisi (SSO) tarafından desteklenen parabolik uçularda hücre davranışlarını tasarladığı mikroskopları kullanarak inceledi. Doktora çalışmalarında geliştirilmesine katkıda bulunduğu mikroskop teknolojisini ticarileştiren şirkette (Nanolive SA) kurucu ortak olarak yer aldı (2013). 2015 yılından beri İstanbul Medipol Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümünde öğretim üyesi olarak görev almaktadır.

**M**ikroskop sözcüğünü duyan çoğu insanın zihninde şöyle bir sahne canlanır. Beyaz laboratuvar önlüğünü giymiş bir bilim insanı okülere gözünü yaklaştırarak bir örneği incelerken, bir eliyle objektif odağını ayarlar, diğeri ile incelediği örneğin üstüne koyulduğu tezgahı hareket ettirir. Optik mikroskopların bu kadar belirgin bir stereotip ile zihnimizde canlanmasının temel nedeni yüzyıllar boyunca yetileri artsa da mikroskopların genel kullanım şeklini korumasıdır. Ancak 20. yüzyılın sonlarına doğru gerçekleşen dijital kameraların icat edilmesi, temiz oda üretim teknolojilerinde sürekli küçülen nodlara gidilebilmesi ve hesaplama gücünün sürekli artması gibi gelişmeler hem mikroskopların kullanımını hem yapı ve fonksiyonlarını derinden etkilemiştir. Öncelikli olarak gözün yerini dijital kameralar almaya başlamış, eş zamanlı olarak örnek tezgahı ve odaklama blokları elektrik motorları ile tahrikli hale gelmiştir. Bu ilk evre gelişmeler sayesinde mikroskop operatörü oküler yerine bilgisayar ekranına bakmaya başlamıştır. Klasik görüntü işleme yöntemlerinin bu tip sistemlerde kullanılması ile otomatik odaklama, otomatik örnek tarama ve görüntü birleştirme, pozlama en iyileştirme gibi temel otomasyon özellikleri erişilebilir olmuştur.

Optik mikroskopların bilgisayarlar ile entegre edilebilir ve otomasyona uygun bu formunun gelişmesi ile yeni mikroskop teknolojileri de doğrudan görüntü oluş-

turan geniş alan aydınlatmalı prensipten uzaklaşmaya başlamıştır. Daha iyi derinlik kesitlemesi, daha yüksek optik çözünürlük, daha fazla görüntü karışıklığı, nicelleştirilebilir karışıklık gibi arayışlar sonucunda yeni mikroskop teknolojileri doğmuştur. Bu mikroskop teknolojilerinden bazıları konfokal mikroskoplar, yapılandırılmış aydınlatma mikroskobu (Structured Illumination Microscopy), uyarılmış yayılımın tükenmesi mikroskobu (Stimulated Emission Depletion Microscopy), Fotoaktivite yerelleştirme mikroskobu (Photoactivated Localization Microscopy), nicel faz mikroskobu (Quantitative Phase Microscopy), faz nanoskobu (Phase Nanoscopy) vb. olarak sayılabilir. Bu yöntemlerin hepsinin ortak özelliği doğrudan gözlemlenebilir, anlamlı bir örnek görüntüsü oluşturmalarıdır. Bunun yerine dijital kamera veya algılayıcılar ile elde edilen veri hesaplamalı yöntemler ile bilgisayar ortamında işlenerek dijital örnek görüntüsü oluşturulur. Burada kullanılan hesaplamalı yöntemler genelde doğrusal girdi çıktı ilişkisini korumaktadır. Sistem performansını artırmaya yönelik tersine problemlerin çözülmesiyle, doğrusal olmayan girdi çıktı ilişkileri de ortaya çıkmaktadır. Bu tipteki yöntemler hesaplamalı görüntüleme ve hesaplamalı optik alanlarında geliştikten sonra sıkıştırılmalı algılama konsepti ile etkin bir uygulama bulmuştur. Bu yaklaşım, temelinde girdinin (görüntülenecek örnek) seyrek olduğu varsayımı ile başlar. Böylece çıkışta elde edilmesi arzu edilen veri boyutundan daha küçük bir veri

seti (alt örnekleme -undersampling-) ile görüntüleme yapılabilir. Pratikte tek bir piksel ile farklı zamanlarda alınan noktasal görüntü verisi bu prensiple büyük görüntüler oluşturmak için kullanılabilir. Böylece mikroskobun uzaysal veya zamansal çözünürlüğü iyileştirilebilir.

