



Final Report

**Exploratory Deep Learning Models: Determining
Optimal Cutting Parameters for a Microtome
710082147**

3rd Year Individual Project

I certify that all material in this thesis that is not my own work has been identified and that no material has been included for which a degree has previously been conferred on me.

Signed.....Jiaqi Yao.....|

Final Report

[ECM3175/ECM3149]

Title: Exploratory Deep Learning Models: Determining
Optimal Cutting Parameters for a Microtome

Date of submission: May 3th

Student Name: Jiaqi Yao
Programme: Mechanical Engineering
Student number: 710082147
Candidate number: 116251

Supervisor: Dong Wang

Abstract

This study investigates optimizing biopsy parameters through deep learning, utilizing the InceptionV3 model via transfer learning for assessing the quality of biomedical tissue sections. Experiments with various cutting angles identified optimal parameters that significantly improved tissue section quality. Additionally, image preprocessing studies showed that using original image data often resulted in better outcomes than using processed images. The research suggests further expanding classification methods, enhancing performance, investigating additional influencing factors, and dynamically adjusting slicing parameters. These proposals aim at developing fully automated histology instruments. The findings confirm the model's adaptability to various tissue types, highlighting its potential as a versatile tool in histopathology.

Keywords: Deep Learning Tissue Sectioning Transfer Learning InceptionV3

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	2
2.1	Microtome and Microscope	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	7
4.1	Data Collection	8
4.2	Data Labeling	9
4.3	Model 1: Original Images with a Simple CNN Network	10
4.4	Image Preprocessing Improvement	11
4.4.1	Edge Detection	12
4.4.2	Threshold Segmentation	14
4.4.3	Another Threshold Segmentation Method: Fingerprint Algorithm	15
4.4.4	Summary	15
4.5	Model 2: Preprocessed Images with a Simple CNN Network	16

4.5.1 Summary	16
4.6 Model 3: Original Images with Transfer Learning	17
4.6.1 Summary	18
4.7 Model Selection Summary	19
5 Presentation of Experimental or Analytical Results/Descriptions of Final Constructed Product	19
5.1 Validating Model Accuracy on a Test Set	19
5.2 Improvement of the Model (Changing Input Resolution)	20
5.3 Investigating the Optimal Cutting Angle for the Machine	21
5.4 Model Generalizability	22
6 Discussion and conclusions	23
6.1 Discussion of results	23
6.2 Future work	24
6.2.1 Enhancing Classification Methods	24
6.2.2 Performance Enhancement and Optimization	25
6.2.3 Exploring the Impact of Additional Parameters on Cutting Quality	26
6.2.4 Optimization of the Sectioning Process	26
6.3 Conclusion	27
7 Project management, consideration of sustainability and health and safety	28
7.1 Project management	28
7.2 Health and Safety	28
7.3 Sustainability	29
References	29

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*

本报告分为多个章节，每个章节都专注于使用深度学习优化活检参数研究的特定方面：

引言和背景 - 这个初始章节概述了项目的目标和框架，提供了研究的动机，并描述了所使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的相关文献进行了广泛的回顾。这一部分将当前的研究置于现有的研究中。

方法和理论 - 对实验方法、理论框架以及数据收集和处理的计划进行了全面的描述。

实验工作/分析调查/设计 - 详细介绍了实验设计、实施和分析调查，解释了用于实现项目目标的策略和方法。

实验或分析结果的呈现/最终构建产品的描述 - 这一章节记录了实验数据、分析结果或最终设计产品的描述，详细说明了结果。

讨论和结论 - 从科学意义和实际影响的角度讨论结果，得出结论，并提出未来的研究方向。

项目管理、可持续性和健康安全考虑 - 涵盖了项目管理策略，解决了可持续性和健康安全问题，以确保研究的有效和安全进行。

参考文献 - 汇编了整个研究过程中引用的所有文献，支持了研究的基础。

假设和技术规格 - 项目依赖于几个假设：

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有效性。

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细节在方法和理论部分有详细的描述。

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

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 Andrearczyk 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。

