

Optimizing Biopsy Parameters with Deep Learning: Enhancing Tissue Sectioning Accuracy through Transfer Learning and Real-time Feedback Systems

Abstract

This study explores the optimization of biopsy parameters using deep learning techniques for biomedical tissue sectioning devices. Employing the InceptionV3 model adapted through transfer learning, the research demonstrates a robust framework capable of high-precision tissue sample quality assessment. Experiments on various cutting angles led to the identification of optimal sectioning parameters, enhancing the quality of tissue sections significantly. Further exploration into image pre-processing revealed that maintaining the integrity of original image data often yielded better results than processed images. The study also proposes an innovative real-time feedback system for dynamic adjustment of sectioning parameters, suggesting a future direction towards fully automated histology instruments. The findings confirm the model's adaptability across different tissue types, illustrating its potential as a versatile tool in histopathology.

Table of Contents

1	Introduction and background	1
1.1	Background	1
1.2	Introduction	1
1.3	Structure of the Report	2
2	Literature review	3
2.1	Microtome and Microscope Selection	3
2.2	Deep Learning in Tissue Sectioning	3
3	Methodology and theory	4
3.1	Computer Vision - Image Segmentation	4
3.1.1	Edge Detection	4
3.1.2	Theresold Segmentation	5
3.2	Deep Learning	6
3.2.1	Convolutional Neural Networks (CNN)	6
3.2.2	Transfer Learning	7
4	Experimental work/ analytical investigation/ design	8
4.1	Data Collection	8
4.2	Data Labeling	9
4.3	Model 1: Original Images with a Simple CNN Network	11
4.4	Image Preprocessing Improvement	13
4.4.1	Edge Detection	13
4.4.2	Threshold Segmentation	16
4.4.3	Another Threshold Segmentation Method: Fingerprint Algorithm	18
4.5	Model 2: Preprocessed Images with a Simple CNN Network	18
4.6	Model 3: Original Images with Transfer Learning	20

4.7 Model Selection Summary	21
5 Presentation of Experimental or Analytical Results/Descriptions of Final Constructed Product	22
5.1 Validating Model Accuracy on a Test Set	22
5.2 Further Improvement of the Model (Changing Input Resolution)	23
5.3 Investigating the Optimal Cutting Angle for the Machine	24
5.4 Model Generalizability	24
6 Discussion and conclusions	27
6.1 Discussion of results	27
6.2 Future work	28
6.2.1 Enhancing Classification Methods	28
6.2.2 Performance Enhancement and Optimization	29
6.2.3 Optimization of the Sectioning Process	30
6.3 Conclusions	30
7 Project management, consideration of sustainability and health and safety	31
7.1 Subsection 5.1	31
7.2 Subsection 5.2	31
References	31

1 Introduction and background

1.1 *Background*

作为生命的基本单位，人类对细胞和组织的研究从未停止。生物组织切片作为直接观察细胞形态和结构的重要手段，对于生物医学研究和临床诊断至关重要。一份完整且可用的组织切片对于研究人员和医生来说非常重要，因为它提供了关于细胞结构、组织形态和病理变化的重要信息。在此过程中，切片的质量至关重要。

传统的手动切片方法耗时且易于变化，因此自动切片机的出现为这些问题提供了解决方案。对于不同的生物组织，不同的切割参数可以产生不同的结果，既有积极的，也有消极的。因此，为了提高生物切片的利用率和增加高质量标本的产量，确定特定组织的最佳切割参数仍然是一个目标。

机器学习和深度学习在计算机视觉和图像处理领域取得了显著的成功。机器学习被定义为一系列可以自动检测数据中的模式的方法，这些模式随后用于预测未来的结果或做出决策 [1]。在本文中，我们整合了先进的图像分析和机器学习技术，以识别切片质量，然后评估不同切割参数下组织样本的质量。

1.2 *Introduction*

Project Overview

本项目旨在优化生物组织切片机的切割参数，这些设备在生物医学研究和临床诊断中起着关键的作用。目标是通过确定最佳的切片条件，提高组织样本准备的精度和效率。通过收集在各种切割参数下的组织样本，并进行后续的手动图像分类，本研究采用深度学习技术来分析和预测最有效的切割参数。这项工作不仅有望提高组织样本的显微检查质量，而且有助于简化实验室工作流程，从而推动生物和医学科学的发展。

Objectives:

1. 收集在不同参数下切片的组织样本的全面数据集。
2. 采用人工图像分类来分类这些样本的质量和特性。
3. 开发和训练一个能够评估组织样本质量的深度学习模型。
4. 使用模型的洞察来确定组织切片机的最佳切割参数。
5. 通过实证测试和改进来验证模型的预测。

1.3 *Structure of the Report*

该项目分为几个章节，每个章节都旨在系统地探讨研究背景、方法、实验工作、结果展示、讨论和结论，以及项目管理、可持续性和健康安全的考虑：

引言和背景 - 本章概述了项目的目标、目的和结构安排。简要介绍了研究的动机和必要性，以及采用的技术协议和标准。

文献综述 - 对生物组织切片、图像分类和深度学习在生物样本准备中的应用进行了深入的讨论。本节将当前的研究置于现有研究的背景中。

方法和理论 - 对实验方法、理论框架和数据收集和处理的具体计划进行了详细描述。

实验工作/分析调查/设计 - 详细描述了实验设计、实施和分析调查。详细阐述了为实现项目目标所采用的策略和方法。

实验或分析结果/最终构建产品描述 - 本章展示了实验数据、分析结果或最终设计产品，详细描述了实验或设计的结果。

讨论和结论 - 分析了结果，讨论了它们的科学意义和实际价值。本章还提供了研究的结论，并提出了未来研究的可能方向。

项目管理、可持续性和健康安全考虑 - 讨论了项目管理策略、可持续性问题和健康安全措施，以确保研究工作的高效和安全进行。

参考文献 - 列出了所有参考文献，支持研究并为研究提供了基础。

Assumptions and Technical Specifications

该项目基于几个关键的假设和技术协议，包括：

1. 不同批次的组织样本的性质一致。
2. 生物组织切片机和成像设备的可靠性和准确性。
3. 深度学习模型在解释复杂的生物图像数据方面的充分性。

关于组织切片机设置、图像分类标准和深度学习架构的技术规格在方法和理论部分详细说明。

2 Literature review

这篇文献综述探讨了生物组织切片中技术的融合，特别关注图像分类和深度学习在优化切片参数方面的应用。它旨在突出重要的进展，确定当前方法学中存在的差距，并为拟议的项目奠定基础。

2.1 切片机与显微镜的选择

近年来，自动切片机的出现显著简化了切片过程，并提高了切片的质量。

Zimmermann 在文章 "Improved reproducibility in preparing precision-cut liver tissue slices" 中，主张使用新的 Leica 振动刀来提高大鼠、小鼠和人体组织切片的精度和重复性 [2]。

在这个实验中，我们使用 Epredia 提供的 HM355S 切片机进行切片。这台机器是生物组织切片研究的流行设备，许多实验和论文都使用了这台设备进行切片。

Elzbieta Klimuszko 使用 HM355S 切片机切割牙齿，以研究牙釉质中的钙和镁含量 [3]。

Andelko Hrzenjak 也使用 HM355S 切片机切割病理性子宫内膜组织，以研究子宫内膜癌发展的机制 [4]。

同样，显微镜的选择也至关重要。在这个实验中，我们使用 Keyence 的 VHX7000 显微镜进行图像采集。它能够捕获生物组织切片的图像（例如，小鼠前列腺细胞 [5]），以及无机材料（如陶瓷 [6]，玻璃 [7]）。

实验将使用 HM355s 切片机和 VHX7000 显微镜进行切片和图像采集。这种设置确保了设备选择和技术应用的最佳配合，以提高组织切片过程的精度和效率，支持研究项目的总体目标。

2.2 关于切片组织的深度学习

在生物医学领域，深度学习技术的应用已取得了显著的进步。深度学习模型在图像分类、对象检测和分割等任务中表现出色，为生物医学实验室的研究和诊断提供了强大的工具。

Lorena Guachi-Guachi 提出了一种利用 CNN 网络识别和精炼组织切片的方法。这种方法代表了深度学习的创新应用，可以提高组织准备和分析的精度 [8]。

在《生物医学纹理分析》一书中，Vincent Andarczyk 介绍了一种专为纹理分析设计的 CNN 架构，与传统架构相比，这种架构显著提高了生物组织分类的准确性 [9]。这一发展展示了深度学习提高组织特性详细分析的潜力，这对于准确的诊断和研究至关重要。

Yan Xu 提出，从在大型自然图像数据库 ImageNet 上训练的 CNN 中提取的特征可以转移到组织的病理学图像上。这为实施转移学习提供了一种可行的方法，可以大大提高组织图像分类和分析的效率 [10]。

根据文献，深度学习技术在组织切片的图像分类和分析中有广阔的应用前景。通过利用深度学习模型，可以实现组织样本的有效识别和分类，为优化切片参数提供了强大的支持。

这一部分强调了深度学习对组织切片领域的变革性影响，预示着在组织学分析的准确性和实用性方面的显著改进。

3 Methodology and theory

3.1 计算机视觉-图像分割

对于获取的图像数据，可以应用适当的图像预处理。在保持图像完整性和质量的前提下，可以实施某些处理以突出计算机识别的特征，并在一定程度上去除无关特征和噪声。这增强了后续深度学习模型的准确性。

图像分割是图像处理中的关键步骤，目的是将图像划分为几个有意义的区域以进行进一步的分析和处理。在关注生物组织产率的模型中，需要将生物切片分割为生物组织和石蜡区域，强调生物组织部分。

常见的图像分割算法包括边缘检测和阈值分割。

3.1.1 边缘检测

对于生物组织切片，质量的关键指标是切片边缘的清晰度。切片边缘的完整性和连续性可以反映样本是否存在质量问题。

有许多边缘检测的算法，如 Sobel、Laplacian 和 Canny 算子 [11]。

Sobel 算子是一种一阶差分算子，可以用来检测图像边缘 [12]。假设有一个一维图像 $f(x)$ ，其强度与像素坐标 x 的关系可以如图 1 所示。在Figure 3.1 中可以观察到，斜率在 $x=2.2$ 附近最大，表明在这个点附近图像强度有突然的变化（存在边缘）。取其导数得到一阶导数 $f'(x)$ ，如Figure 3.2 所示，其中导数的绝对值最大。Sobel 算子利用这个特性来检测边缘。