Bu noktada modern mikroskoplara dijital görüntüleme problemlerini mikron ve altı ölçekli objeler için çözen sistemler olarak bakabiliriz. Çözümlerde tarihsel olarak deterministik ve olasılıksal yöntemlerinin kullanılmasının ardından makine öğrenmesi ve yapay sinir ağlarının kullanılması da mikroskopların gelişimindeki bir sonraki faz olarak görülebilir. Kuşkusuz ki bu geçişi, yapay sinir ağları için olan geliştirme ortamlarının ve donanımın erişilebilir hale gelmesi hızlandırmaktadır. Yapay sinir ağlarının eğitilmesi için ihtiyaç duyulan geniş veri setlerinin sentetik olarak eldesi hesaplamalı optik deterministik modelleri ile mümkün iken uygun uygulamalarda mikroskop sistemlerinin otomasyonu bu veri setinin deneysel olarak oluşturulması sürecini hızlandırmaktadır. İki yaklaşımın birleştirildiği hibrit veri setlerinin kullanıldığı örneklerde mevcuttur. Günümüzde sıklıkla kullanılan örnekler daha az veri ile yüksek çözünürlüklü görüntü elde edilmesine odaklanmaktadır. Bu hali ile süperçözünürlük mikroskoplarının hızlandırılmasında önemli bir potansiyele sahiptir. Bunun yanında standart çözünürlüklü görüntüden yüksek çözünürlüklü veya süperçözünürlüklü görüntüyü oluşturan ağlar da mevcuttur. Daha



ilginç uygulamalardan birinde görüntü sensörü üstünden herhangi bir mercekle olmaksızın yapılan çok basit sistemlerde nicel faz karışıklığı kusurları azaltılarak görüntülenebilmiştir. Bir başka senaryoda odak dışı olan netliğini kaybetmiş mikroskop görüntülerinden keskin görüntüler sanal odaklama yapan ağlar ile hesaplanabilmiştir. Bu sayede tekrardan fiziksel görüntüleme imkanı olmayan durumlarda tatmin edici görüntüler elde edilebilir veya 2 boyutlu bir görüntüden 3 boyutlu görüntü tahmini yapılabilir. Bu uygulamaların belki de en ilginç bir çalışma moduyla elde edilen görüntüden başka bir çalışma moduna karşılık olan görüntünün sanal olarak hesaplanabilmesidir. Somut bir örnek ile faz karışıklığı veya otofloresans görüntüleri kullanılarak yapay sinir ağlarından histokimyasal boyalı veya floresan karışıklı sanal görüntüler elde edilen ağlar gösterilmiştir. Bu tip ağlar kullanılması gelecekte bazı senaryolarda doku kesiti görüntülemelerinde boyama yapılmasını gereksiz kılabilir. Doku boyaması için kullanılan zaman, iş gücü ve maliyetten tasarruf edilebilir. Bu örneklerin yanında, yapay sinir ağlarının kullanıldığı mikroskoplardan yakın gelecekte daha etkileyici ve kullanım senaryolarını sarsıcı yöntemlerin doğmasını bekleyebiliriz. Tüm bu etkileyici gelişmelere rağmen mikroskoplara temel metroloji, test ve teşhis cihazlarından olması bu gelişmelerin araştırmadan uygulamaya geçişini yavaşlatmaktadır. Bu süreç düşünülürken mikroskoplar sadece tekil enstrümanlar olarak düşünülmemelidir. Birçok farklı endüstride kullanılan cihazlarda entegre mikroskoplar (fotolitografi maske pozlayıcıları, kan testi cihazları, Nükleik asit / protein dizileme tarayıcıla-

rı vb.) bulunmaktadır. Elde edilebilecek performans kazancının tüm ilgili endüstrilerde faydaya dönmesi rahatlıkla mümkündür. Fakat yapay sinir ağlarının kullanıldığı senaryolarda elde edilen çözünürlüğü artırılmış, gürültüden arındırılmış, renklendirilmiş, odaklanmış vb. görüntülerin doğrusal girdi çıktı ilişkileri korunmadığından bir çıktı görüntünün spesifik bir noktasındaki doğruluk genelde sayısallaştırılamamaktadır. Bu nedenle metroloji standartları ve doğrusal girdi çıktı ilişkisi bekleyen sağlık düzenlemeleri açısından kullanılmaları halen açık problemler olarak durmaktadır.