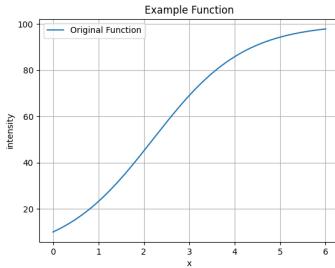


Figure 3.1 $f(x)$

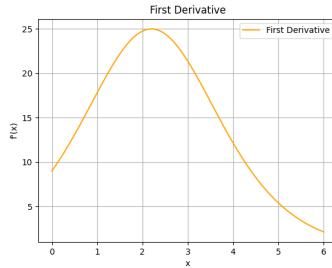


Figure 3.2 $f'(x)$

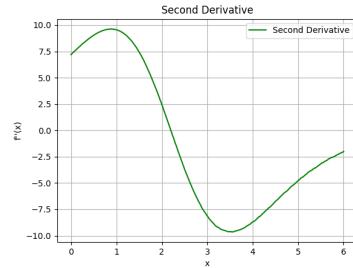


Figure 3.3 $f''(x)$

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。

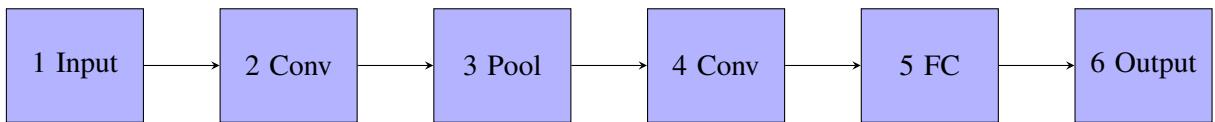
此外，关于阈值分割还有更多的方法，比如下面就是一个基于 Otsu 方法的指纹提取算法。将其用在此处能够显著提高生物组织的分割效果。Yue Yaru 和 Zhu Jialin 在《Algorithm of fingerprint extraction and implementation based on OpenCV》一文中提出了一种基于 OpenCV 的指纹提取算法。该算法对 Otsu 方法进行了改进，特别是在光照不均匀、图像模糊的情况下能够实现准确、简单、运行时间短的指纹提取。[14]

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。

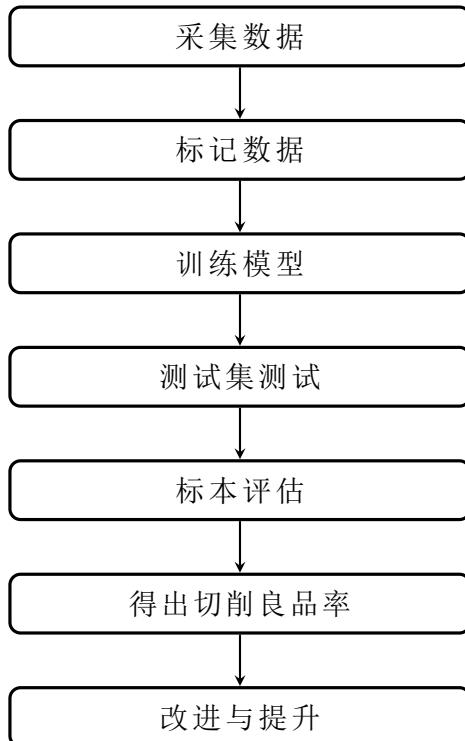
表 2 展示了 VGG16, VGG19[\[16\]](#), InceptionV3[\[17\]](#), Xception[\[18\]](#), 等模型的参数数量。可以看到，这些模型的参数数量都很大，可以较为准确地提取复杂图像的特征。