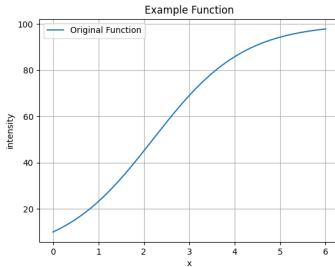


Figure 3.1 $f(x)$

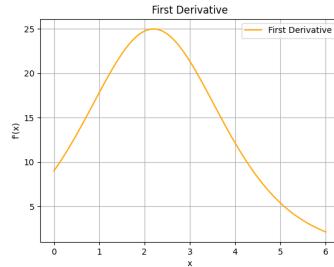


Figure 3.2 $f'(x)$

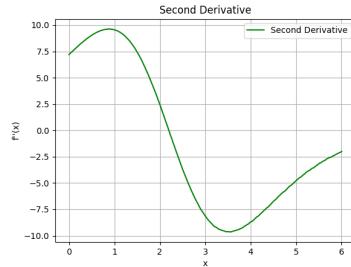


Figure 3.3 $f''(x)$

Laplacian 算子是一种二阶微分算子，其对图像的边缘检测效果较好。它是对 sobel 算子再进行一次求导得出。在 2D 图像中，Laplacian 算子的定义如下：

$$\nabla^2 f = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} \quad (3.1)$$

如上图所示，对一阶导数再次求导得到二阶导数 $f''(x)$ ，如Figure 3.3 所示，可以看到在 $x=2.2$ 左右，二阶导数为 0，即说明当 laplacian 算子 $\nabla^2 f$ 的值为 0 时，说明图像强度存在突变，即存在边缘。

Canny 算子是一种多阶微分算子，他在 sobel 算子计算后的基础上加入了对噪声的抑制。他由 John F. Canny 于 1986 年提出 [13]。简而言之，其在 sobel 算子计算后，通过非极大值抑制，滞后阈值等步骤，设置了阈值，排除图像中的假边缘，得到了更加准确的边缘检测结果。

在 Experimental work/analytical investigation/ design 这一章节中将会对采集到的图像数据进行三种边缘检测算法的实验，对比其效果。

3.1.2 阈值分割

除了边缘检测，还有一种方法是阈值分割。阈值分割是将图像中的像素点分为两类，一类是大于阈值的像素点，另一类是小于阈值的像素点。这种方法适用于图像中的目标和背景的灰度差异较大的情况。

对于样品来说，一个很简单的方法就是将石蜡区域和生物组织区域（样品在制备时已染色）的颜色进行对比，然后通过阈值分割的方法将其分割开来。假定生物组织为黄色，石蜡为白色，那么可以通过设置一个阈值，将图像中的白色部分分割出来，那么剩下的就是生物组织部分。

此外，关于阈值分割还有更多的方法，比如下面就是一个基于 Otsu 方法的指纹提取算法。将其用在此处能够显著提高生物组织的分割效果。Yue Yaru 和 Zhu Jialin 在《Algorithm of fingerprint extraction and implementation based on OpenCV》一文中提出了一种基于 OpenCV 的指纹提取算

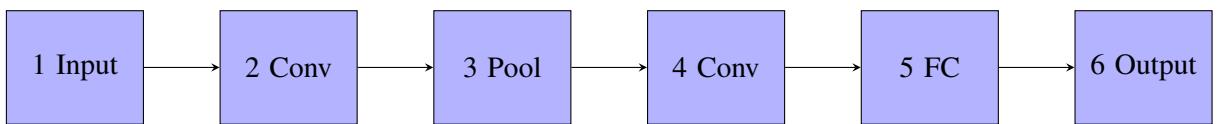
法。该算法对 Otsu 方法进行了改进，特别是在光照不均匀、图像模糊的情况下能够实现准确、简单、运行时间短的指纹提取。[14]

相关的对比和实验将在 Experimental work/analytical investigation/ design 这一章节中进行。

3.2 深度学习

3.2.1 卷积神经网络

卷积神经网络（CNN）是一种深度学习模型，尤其擅长处理图像数据。它通过一系列卷积层自动学习空间层次的特征，无需手动特征提取。一个典型的 CNN 模型包括卷积层、池化层、全连接层等。[15] 其架构如下所示。



where Conv is convolutional layer, 是 cnn 的核心层，用于提取图像的特征。Pool 是池化层，用于减小特征图的尺寸，减少计算量。FC 是全连接层，用于将卷积层和池化层提取的特征进行分类或回归分析，最后输出结果。

对于一个典型的训练 cnn 的方法，包括前向传播、损失计算、反向传播和权重更新的过程。

1. 前向传播：输入数据通过网络的每一层，直到输出层。
2. 计算损失：使用损失函数（如交叉熵损失）计算网络输出和实际标签之间的差异。
3. 反向传播：计算损失函数关于网络权重的梯度。
4. 权重更新：使用梯度下降算法或其变种（如 Adam 或 RMSprop）来更新网络权重，目标是减少损失函数的值。

训练完成后，CNN 可以用来预测新的、未见过的图像的标签。CNN 的特点就是在于能够自动、有效地学习空间层次结构的特征。

3.2.2 迁移学习

显然，对于复杂的图像来说，搭建简单的 cnn 网络明显不够。这时候就需要迁移学习。迁移学习是一种机器学习方法，通过将一个模型训练的知识迁移到另一个模型上，从而加速训练过程。迁移学习的核心思想是利用源领域的知识来帮助目标领域的学习。

对于 cnn 模型来说，迁移学习的方法有很多，比如微调、特征提取等。微调是指在一个预训练的模型上，通过调整网络的参数，使其适应新的任务。特征提取是指在一个预训练的模型上，固定网络的参数，只训练全连接层，以适应新的任务。

常用的已经训练好的模型有 VGG、Inception 等。这些模型在 ImageNet 等数据集上已经训练好，即模型内部各层的权重已经确定，可以用来进行迁移学习。

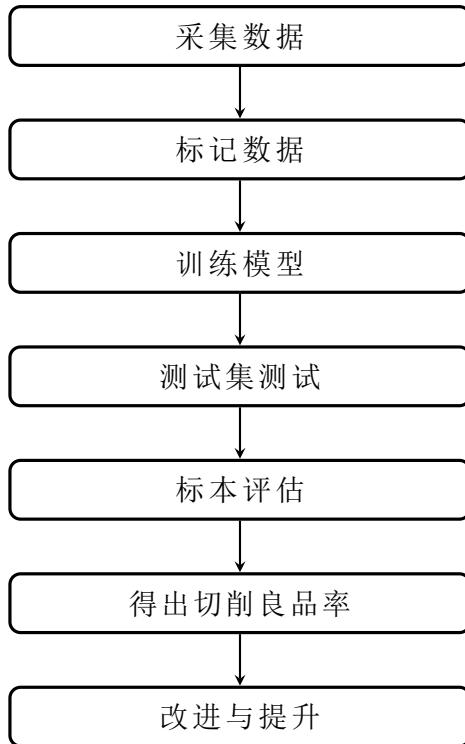
表 2 展示了 VGG16, VGG19[16], InceptionV3[17], Xception[18], 等模型的参数数量。可以看到，这些模型的参数数量都很大，可以较为准确地提取复杂图像的特征。

Table 3.1 Comparison of CNN Models

Model	VGG16	VGG19	InceptionV3	Xception
Number of Parameters	138,357,544	143,667,240	23,851,784	22,910,480

4 Experimental work/ analytical investigation/ design

实验流程



4.1 采集数据

要进行深度学习，所需要的第一步就是采集数据。在本实验中，我们使用了预先从生物实验室制备好的石蜡包埋好的组织切片（鱼的卵巢组织），将其放在 HM355s 自动切片机上依据切片机的使用手册，以不同的切削角度执行切片操作。记录切削数据。

其中切片机 (Figure 4.1) 的切片示意图（以牙齿为例）如Figure 4.2所示 [19].

在我们的实验中，我们使用切片机的参数如下：模式设置为连续，进给速度为 5.0，修整值为 25，速度为 32，水流速度为 7.5，水温约为 36 摄氏度，切割角度在 8 到 12 度之间。

用于切片的生物组织（示例）如Figure 4.3所示

在切片完成之后，将切好的不同类型的组织切片放在载玻片上（如Figure 4.4）所示，待其晾干后转移至 VHX7000 显微镜下，通过显微镜对每份样品进行拍照，获取到每份样品的电子图像数据（如Figure 4.5）。

据此，一共得到几百张图片，每张图片的分辨率为 2880*2160。样本示例如Figure 4.6所示。

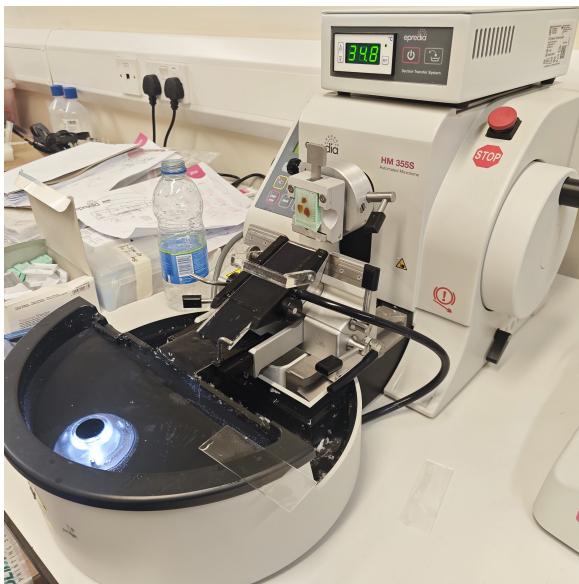


Figure 4.1 切片机

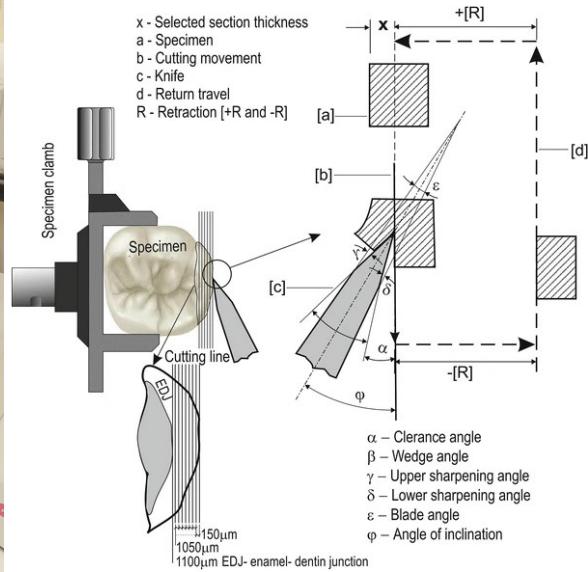


Figure 4.2 切片机示意图



Figure 4.3 生物组织切片



Figure 4.4 采集样本

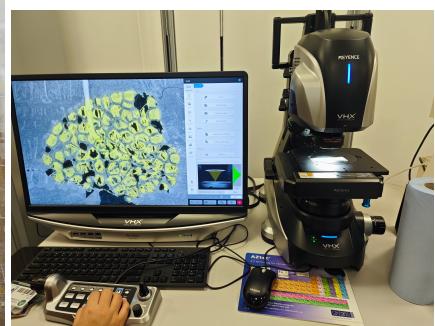


Figure 4.5 显微镜

4.2 标注数据

现在使用数据集，根据切片的质量进行重新标注。

总体上，我们将生物组织的良品度分为两个类别，分别为：normal 和 bad。另外，通过分析采集到的数据，我们发现有部分数据的瑕疵具有共同点-切片上存在竖直或水平的白色褶皱（如图Figure 4.7和Figure 4.8）-这种类型的切片明显是不可用的。考虑到这个特征特别明显，我们将其多分两个分类，分别是 horizontal line 和 vertical line。