#### Kaynaklar

- Betzig, E., Patterson, G.H., Sougrat, R., Lindwasser, O.W., Olenych, S., Bonifacio, J.S., Davidson, M.W., Lippincott-Schwartz, J. and Hess, H.F., 2006. Imaging Intracellular Fluorescent Proteins at Nanometer Resolution. *Science*, 313(5793), pp.1642-1645.
- Cotte, Y., Toy, F., Jourdain, P., Pavillon, N., Boss, D., Magistretti, P., Marquet, P. and Depeursinge, C., 2013. Marker-Free Phase Nanoscopy. *Nature Photonics*, 7(2), pp.113-117.
- Cuche, E., Marquet, P. and Depeursinge, C., 1999. Simultaneous Amplitude-Contrast and Quantitative Phase-Contrast Microscopy by Numerical Reconstruction of Fresnel off-Axis Holograms. *Applied Optics*, 38(34), pp.6994-7001.
- de Haan, K., Rivenson, Y., Wu, Y. and Ozcan, A., 2019. Deep-Learning-Based Image Reconstruction and Enhancement in Optical Microscopy. *Proceedings of the IEEE*, 108(1), pp.30-50.
- Klar, T.A., Jakobs, S., Dyba, M., Egner, A. and Hell, S.W., 2000. Fluorescence Microscopy with Diffraction Resolution Barrier Broken by Stimulated Emission. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(15), pp.8206-8210.
- Nehme, E., Weiss, L.E., Michaeli, T. and Shechtman, Y., 2018. Deep-STORM: Super-Resolution Single-Molecule Microscopy by Deep Learning. *Optica*, 5(4), pp.458-464.
- Rivenson, Y., Göröcs, Z., Günaydin, H., Zhang, Y., Wang, H. and Ozcan, A., 2017. Deep Learning

20. yüzyılın sonlarına doğru gerçekleşen dijital kameraların icat edilmesi, temiz oda üretim teknolojilerinde sürekli küçülen nodlara gidilebilmesi ve hesaplama gücünün sürekli artması gibi gelişmeler hem mikroskopların kullanımını hem yapı ve fonksiyonlarını derinden etkilemiştir.

*Microscopy. Optica*, 4(11), pp.1437-1443.

Rust, M.J., Bates, M. and Zhuang, X., 2006. Sub-Diffraction-Limit Imaging by Stochastic Optical Reconstruction Microscopy (STORM). *Nature Methods*, 3(10), pp.793-796.

Wang, H., Rivenson, Y., Jin, Y., Wei, Z., Gao, R., Günaydin, H., Bentolila, L.A., Kural, C. and Ozcan, A., 2019. Deep Learning Enables Cross-Modality Super-Resolution in Fluorescence Microscopy. *Nature Methods*, 16(1), pp.103-110.

Weigert, M., Schmidt, U., Boothe, T., Müller, A., Dibrov, A., Jain, A., Wilhelm, B., Schmidt, D., Broaddus, C., Culley, S. and Rocha-Martins, M., 2018. Content-Aware Image Restoration: Pushing the Limits of Fluorescence Microscopy. *Nature Methods*, 15(12), pp.1090-1097.

Wetzstein, G., Ozcan, A., Gigan, S., Fan, S., Englund, D., Soljačić, M., Denz, C., Miller, D.A. and Psaltis, D., 2020. Inference in Artificial Intelligence with Deep Optics and Photonics. *Nature*, 588(7836), pp.39-47.

White, J.G., Amos, W.B. and Fordham, M., 1987. An Evaluation of Confocal versus Conventional Imaging of Biological Structures by Fluorescence Light Microscopy. *The Journal of Cell Biology*, 105(1), pp.41-48.