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）。

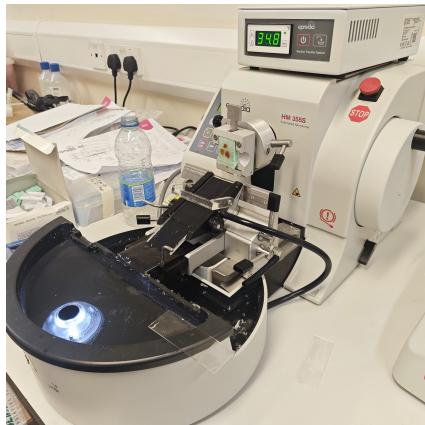


Figure 4.1 切片机

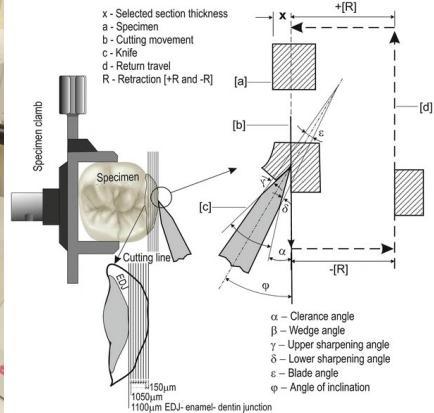


Figure 4.2 切片机示意图



Figure 4.3 生物组织切片



Figure 4.4 采集样本

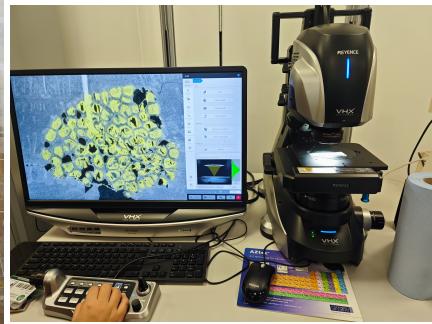


Figure 4.5 显微镜

4.2 标注数据

对于这个实验，数据集是根据组织切片的质量进行标记的。总的来说，生物组织的质量被分为两个主要类别：正常和不良。对收集的数据进行进一步分析，发现了常见的缺陷 - 切片上存在垂直或水平的白色皱纹，这明显表明切片无法使用。鉴于这些缺陷的独特性质，它们被分类为两个额外的特定类别：水平线（见Figure 4.6）和垂直线（见Figure 4.7）。

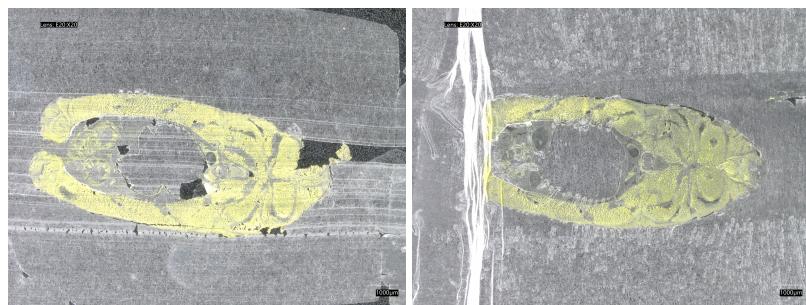


Figure 4.6 horizontal line

Figure 4.7 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 4.8）。最后，对于剩下的图片，我们将其标注为 other（如图Figure 4.9）。