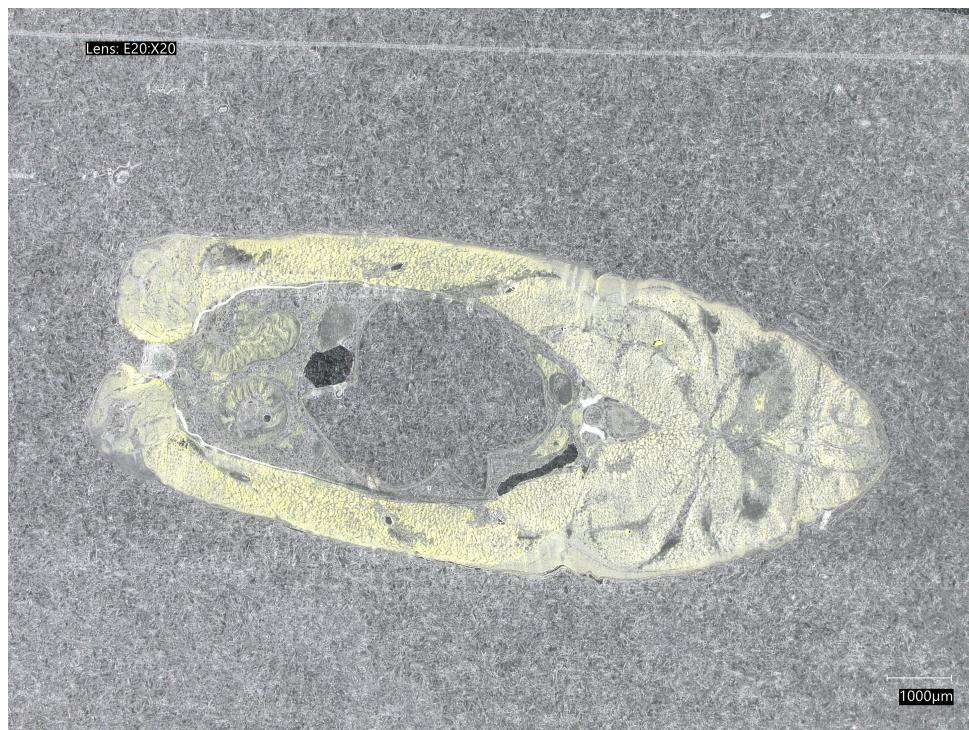


Figure 4.6 切角 9.5 度的样本

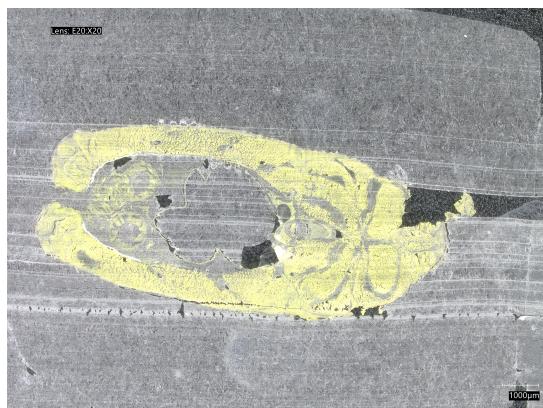


Figure 4.7 horizontal line

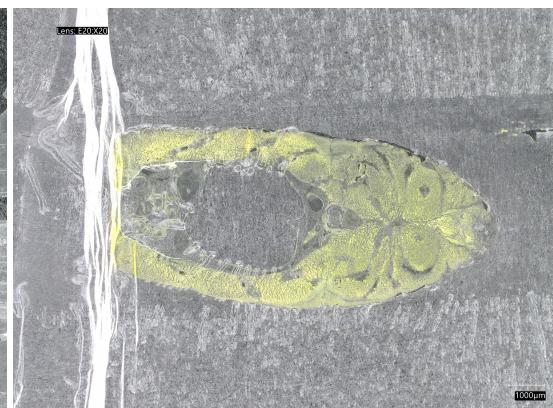


Figure 4.8 vertical line

此外, 考虑到有一部分图片在采样时存在明显的旋转角度, 这种情况下, 我们也将其单独分为一类, 称为 slope (如图Figure 4.9)。最后, 对于剩下的图片, 我们将其标注为 other(如图Figure 4.10)。

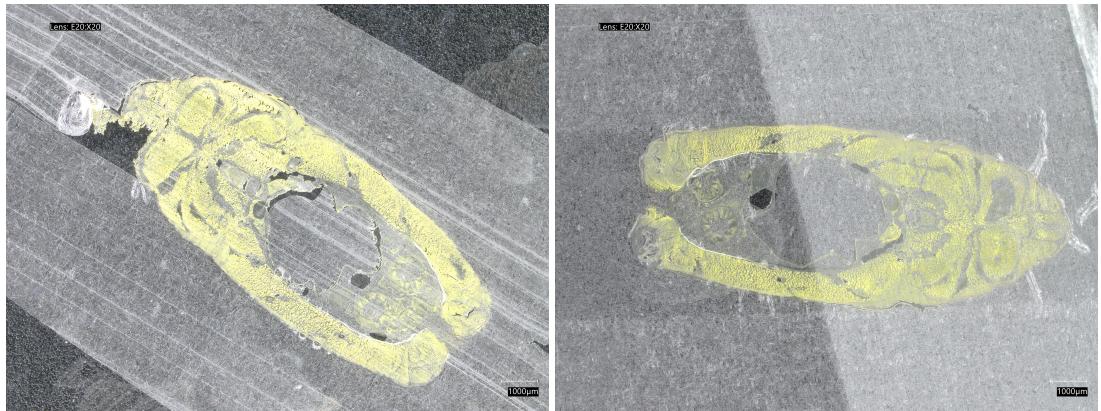


Figure 4.9 slope

Figure 4.10 other

正常的符合观察要求的切片如Figure 4.11所示。



Figure 4.11 normal

对于每一张图片，我们需要将其标注为以上五个类别中的一个。这将作为我们的数据集，用于训练模型。

4.3 模型 1：原始图像 + 简单的 *cnn* 网络

对于一个全新的数据集，在不确定图像复杂度对应的何种模型之前，首先尝试一个简单的典型 *cnn* 网络（架构如下），以了解数据集的特点和图像复杂度。

Table 4.1 Configuration of the simple CNN model

Layer Type	Configuration 1a	Configuration 1b	Configuration 1c
Input Layer	-	-	-
Conv Layer 1	Conv3-32 (relu)	Conv3-16 (relu)	Conv3-32 (relu)
Pooling Layer 1	MaxPooling	MaxPooling	MaxPooling
Conv Layer 2	Conv3-32 (relu)	Conv3-32 (relu)	Conv3-32 (relu)
Pooling Layer 2	MaxPooling	MaxPooling	MaxPooling
Conv Layer 3	Conv3-32 (relu)	Conv3-64 (relu)	Conv3-32 (relu)
Pooling Layer 3	MaxPooling	MaxPooling	MaxPooling
Flattening Layer	Flatten()	Flatten()	Flatten()
FC(Full connect)	Dense(128, relu)	Dense(128, relu)	Dense(256, relu)
Output Layer	-	-	-

Table 4.1显示的三个初始模型，分别为 a, b, c。这三个模型的区别在于卷积层的数量和大小，全连接层的大小。a 和 b 相比修改了卷积层的神经元数量，c 相比 a 修改了全连接层的神经元数量。

在数据的预处理部分，先将数据集分为训练集和测试集，其中训练集占 80%，测试集占 20%。

在输入层，这里将图像的长宽缩小一倍（即输入大小从 2880*2160 变为 1440*1080）并归一化数据。

在训练过程中，我们使用了 Adam 优化器，交叉熵损失函数，使用早停。

下面图组展示了模型 1a, 1b, 1c 的准确度和损失随着训练次数的变化。

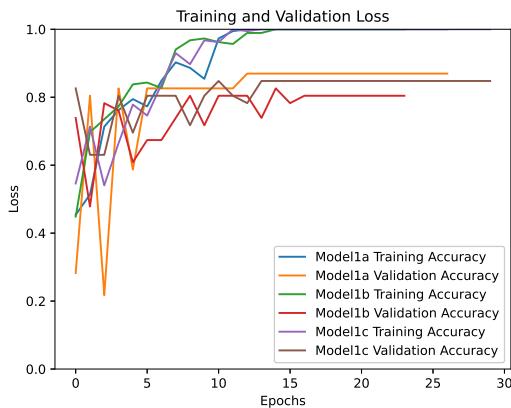


Figure 4.12 Model 1 accuracy

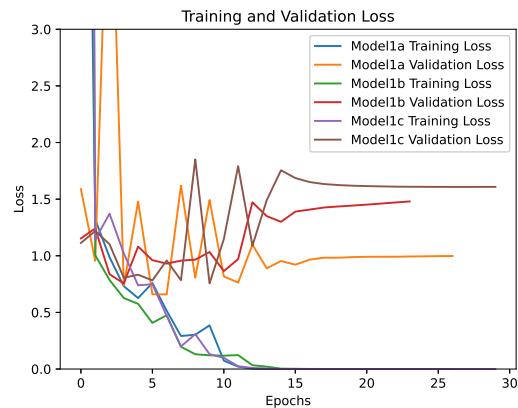


Figure 4.13 Model 1 loss

在图中，观察到模型 1a、1b 和 1c 在不同训练周期（Epochs）的准确度与损失的变化情况。模型 1a、1b 和 1c 的训练准确度随着时间逐步提高，趋向于稳定，而训练损失则呈下降趋势，接近于零，这表明模型在学习训练数据方面表现得相对良好。然而，对于验证集，三个模型的准确度似乎在约 80% 到 85% 的区间内稳定，而验证损失在某些情况下较高，特别是模型 1a 的验

证损失在后期趋近于 2.5，表现出较大波动。这表明存在一定程度的过拟合，即模型在未见过的数据上的表现不如在训练集上。特别值得注意的是，模型 1c 相对于其他模型而言，在验证损失方面表现最佳，这可能意味着其结构或参数调整对于泛化能力的提升更为有效。

在这里过拟合的原因推测可能是模型的复杂度不够，数据集的复杂度过高，模型无法很好的提取特征。这些结果指出虽然模型在训练集上能够实现高准确度和低损失，但在验证集上的泛化能力还有待提高。

因此，我们考虑通过对图像的预处理，人为辅助计算机进行特征提取，以提高模型的准确性。

4.4 改进：图片预处理

在模型表现能力欠佳的情况下，我们考虑是否是图像过于复杂导致模型难以提取出显著特征。因此我们考虑对图像进行预处理，以突出图像中我们希望让计算机识别的特征，并且在一定程度上去除图像的无关特征和噪声，以提高后续的深度学习模型的准确性。

在这里采用边缘检测，阈值分割两种方法对图像进行预处理。

4.4.1 边缘检测

正如在 3.1.1 中所提到的，边缘检测的原理是通过检测像素点的灰度值的变化（梯度）来确定图像中的边缘。假定原始图像是Figure 4.6.

在进行边缘检测之前，还需要进行一步前处理-高斯模糊。这么做的原因是，高斯模糊可以减少图像中的噪声，平滑图像的梯度，减小识别假边缘的几率，使得边缘检测更加准确。[20] 在高斯模糊核的选择上，选择高斯核分别为 21, 41, 61, 81（图像宽度的 1%, 2%, 3%, 4%）。高斯模糊后的图像如下所示。为了方便更直观的展示高斯模糊核对边缘检测的影响，这里采用 sobel 算子计算经过高斯模糊后的边缘并增加 50 的亮度。

从Figure 4.14到Figure 4.20可以看到，随着高斯模糊核的增大，图像的细节逐渐模糊，边缘也逐渐变得模糊。从Figure 4.15到Figure 4.21可以看到，随着高斯模糊核的增大，边缘检测的效果逐渐减弱，边缘变得不明显。考虑到图像边缘的清晰度和底噪的对比，我们选择高斯模糊核为 61。

以下是在高斯模糊 ($k=61$) 后使用 python 的 opencv 库执行 laplacian 算子的结果。

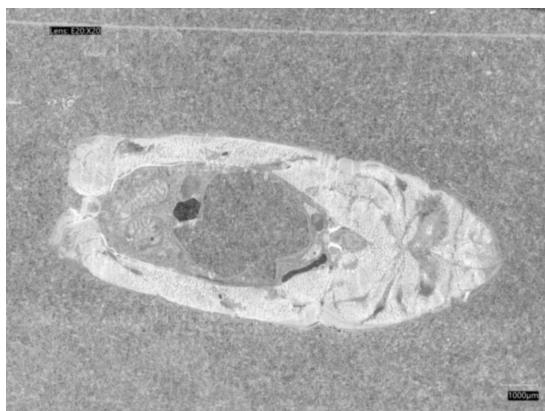


Figure 4.14 blurred k=21



Figure 4.15 sobel k=21

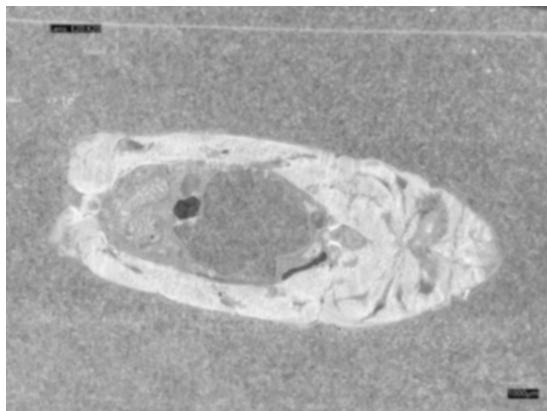


Figure 4.16 blurred k=41



Figure 4.17 sobel k=41

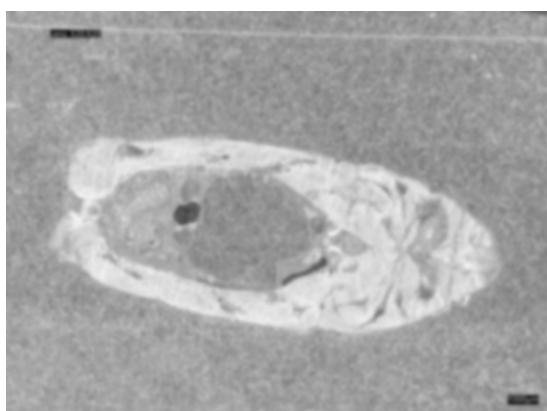


Figure 4.18 blurred k=61



Figure 4.19 sobel k=61



Figure 4.22 laplacian

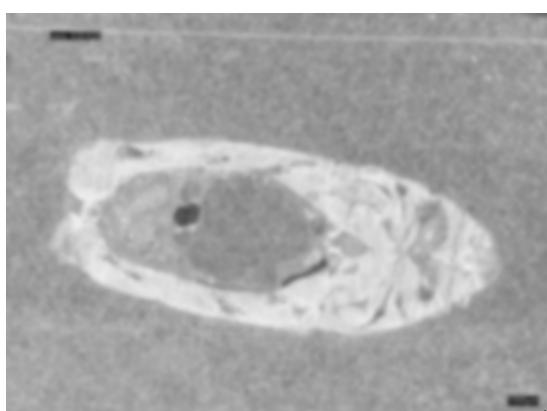


Figure 4.20 blurred k=81

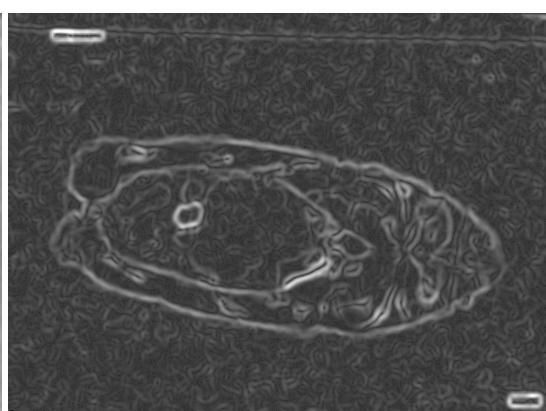


Figure 4.21 sobel k=81

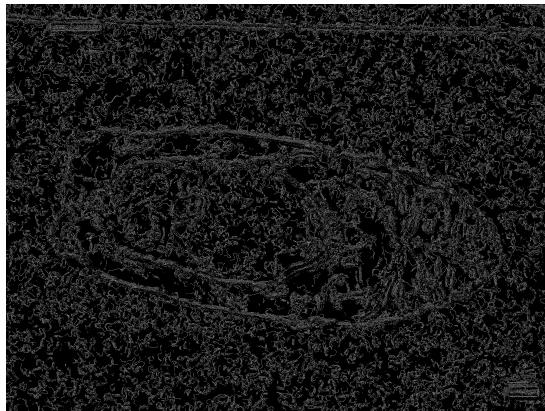


Figure 4.23 canny 2 5

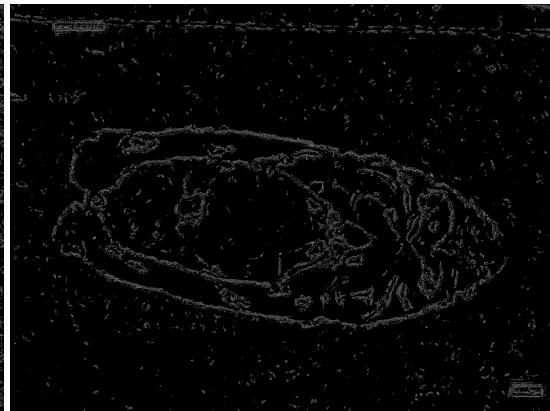


Figure 4.24 canny 4 10



Figure 4.25 canny 6 15

同样在 3.1.1 节提到的，canny 算法相对于 sobel 算法稍显复杂-引入了阈值检测，非极大值抑制等步骤。canny 算法引入了两个阈值，分别为低阈值和高阈值。其中，当图像的梯度值大于高阈值时，被认为是边缘；当图像的梯度值小于低阈值时，被认为不是边缘；当图像的梯度值在两者之间时，如果与高阈值的边缘相连，则被认为是边缘，否则被认为不是边缘。这样的处理可以有效的去除图像中的噪声，得到更加准确的边缘检测结果。

通常情况下，高阈值和低阈值的比值在 2:1 到 3:1 之间。在这里我们选择阈值比为 2.5 : 1，探究不同阈值对边缘检测的影响。

取低阈值为 2 4 6，此时对应的高阈值为 5 10 15。canny 算法的结果如下所示。

在三张 canny 算法的结果中，可见Figure 4.24的效果最好，其能在保证边缘细节得到大部分保留的情况下，去除了大部分的噪声。因此我们选择 canny 算法的阈值为 4 10。

总结

对比 sobel, laplacian 和 canny 算法的结果，sobel 算法的效果一般，对于底噪不是能很好的去除，边缘检测效果还算显著。laplacian 算法最差，边缘甚至已经不可见，这可能是因为该算法对噪声最敏感。canny 算法的效果最好，能够在保证边缘细节的情况下，去除大部分的噪声。因此我们选择 canny 算法作为图像预处理的方法。