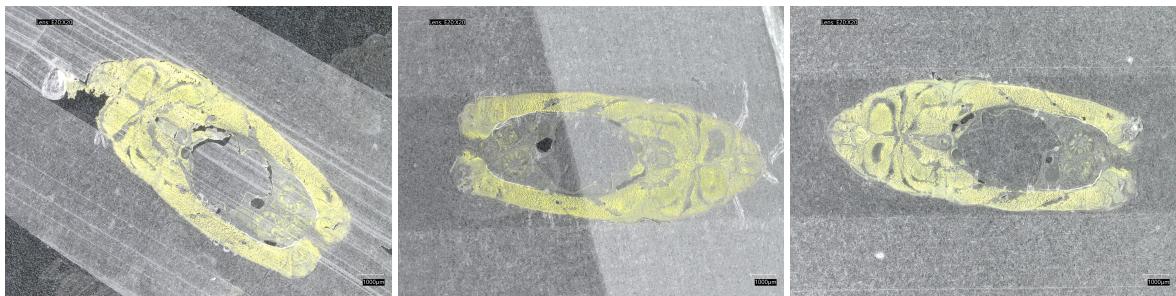


Figure 4.8 slope

Figure 4.9 other

Figure 4.10 normal

正常的符合观察要求的切片如Figure 4.10所示。

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：简单 CNN 网络与原始图像

对于一个新的数据集，其中模型的适当复杂度与给定图像复杂度的不确定性，首先采用基本的 CNN 架构来评估数据集的特性和图像的复杂性。

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	-	-	-

简单 CNN 模型的配置在Table 4.1中概述。这些初始模型，标记为配置 1a、1b 和 1c，根据卷积层中的神经元数量和全连接层中的神经元大小进行变化。配置 1a 和 1b 根据卷积层中的神经元数量有所不同，而配置 1c 则在全连接层中的神经元大小上与配置 1a 有所不同。

预处理步骤包括将数据集分为训练集（80%）和测试集（20%）。在输入层，图像尺寸减半（从 2880x2160 到 1440x1080），并对数据进行归一化。

在训练过程中，使用 Adam 优化器和交叉熵损失函数，实现早停以避免过拟合。

下面的图表显示了模型 1a、1b 和 1c 在训练周期中的准确性和损失。

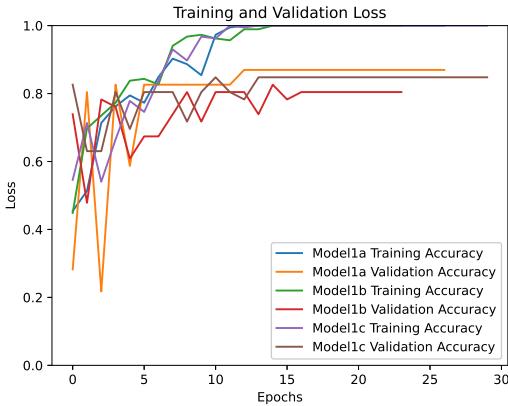


Figure 4.11 Model 1 accuracy

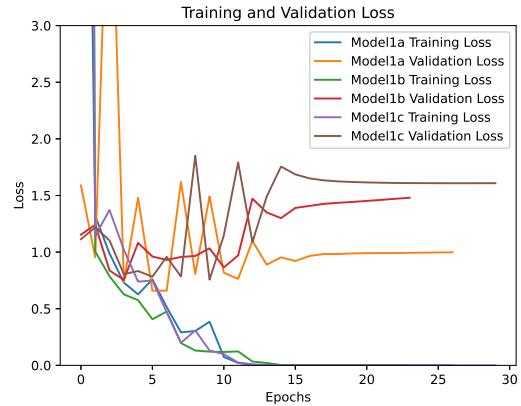


Figure 4.12 Model 1 loss

从图表中可以看出，模型 1a、1b 和 1c 的训练准确性逐渐增加，随着时间的推移趋于稳定，而训练损失则逐渐减少，接近零。这表明模型从训练数据中学习得相对良好。然而，对于验证集，所有三个模型的准确性在 80% 到 85% 的范围内稳定，而在某些情况下，验证损失相对较高，特别是在模型 1a 中，它接近 2.5 并显示出显著的波动。这表明存在一定程度的过拟合，即模型在训练数据上的表现优于在未见过的数据上。值得注意的是，模型 1c 在验证损失方面表现最好，表明其结构或参数调整可能更有效地提高泛化能力。

这里过拟合的可能原因是模型的复杂度相对于数据集的复杂度不足，表明模型可能没有有效地从数据中提取特征。尽管模型在训练集上达到了高准确性和低损失，但它们在验证集上的泛化能力需要增强。

为了提高模型的准确性，考虑对图像进行预处理并手动帮助模型进行特征提取可能是有益的，这有助于模型更好地泛化到新数据。

4.4 图像预处理改进

在模型性能不佳的情况下，可能是由于图像的复杂性阻碍了模型有效提取重要特征。因此，考虑使用边缘检测和阈值分割等图像预处理技术，以突出模型识别的所需特征，并减少无关特征和噪声，从而提高后续深度学习模型的准确性。

4.4.1 边缘检测

如 3.1.1 节所述，边缘检测的原理涉及识别像素强度（梯度）的变化，以确定图像内的边缘。

在进行边缘检测之前，首先应用一个初始预处理步骤——高斯模糊。高斯模糊的理由是它有助于减少图像中的噪声，平滑梯度过渡，并降低检测到假边缘的可能性，从而提高边缘检测的准确性 [20]。我们试验了 21、41、61 和 81 大小的高斯核，分别对应于图像宽度的 1%、2%、3% 和 4%。

下面显示了高斯模糊后的图像。为了更好地演示高斯核大小对边缘检测的影响，模糊后使用 Sobel 算子计算边缘并增加 50 个单位的亮度以提高可见性。

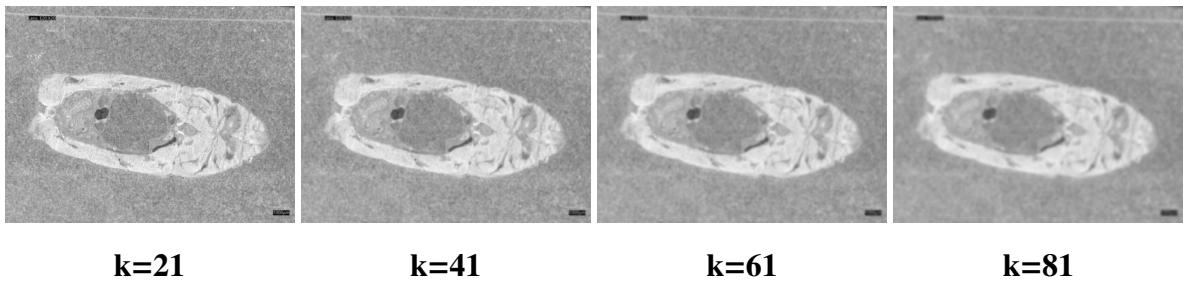


Figure 4.13 Images post-Gaussian blur

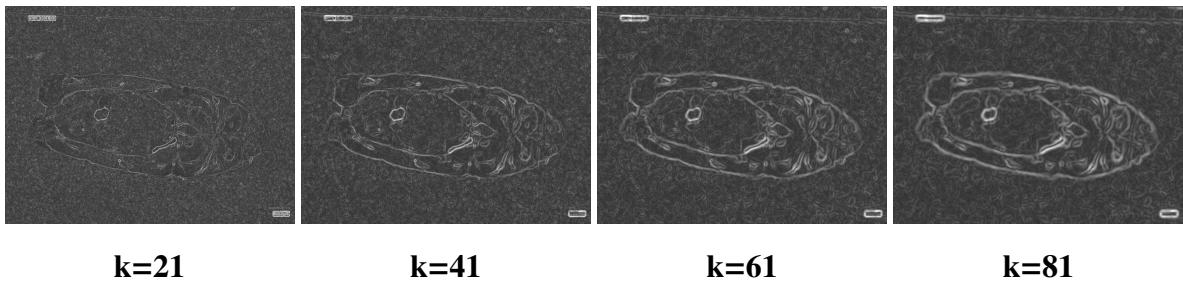


Figure 4.14 Images post-Sobel operator

在 Figure 4.13 中，可以观察到，随着高斯模糊核大小的增加，图像细节逐渐变得更模糊，边缘也变得不明显。在 Figure 4.14 中，随着核大小的增加，边缘检测的效果减弱，边缘变得不那么突出。考虑到图像边缘与背景噪声的清晰度，选择了 61 的高斯核大小。