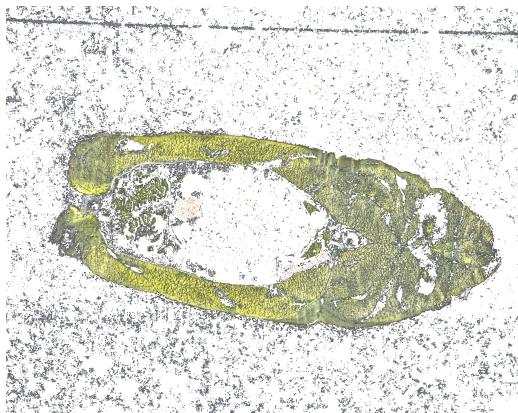


Figure 4.28 final

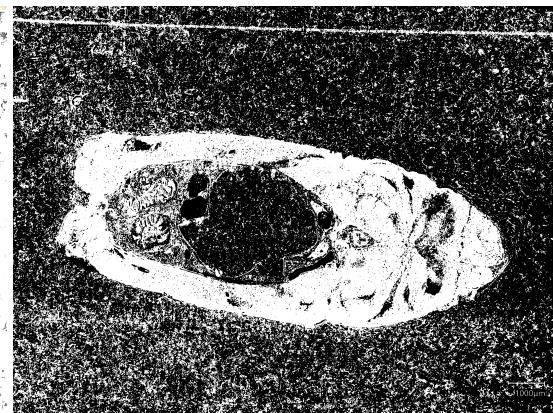


Figure 4.29 fingerprint

4.4.2 阈值分割

考虑到生物组织样本的主体是黄色，石蜡是白色，我们可以通过设置一个阈值，将图像中的白色部分分割出来，那么剩下的就是生物组织部分。在这里使用 python 的 opencv 库中进行操作。首先将图像进行对比度增强，增加饱和度，更好的凸显出生物组织的颜色 (Figure 4.26)。之后读取图像的每个像素点，将黄色周围半径 15 左右的像素点进行保留（约为图像宽的百分之一），其他的色块进行去除。(如Figure 4.27)。



Figure 4.26 enhanced image

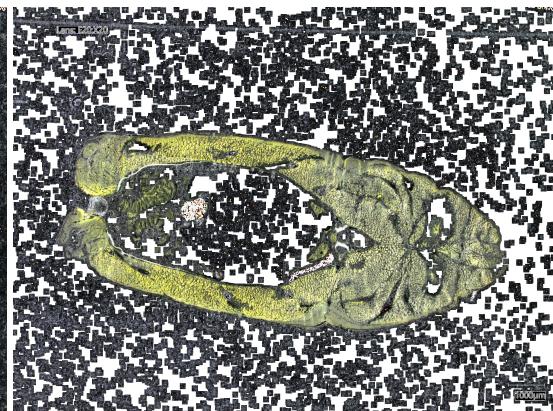


Figure 4.27 yellow picture

但是观察发现，这种方法对于生物组织和石蜡的分割效果并不好，因为生物组织在切片过程中会掉落碎片组织，出现在标本各处，进而影响黄色像素点的识别。此时还需要进一步的处理，去除黑色色块。此时只需要将黑色色块进行掩码反转，使其变为白色即可。结果如图Figure 4.28所示。

4.4.3 另一种阈值分割方法-指纹算法

在进行文献综述的时候，发现有一篇论文是基于 otsu 算法改进的分割方法用于进行指纹分割。考虑到切片样本和指纹都属于生物组织，因此我们尝试使用论文中提到的算法进行分割。结果如图Figure 4.29所示。

4.4.4 小结

根据上文提到的图像预处理方法，我们可以看到，边缘检测和阈值分割的效果都不错，都能够很好的突出生物组织的特征，去除石蜡的干扰。对此我们可以设置三组数据集，分别是经过边缘检测后的图像，经过阈值分割后的图像和经过指纹算法分割后的图像。这三组数据集将作为我们的训练集，用于下一节的模型训练。

4.5 模型 2：预处理图像 + 简单的 *cnn* 网络

在这里基础模型选用在上一节模型 1 中表现最好的模型 1c。在这里我们将模型 1c 的输入改为经过预处理后的图像，即经过边缘检测后，阈值分割和指纹算法分割后的图像。在这里模型的架构不变，只是输入的数据发生了变化。

所有的模型 2 采用和模型 1c 同样的架构构成，分别由三个包含 32 个特征图，卷积核为 3*3 的卷积层和最大池化层，一个包含 256 个神经元的全连接层组成。模型 2a 的输入为经过 **canny** 边缘检测后的图像。模型 2b 采输入为经过阈值分割后的图像。模型 2c 输入为经过指纹算法分割后的图像。

结果如下：

4.5.1 小结

在图中，对比了模型 2a、2b 和 2c 的训练和验证准确度以及损失的变化情况。模型 2a 和模型 2c 的训练和验证准确度在经过约 8 个训练周期后开始趋于稳定，其中训练准确度接近于 100%，而验证准确度稳定在 65% 和 75% 左右。尽管准确度较高，两者的验证损失仍旧较高，都在 1 以上。这可能指示了模型对训练数据过拟合，而对未见数据的泛化能力有限。

对于模型 2b，其在约 10 个训练周期后开始收敛，与模型 2a 和 2c 相比，模型 2b 拥有最高的的验证准确度，约为 82% 左右，但是其损失显著低于模型 2a 和 2c，在 1-1.2 波动。这表明模型 2b 在泛化到验证集上时的性能更优，损失更低，反映了模型更好的适应性和鲁棒性。

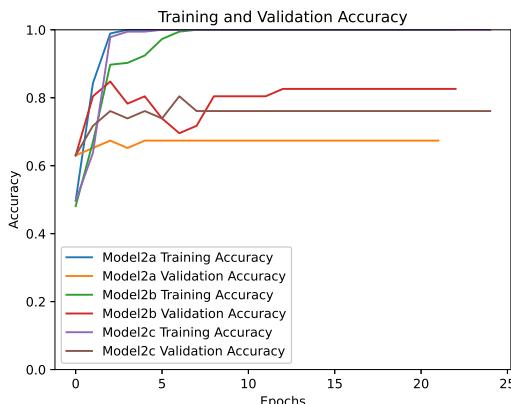


Figure 4.30 Model 2 accuracy

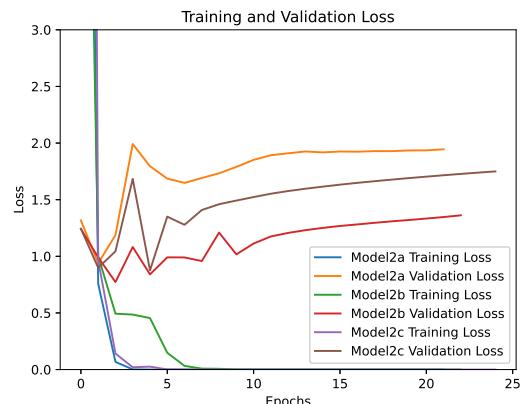


Figure 4.31 Model 2 loss



Figure 4.32 origin

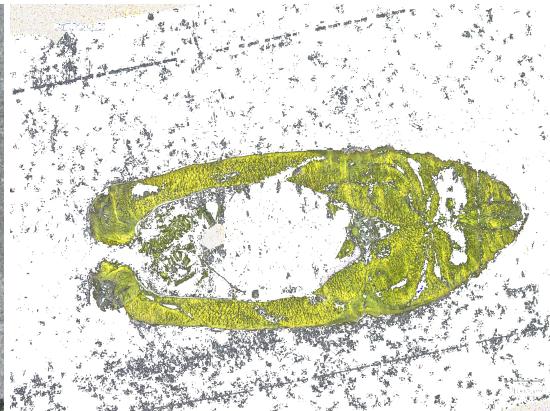


Figure 4.33 yellow

可能原因是模型 2a 和 2c 可能处理的是灰度图像，而模型 2b 处理的是彩色图像。彩色图像包含的 RGB 通道信息可以提供更丰富的特征，从而可能增强了模型的特征提取和泛化能力。然而，即使彩色图像提供了额外信息，前处理步骤，尤其是模型 2b 的阈值分割，可能会导致重要细节的丢失，这反过来可能会影响到模型在特定图像上的表现。这种情况下，模型的预处理步骤需要仔细检查，以确保不会因过于激进的图像简化而丢失关键信息。

一个丢失关键信息的例子如下所示：

Figure 4.33 是模型 2b 训练集（经过黄色阈值分割后的图像）中的一张图片，对比原图（Figure 4.32）可以观察发现，原本切片中能够被接受的水平褶皱瑕疵被阈值分割算法显著增强了，这有可能会影响模型的训练效果，即模型会在一定程度上与 horizontal line 混淆。

由此可以看出，对于图像预处理，其实并不能显著的提高模型的训练效果，反而可能会因为过于激进的预处理而丢失关键信息，导致模型的训练效果下降。在后面将会尝试使用迁移学习的方法，使用预训练好的大规模深度学习模型，将其迁移到我们的数据集上，以提高模型的训练效果。

4.6 模型 3：原始图像 + 迁移学习

现在我们已经尝试过了简单的 CNN 网络，以及对图像进行预处理后的 CNN 网络。既然训练结果不是很理想，那我们为什么不去尝试更大更深的模型？在这一节，我们尝试使用迁移学习的方法，使用预训练好的大规模深度学习模型，将其迁移到我们的数据集上，以提高模型的训练效果。

正如在第三节 methodology 里提到的，在这里将使用 VGG16, VGG19 和 InceptionV3 三个模型进行迁移学习。这三个模型都是在 ImageNet 数据集上训练好的模型，具有已经训练好的权重。在这里为了避免迁移学习过拟合，不仅使用了原有的早停法，还限制了模型的学习率为 $1e-5$ （对于 InceptionV3 模型，学习率为 $1e-4$ ）。

model3a 是使用 VGG16 模型进行迁移学习的模型。model3b 是使用 VGG19 模型进行迁移学习的模型，VGG19 和 VGG16 相比只是在中间增加了 3 个额外的卷积层，其他则与 VGG16 相同。model3c 是使用 InceptionV3 模型进行迁移学习的模型，其中 InceptionV3 是一个相对于 VGG16

和 VGG19 更加复杂的模型，其在训练过程中引入了 Inception 模块，能够更好的提取图像的特征。

在这里统一将模型的输入调整为 224*224，因为 VGG16 和 VGG19 模型在预训练时的输入层是 224*224 的图像，而 InceptionV3 的默认值为 299*299 的图像。

并且，在基础模型后面还需要添加一个全局平均池化层，一个全连接层。全局平均池化层的作用是将每个特征图减小到一个单一的数值，全连接层的作用是将全局平均池化层的输出转换为我们需要的输出，其输出节点的个数则和分类的数量相等。

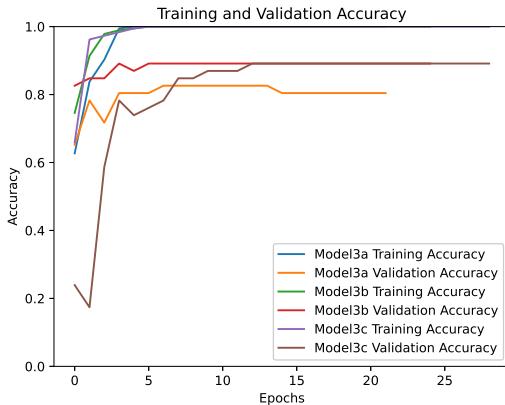


Figure 4.34 Model 3 accuracy

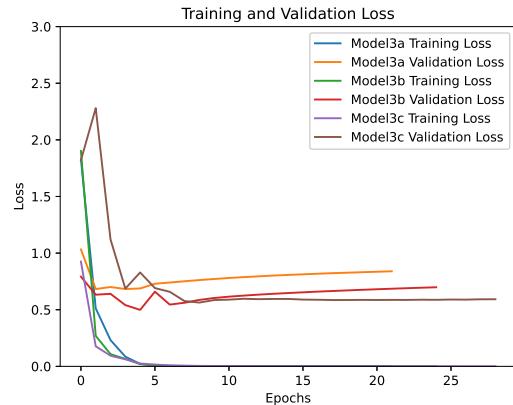


Figure 4.35 Model 3 loss

对比三个模型，可以观察得到 model3b 和 model3c 的验证集的准确度显著高于 model3a，约为 90% 左右。观察损失图，可以得出 model3c 在这三个模型中验证集的损失是最低的，model3b 次之，model3a 表现最差。这可能是因为 InceptionV3 模型的复杂度更高，能够更好的提取图像的特征。而 VGG16 和 VGG19 模型相对于 InceptionV3 模型而言，更加简单，可能在提取图像特征上存在一定的局限性。此外，model3b 性能显著高于 model3a 可以说明，VGG19 模型相对于 VGG16 模型而言，多出的三个卷积层能够更好的提取图像的特征。符合模型的复杂度越高，其训练效果越好的规律。

4.6.1 小结

对比 VGG16, VGG19 和 InceptionV3 三个模型，可以发现 InceptionV3 的训练效果最好，其训练准确度和验证准确度收敛于 1 和 0.9 左右，损失收敛于 0.6 左右。这说明 InceptionV3 模型的训练效果最好，其泛化能力最强。

4.7 模型选择总结

横向对比模型系列，模型 1，模型 2 和模型 3，可以发现模型 3 的训练效果最好。特别是模型 3c。究其原因，可能是因为模型系列 3 是基于大规模图像识别的超深卷积网络，其在训练过程中能够更好的提取图像的特征，构建自己的特征空间。值得注意的是，模型 3c，属于 InceptionV3，在架构上具有模块化的设计，包括了多个“inception 模块”。其包含了多尺度的卷积层，同时在

同一层内并行运行。在特征提取上，Inception 模块可以在同一层内捕捉不同尺度的特征，使得网络能够自适应地选择更合适的特征表示。在处理深度上，InceptionV3 利用批量标准化和残差连接来帮助训练深层网络，可以显著解决梯度消失的问题。

因此，我们选择模型 3c 作为我们的最终模型，用于后续的进一步应用和测试。

5 Presentation of experimental or analytical results/descriptions of final constructed product

在这一节我们主要讨论模型的测试结果和模型进一步改进的空间。

5.1 带入测试集验证准确度

在这里我们将训练好的模型应用到额外准备好的测试集上，计算模型的准确度。

Figure 5.1 是模型在测试集上的准确度：（准确度定义为标签与模型预测一致的样本数占总样本数的比例）

Table 5.1 Model accuracy on test set

Category	Accuracy(%)
Normal	98.4
Horizontal Line	95.6
Vertical Line	80.0
Slope	96.1
Other	95.2

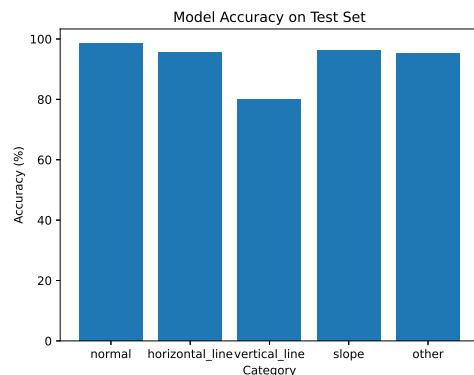


Figure 5.1 Model Accuracy on Test Set

可见，模型预测结果在 normal 上表现较好，而在 vertical_line 上表现较差。这可能是由于用于测试的样本量较少，导致模型学习不足，难以判断。

5.2 模型的进一步提高（改变输入分辨率）

在这里我们讨论模型的进一步提高的空间。

将高分辨率图片缩放为 InceptionV3 模型默认的 299x299 大小的确可能导致信息和细节的丢失，特别是对于原始分辨率远高于此标准的图像。例如，从 VHX7000 设备采集的 2880x2160 分辨率图像就含有大量的细节，直接缩放可能不利于模型捕捉到所有的细微差别，尤其是在医学影像或其他细节丰富的领域。

改变模型的输入层接受更大的图片尺寸是一个潜在的解决方案。这样做的优势是它允许模型处理更高分辨率的图像，保留更多的原始信息和细节，可能导致更好的性能和更高的准确度。此

Table 5.2 model accuracy on test set

	normal	horizontal_line	vertical_line	slope	other
accuracy(%)	98.4	96.7	85.6	96.5	96.5

外 InceptionV3 的架构设计有助于处理更大图片，因为其含有多个大小不一的卷积核，这使得它能够捕捉不同尺度的特征。

受制于实验室机器性能(显存为 16G)，在这里将图像缩放到分别为原图像的 0.4 倍，即 1152*864，进行再一次训练。

新的模型为 model4，训练效果如下所示：

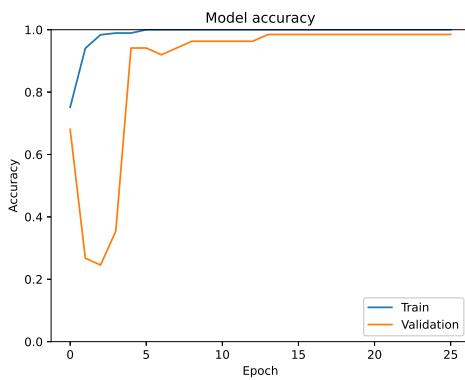


Figure 5.2 Model-4 accuracy

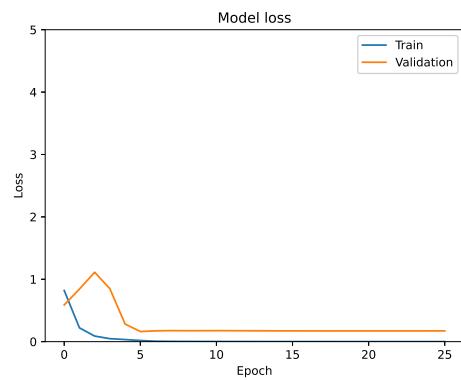


Figure 5.3 Model-4 loss

观察训练准确度和损失随步长的变化可以发现，模型的性能有惊人的明显提升。训练和验证准确度都接近 1，同时验证损失降至 15% 左右，这通常表明模型具有很强的泛化能力。这种情况下，模型不仅在训练数据上表现出色，而且能够很好地泛化到新的、未见过的数据上。

将其再一次带入测试集进行准确度评估，结果如Table 5.2：

对比修改分辨率前后的模型准确度，可以发现模型的准确度虽有提升但并不显著的，可能是由于准确度已经很接近于 1，提升的空间较小导致的。

5.3 探究机器的最佳切削角

使用预先准备好的各个切削角度的图片，从 8-12 度，每 0.5 度一个样本，一共 9 组数据，每组数据包含 100 张图片，使用模型 4 来评估每组的良品率。此时，找到良品率最高的数据组，即为该机器的最佳切削角度。

由Figure 5.3可知，最佳切削角度为 10 度。

另外，从Figure 5.4得出若要在保证切削质量为百分之 80 的情况下，切削角度应在 9 度到 10.5 度之间。

Table 5.3 Normal accuracy on different angle

Angle	Accuracy(%)
8	80
8.5	81.5
9	83.5
9.5	93.3
10	96.6
10.5	88.8
11	84.2
11.5	66.6
12	62.2

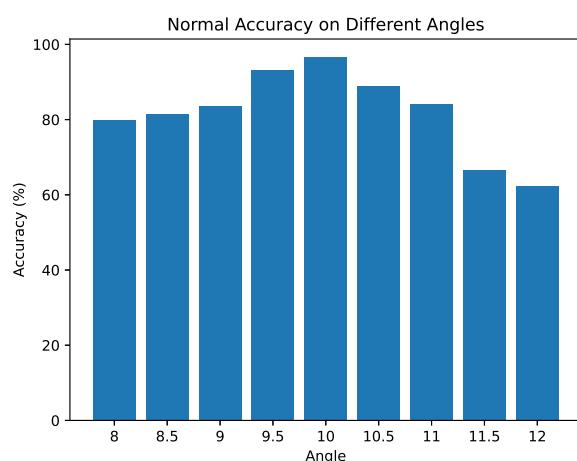


Figure 5.4 Model Accuracy on Different Angle

5.4 模型通用性

在上文的实验中我们采用的是鱼的卵巢为组织切片，而在实际应用中，我们可能会遇到其他组织切片，如其他器官或其他动物标本等。因此，我们需要考虑模型的通用性。

在这里有另一组已经采集好的数据集，是鱼的肺切片，在这一共将其分成 4 类，分别是 good, normal, bad,other 四类（样本如Figure 5.5到Figure 5.8）。现在更改输入数据集，保持原有 model4 架构不变，采用 1152*864 分辨率图片作为输入数据进行训练。