应用高斯模糊（ $k=61$ ）后，使用 Python 的 OpenCV 库通过拉普拉斯算子得到的结果如下所示：



Figure 4.15 laplacian

如前所述，Canny 算法比 Sobel 算法更复杂，包括阈值化和非最大抑制等步骤。Canny 方法使用两个阈值，一个低阈值和一个高阈值。大于高阈值的图像梯度被标记为边缘，而低于低阈值的梯度则不被视为边缘。在两个阈值之间的梯度只有在连接到高阈值边缘时才被视为边缘，有效地减少了噪声，从而得到了更准确的边缘检测。

通常，高阈值和低阈值之间的比例在 2:1 和 3:1 之间。对于这个实验，选择了 2.5:1 的比例，并探索了不同阈值对边缘检测的影响。

选择的低阈值是 2、4 和 6，对应的高阈值分别是 5、10 和 15。Canny 算法的结果如下所示：

在三个 Canny 结果中，Figure 4.17 的表现最好，能够保留大部分边缘细节，同时有效地消除了

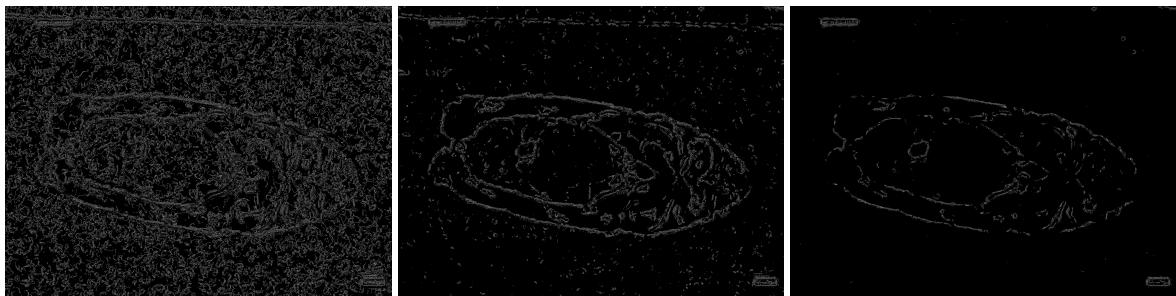


Figure 4.16 canny 2 5

Figure 4.17 canny 4 10

Figure 4.18 canny 6 15

大部分噪声。因此，选择了 4 和 10 作为 Canny 算法的阈值。总结

比较 Sobel、Laplacian 和 Canny 算法的结果，Sobel 算法的表现一般，边缘检测明显，但噪声减少有限。Laplacian 算法的表现最差，边缘几乎变得不可见，可能是由于其对噪声的高敏感度。Canny 算法的结果最好，保持了边缘细节，同时有效地去除了大部分噪声。因此，选择 Canny 算法作为图像预处理的方法，增强了模型对于进一步分析的相关特征的关注能力。

4.4.2 *Threshold Segmentation*

考虑到生物组织样本（黄色）和标本中的石蜡（白色）的颜色差异，阈值分割提供了一种直接的方法来区分这两个组成部分，通过隔离图像的白色区域，保留生物组织。这个过程包括增强图像的对比度和饱和度，以更好地突出生物组织的黄色，如 Figure 4.19 所示。处理步骤使用 Python 的 OpenCV 库执行。

首先，评估图像中的每个像素，保留黄色像素周围大约半径 15（约为图像宽度的 1%）的像素。其他颜色被移除，如 Figure 4.20 所示。然而，由于切割过程中组织碎片的分散，这种方法显示出了限制，这些碎片可能散布在整个标本中，干扰了黄色像素的检测。