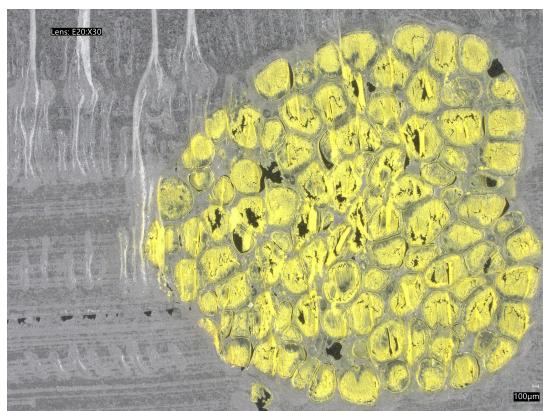


Figure 5.5 good fish lung

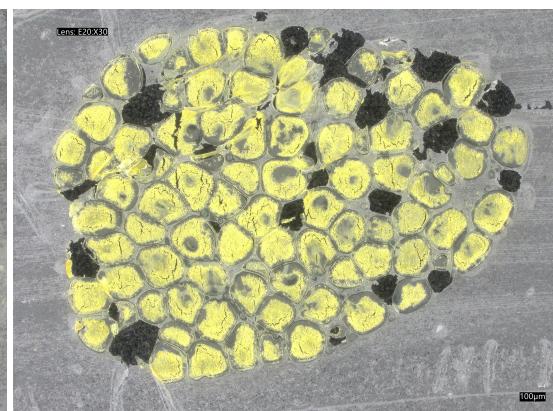


Figure 5.6 normal fish lung

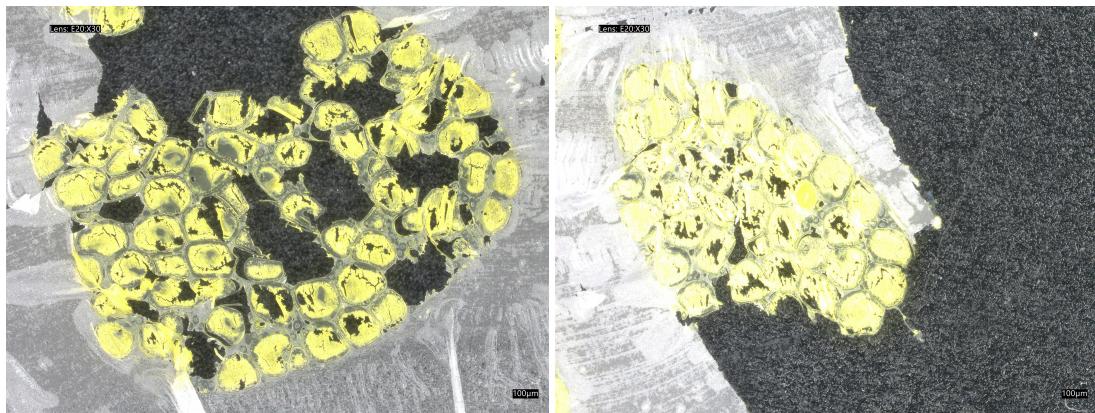


Figure 5.7 bad fish lung

Figure 5.8 other fish lung

训练的准确度和损失如Figure 5.9和Figure 5.10所示。

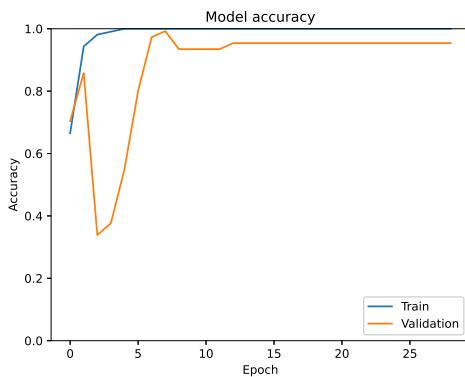


Figure 5.9 Model-5 accuracy

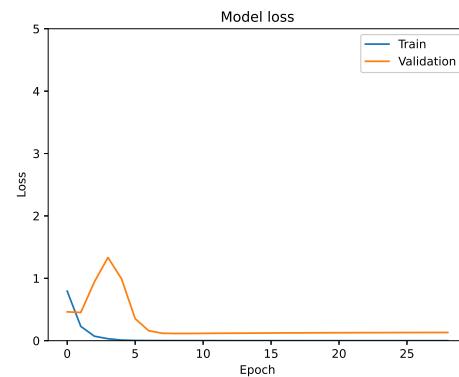


Figure 5.10 Model-5 loss

通过观察图片可以得出：模型 5 的训练和验证准确度迅速上升并保持在高位，表明模型在这两个数据集上均有良好表现，损失图显示训练损失快速降低并趋于零，而验证损失在初始阶段出现尖峰后迅速降低并稳定，整体来看，这些迹象表明模型具有较好的拟合能力和泛化性能。

将其带入测试集进行测试，结果如Figure 5.11所示：

Table 5.4 Model accuracy on test set

label	accuracy(%)
bad	94.1
good	98.2
normal	94.7
other	95.0

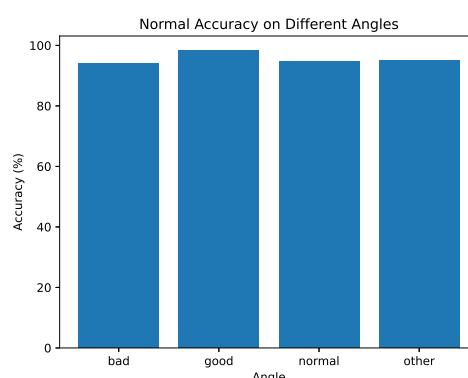


Figure 5.11 Model Accuracy on Test Set

可见，模型预测结果在全部的标签中均有 90% 以上的准确度，表现非常理想。这说明模型具有较好的通用性，可以应用到其他组织切片的分类中。

6 Discussion and conclusions

6.1 Discussion of results

正如上文中所详述，这里将详细讨论研究过程中的发现和结果。

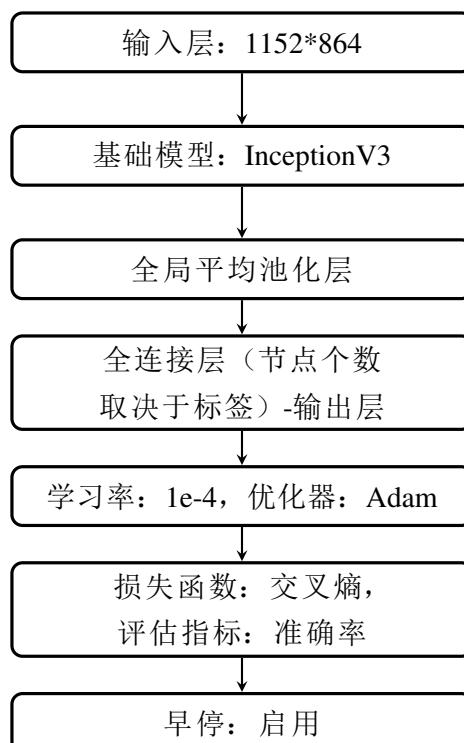
在第 4 节中，我们试图建立模型，尝试了从简单的 CNN 模型开始，之后进行图像的预处理，发现效果都不理想的情况下尝试了迁移学习的方法，得出采用 InceptionV3 模型的迁移学习效果最好。

在这其中值得注意的是伴随着不同模型的尝试，当模型参数调整或模型架构变得更加复杂时（例如 InceptionV3），模型性能显著提高，即验证集的准确度越来越高，损失越来越低。

此外，对比模型系列 1 和 2，我们发现在在图像分类的任务中使用预处理图像的手段去辅助机器提取特征的行为不是非常有效。采用图像处理有可能会导致重要细节及信息的丢失，进而影响机器对特征的提取，从而影响模型的准确度和性能。

在第 5 节中，我们对模型进行了应用测试，首先选取了额外的测试集测试模型的准确度，发现模型在所有测试集上的准确度均大于 85%。之后带入使用模型对不同切削角进行评估，发现若要在保证切削质量为百分之 80 的情况下，切削角度应在 9 度到 10.5 度之间。最后，我们使用了另外的鱼的肺泡切片的图像数据集对模型进行二次验证，发现模型对于测试集的标签预测准确率均在 90% 以上，反应模型能够很好地应用于其他数据集。

最终的采取的模型如下：



6.2 Future work

分类方法的改进

本研究提供了多个改进和深化的路径。尤其是，所采用的分类方法已经展现出理想的结果；然而，不足的是，五个分类仍旧是不充足的。通过提升分类的多样性，可以进一步得到切削角度和样本良品率的关系，进而提供更精确的分析。

此外，在拥有足够多的分类点的情况下，可以考虑从分类框架向线性分析方法过渡。在分类种类足够多的情况下，可以近似认为这是线性关系下的离散点-即可以通过线性拟合来得到最佳切削角度和样本良品率的线性关系。

在统计和数据科学中，当分类问题能够被线性化（及分类的标签能够被离散化，如上文中的切削角度）的时候-通常将其称之为线性判别分析（Linear discriminant analysis）。

在模型显示出显著能力和鲁棒性的情况下，采用线性判别分析——特别是在确定最优切割角度方面——可能呈现出一种更精细的方法，用于关联组织质量与切割参数。这样的方法有可能简化切割参数的预测准确性，并有助于更精确地控制组织切割过程。

当然，将分类问题转变为线性判别分析问题的难度是非常大的。其中一个关键的问题是，二分类问题的模型预测输出结果是概率值，而线性回归问题的本质是找到切削角度和切片质量的关系，即自变量是切削角度，因变量是切削质量。此外，显然切削角度和切片质量也不是简单的一元线性关系，模型需要处理的数据将会非常复杂。因此，这一方面的改进需要更多的理论和实践的探索。

此外，线性模型的训练和验证需要巨量的数据（甚至高出几个数量级），而这些数据采集和收集将会是一个非常漫长且困难的过程。不仅如此，线性回归模型的训练和验证也需要更多的计算资源。目前在采用 tensorflow 框架下选择 InceptionV3 模型，输入分辨率为 1152*864 的情况下，显卡的显存已经达到了极限，因此在这一方面的改进需要更多的硬件和更加强大的计算资源。所以，这一方面的改进是一个长期的目标，需要更多的资源和时间。

关于线性判别分析的研究，则是一个更加深入的方向，需要更多的理论和实践的探索。比如 Jie Wen 提到的 Robust Sparse Linear Discriminant Analysis[21]. 该方法在线性判别分析的基础上，引入了稀疏性，使得模型更加稳健。

性能提升与优化

随着本研究目标向大规模应用前进，性能提升成为了必须面临的重要挑战。性能优化不仅仅局限于算法效率的提升，还包括模型框架的扩展性、稳定性和部署能力的增强以及底层的语言和代码优化。

显然，针对计算资源的利用和调度策略，我们应当寻求更高效的计算框架和并行处理算法。例如，利用分布式计算资源，可以显著缩短模型训练的时间，并提高处理大型数据集时的效率。同时，考虑到能耗和计算成本的约束，优化模型的计算结构和参数设置，以期达到在有限资源下最大化计算输出的目的。

《Analysis of the Application Efficiency of TensorFlow and PyTorch in Convolutional Neural Network》这篇文章总结了两种主流框架 tensorflow 和 pytorch 在卷积神经网络中的区别，其中 tensorflow 具有更低的误差率和更小的收敛步长，而 pytorch 具有更快的训练速度 [22]。

Pascal Fua 在《Comparing Python, Go, and C++ on the N-Queens Problem》一文中给出了一种优化深度学习性能的方法。通过对解释性语言 Python、编译型语言 go 和 C++ 在 N 皇后问题上的性能，发现 runtime 语言在处理循环和数据流时具有明显优势，因此在深度学习中，一个提升性能的方法就是使用如 numba 编译器与 cython, pybind 进行编译 [23]。