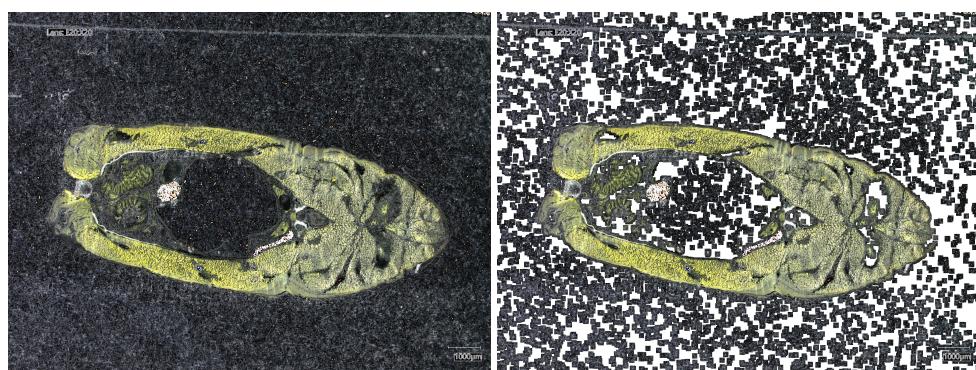


Figure 4.19 增强了颜色区分的图 **Figure 4.20** 聚焦于黄色像素的分割

为了精细化分割，需要进一步处理以消除图像中出现的黑色块。这是通过应用掩码反转来实现的，将这些黑色块变成白色，从而增强了生物组织与石蜡基底的分离。结果显示在 Figure 4.21 中。

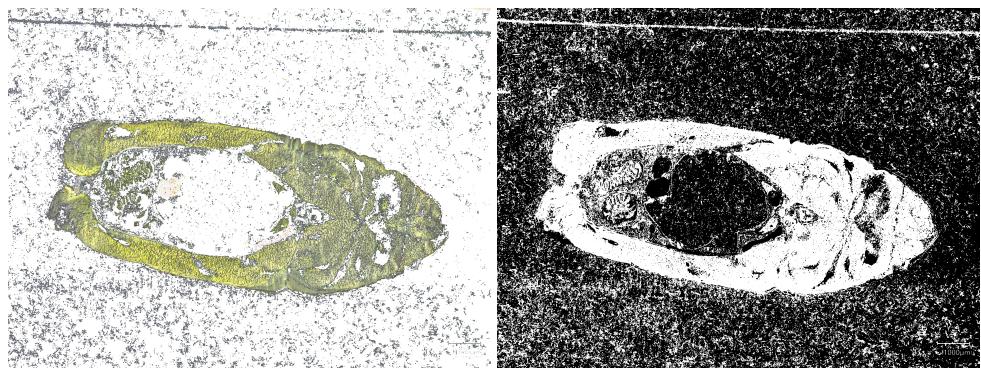


Figure 4.21 移除黑色块后的最终图像 **Figure 4.22** 使用指纹算法进行分割的结果

这种方法展示了结合颜色增强和阈值分割技术有效地从显微图像中分割生物组织和石蜡的实用性。挑战在于准确地区分组织碎片与背景噪声和其他非组织元素。这种方法对于组织病理学中的自动图像分析特别有效，其中准确的组织分割对于研究至关重要。

4.4.3 另一种阈值分割方法：指纹算法

在文献回顾过程中，找到了一篇描述了基于 Otsu 算法的改进分割方法的文章，专门适用于指纹分割。考虑到组织切片和指纹都是具有复杂模式和纹理的生物组织，我们假设这种算法也可能对切片组织的分割有效。应用这种方法的结果在 Figure 4.22 中进行了说明。

指纹算法是 Otsu 方法的一种改编，特别有效于区分高密度和低密度区域，这对于需要区分脊和谷的对比度的应用，如指纹识别，是理想的。在生物组织分割的背景下使用这种算法可能提供一种强大的方式来划定样本内不同细胞密度或结构的区域。

4.4.4 总结

基于讨论的图像预处理技术，边缘检测和阈值分割在突出生物组织的特征和消除石蜡干扰方面都显示出了有希望的结果。这些预处理步骤显著增强了关键特征的可见性，同时最小化了噪声和无关信息，这对于组织病理学中的准确分析至关重要。