切片流程的优化

在我们的研究中，我们还发现，如果能在切片过程中实时评估切削质量，并根据评估结果调整切削参数，将会在流程上显著提升切片质量。

具体的反馈调节流程包括，通过在切片机器上方安装摄像头对从刀片上切削下来的样本进行数据采集，然后将照片输入模型进行实时评估，然后根据评估结果控制机器的切削的给进速度和角度等参数，改进下一个切片样本的质量，实现样本质量的可控性和保证样本质量。

显然，如果要达成这一切仍然是个挑战。首先，需要一个清晰的相机和高效的实时图像处理系统，能够对图像数据进行采集；然后需要一个预训练好的模型和具有强大性能的电脑，能够快速内对图像进行评估并且给出结果，并根据结果确定需要给机器提供修改的参数；最后需要一个高效的控制接口，能够保证修改后的参数能够及时传递给切片机器。最后，这整个系统对时间的要求也是非常高的，需要在两次切削之间内完成所有的操作。

一个很好的例子就是《Convolutional neural networks applied to microtomy: Identifying the trimming-end cutting routine on paraffin-embedded tissue blocks》。在这篇文章当中，作者提出了一种使用 cnn 网络对组织切片进行识别并进行修整的方法，通过在切片机器上安装摄像头，对切片过程进行实时监控，然后将图像输入 cnn 网络进行识别，最后根据识别结果调整切片机器的参数，实现了切片过程的自动化 [24]。通过将切片机，相机，深度学习模型等独立部分联系在一起，为我们在切削过程中实时评估切削质量和修改切削参数提供一个可行的解决方案。

6.3 *Conclusions*

这项调查研究使我们对生物医学组织切片机的活检参数优化有了重要的洞见。我们对各种切割角度的专注实验，结合深度学习技术的严格应用，不仅提高了我们对组织采样的理解，而且引发了未来如何处理此类任务的范式转变。

从全面的实验工作和分析调查中可以明显看出，通过对复杂的卷积神经网络的迁移学习，产生了一个能够以高精度评估组织样本质量的强大框架。通过将模型应用于各种组织类型，进一步证实了其适应性，这突显了其在组织病理学领域作为一种多功能工具的广泛适用性和潜力。

此外，在寻找最佳模型的过程中，还探究了图像属性和模型复杂性之间的关系。我们发现，将图像进行一定程度的预处理后作为输入层可能会无意中丢弃重要的细节和信息，这说明图像预处理是可以被省略的。此外，还发现通过调整输入层为更高分辨率的图像，模型的准确性和预测性能显著提高，这说明保持原始数据的完整性的重要性。

总的来说，这个项目的结果不仅强化了深度学习在生物医学器械应用中的不可或缺性，而且为继续探索和创新优化组织切片技术奠定了基础，最终有助于推进生物切片技术的改良。

7 Project management, consideration of sustainability and health and safety

7.1 *Subsection 5.1*

7.2 *Subsection 5.2*

References

- [1] Murphy, K.P., 2012. Machine learning: a probabilistic perspective. Cambridge: The MIT Press, pp.32.
- [2] Zimmermann, M., Lampe, J., Lange, S., Smirnow, I., Königsrainer, A., Hann-von-Weyhern, C., Fend, F., Gregor, M., Bitzer, M. & Lauer, U.M. (2009). Improved reproducibility in preparing precision-cut liver tissue slices. *Cytotechnology*, 61(3), 145-152. <https://doi.org/10.1007/s10616-009-9246-4>
- [3] Klimuszko, E., Orywal, K., Sierpinska, T. et al. (2018) 'Evaluation of calcium and magnesium contents in tooth enamel without any pathological changes: in vitro preliminary study', *Odontology*, 106(4), pp. 369-376. <https://doi.org/10.1007/s10266-018-0353-6>
- [4] Hrzenjak, A., Moinfar, F., Tavassoli, F.A., Strohmeier, B., Kremser, M.-L., Zatloukal, K. and Denk, H. (2005) 'JAZF1/JJAZ1 gene fusion in endometrial stromal sarcomas: molecular analysis by reverse transcriptase-polymerase chain reaction optimized for paraffin-embedded tissue', *The Journal of Molecular Diagnostics*, 7(3), pp. 388-395. [https://doi.org/10.1016/S1525-1578\(10\)60568-5](https://doi.org/10.1016/S1525-1578(10)60568-5)
- [5] Song, L., Mino, M., Yamak, J., Nguyen, V., Lopez, D., Pham, V., Fazelpour, A., Le, V., Fu, D., Tippin, M., Uchio, E. and Zi, X. (2022) 'Flavokawain A reduces tumor-initiating properties and stemness of prostate cancer', *Frontiers in Oncology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.943846>
- [6] Azuma, T., Murata, Y., Hokii, Y., Akiyama, S. and Shinozaki, Y. (2023) 'Evaluation of micro-cracks formed by grinding in machinable lithium silicate', *Dental Materials*, 39, p. e10. Abstracts of the Academy of Dental Materials, Annual Meeting, Athens, Greece, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2023.08.022>
- [7] Veer, F.A. (2022) 'Looking at the foundations of structural glass with a digital microscope', in *Structures and Architecture. A Viable Urban Perspective*, 1st ed. CRC Press, pp. 7. eBook ISBN: 9781003023555.

- [8] Guachi-Guachi, L., Ruspi, J., Scarlino, P., Poliziani, A., Ciancia, S., Lunni, D., Baldi, G., Cavazzana, A., Zucca, A., Bellini, M., Pedrazzini, G.A., Ciuti, G., Controzzi, M., Vannozzi, L. and Ricotti, L. (2023) 'Convolutional neural networks applied to microtomy: Identifying the trimming-end cutting routine on paraffin-embedded tissue blocks', *Engineering Applications of Artificial Intelligence*, 126(B), p. 106963. <https://doi.org/10.1016/j.engappai.2023.106963>
- [9] Andrearczyk, V. and Whelan, P.F. (2017) 'Deep Learning in Texture Analysis and Its Application to Tissue Image Classification', in Depeursinge, A., Al-Kadi, O.S. and Mitchell, J.R. (eds.) *Biomedical Texture Analysis*. Academic Press, pp. 95-129. ISBN 9780128121337. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812133-7.00004-1>
- [10] Xu, Y., Jia, Z., Wang, L.B., Ai, Y., Zhang, F., Lai, M., Chang, E.I.C., 2017. Large scale tissue histopathology image classification, segmentation, and visualization via deep convolutional activation features. *BMC Bioinformatics*, 18(1), p.281. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1685-x>.
- [11] Culjak, I., Abram, D., Pribanic, T., Dzapo, H., Cifrek, M., 2012. A brief introduction to OpenCV. In: 2012 Proceedings of the 35th International Convention MIPRO, Opatija, Croatia, pp. 1725-1730. Available at: <https://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6240859&isnumber=6240598>.
- [12] Bradski, G. and Kaehler, A., 2008. *Learning OpenCV: Computer vision with the OpenCV library*. O'Reilly Media, Inc.
- [13] Canny, J., 1986. A Computational Approach to Edge Detection. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 8(6), pp.679-698. doi: 10.1109/TPAMI.1986.4767851. Available at: <https://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=4767851&isnumber=4767846>.
- [14] Yue, Y. and Zhu, J., 2017. Algorithm of fingerprint extraction and implementation based on OpenCV. In: 2017 2nd International Conference on Image, Vision and Computing (ICIVC), Chengdu, China, pp. 163-167. doi: 10.1109/ICIVC.2017.7984539. Available at: <https://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=7984539&isnumber=7984442>.
- [15] Zhou, H. and Sun, Q., 2020. Research on Principle and Application of Convolutional Neural Networks. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 440(4), p.042055. doi: 10.1088/1755-1315/440/4/042055. Available at: <https://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/440/4/042055>.
- [16] Simonyan, K. and Zisserman, A., 2014. Very Deep Convolutional Networks for Large-Scale Image Recognition. *arXiv preprint arXiv:1409.1556*. Available at: <https://arxiv.org/abs/1409.1556>.

- [17] Szegedy, C., Vanhoucke, V., Ioffe, S., Shlens, J., and Wojna, Z., 2015. Rethinking the Inception Architecture for Computer Vision. arXiv preprint arXiv:1512.00567. Available at: <https://arxiv.org/abs/1512.00567>.
- [18] Chollet, F., 2016. Xception: Deep Learning with Depthwise Separable Convolutions. arXiv preprint arXiv:1610.02357. Available at: <https://arxiv.org/abs/1610.02357>.
- [19] Klimuszko, E., Orywal, K., Sierpinska, T. et al., 2018. Evaluation of calcium and magnesium contents in tooth enamel without any pathological changes: in vitro preliminary study. Odontology, 106, pp.369-376. doi: 10.1007/s10266-018-0353-6. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10266-018-0353-6>.
- [20] Gedraite, E.S. and Hadad, M., 2011. Investigation on the effect of a Gaussian Blur in image filtering and segmentation. In: Proceedings ELMAR-2011, Zadar, Croatia, pp. 393-396. Available at: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/6044249>.
- [21] Wen, J. et al., 2019. Robust Sparse Linear Discriminant Analysis. IEEE Transactions on Circuits and Systems for Video Technology, 29(2), pp.390-403. doi: 10.1109/TCSVT.2018.2799214. Available at: <https://doi.org/10.1109/TCSVT.2018.2799214>.
- [22] Novac, O-C., Chirodea, M.C., Novac, C.M., Bizon, N., Oproescu, M., Stan, O.P., Gordan, C.E., 2022. Analysis of the Application Efficiency of TensorFlow and PyTorch in Convolutional Neural Network. Sensors, 22(22):8872. Available at: <https://doi.org/10.3390/s22228872>.
- [23] Fua, P. & Lis, K., 2020. Comparing Python, Go, and C++ on the N-Queens Problem. Available at: <https://arxiv.org/abs/2001.02491>.
- [24] Guachi-Guachi, L., Ruspi, J., Scarlino, P., Poliziani, A., Ciancia, S., Lunni, D., Baldi, G., Cavazzana, A., Zucca, A., Bellini, M., Pedrazzini, G.A., Ciuti, G., Controzzi, M., Vannozzi, L. & Ricotti, L., 2023. Convolutional neural networks applied to microtomy: Identifying the trimming-end cutting routine on paraffin-embedded tissue blocks. Engineering Applications of Artificial Intelligence, 126, p.106963. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0952197623011478>.