为了利用这些改进，可以建立三个数据集：

- 通过 **边缘检测** 处理的图像。
- 通过 **阈值分割** 处理的图像。
- 使用 **指纹算法** 处理的图像。

这些数据集将作为即将进行的模型训练阶段的训练集。利用多样的预处理方法不仅增强了模型的鲁棒性，通过提供数据的多样表示，而且有助于探索哪种图像预处理技术最能有效地帮助模型学习相关特征。

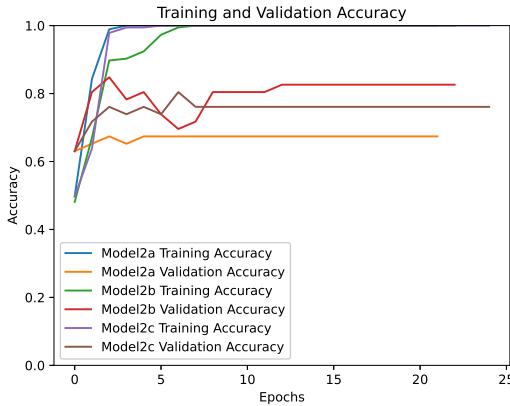


Figure 4.23 模型 2 的准确率

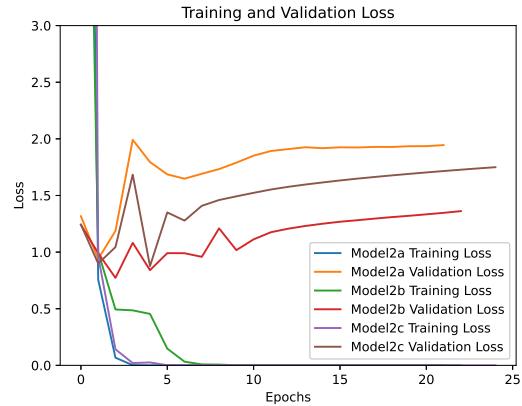


Figure 4.24 模型 2 的损失

4.5 模型 2：使用简单 CNN 网络的预处理图像

在本节中，我们将模型 1c（从前面的实验中表现最好的模型）调整为使用预处理图像。架构保持不变；然而，输入现在由经过各种预处理技术的图像组成：

- **模型 2a：** 使用经过 Canny 边缘检测处理的图像。
- **模型 2b：** 使用经过阈值分割处理的图像。
- **模型 2c：** 输入是使用指纹算法分割的图像。

每个模型都遵循模型 1c 的架构，包括每个具有 32 个特征图和 3x3 内核的三个卷积层，最大池化层，以及一个具有 256 个神经元的全连接层。

结果显示在下面的图中（Figure 4.23 和 Figure 4.24），展示了模型 2a、2b 和 2c 的训练和验证准确率以及损失。

4.5.1 小结

图表显示，模型 2a 和 2c 在大约 8 个训练周期后开始稳定，训练准确率接近 100%，而验证准确率分别稳定在 65% 和 75% 左右。尽管准确率高，但这两个模型的验证损失都相对较高，超过 1，这表明过拟合和对未见过的数据的泛化能力有限。

然而，模型 2b 在大约 10 个训练周期后收敛，显示出最高的验证准确率，约为 82%，并且损失在 1 和 1.2 之间波动。这表明模型 2b 在验证集上的表现更好，表明更好的适应性和鲁棒性。这可能是因为模型 2b 处理的是彩色图像，这些图像从 RGB 通道提供了更丰富的特征，可能增强了特征提取和泛化能力。

然而，有一种风险是在预处理步骤中可能会丢失重要的细节，特别是在模型 2b 的阈值分割中。这可能会对模型在特定类型的图像上的性能产生负面影响。以下是这种关键信息丢失的一个例子：

在 Figure 4.26 中，我们看到模型 2b 的训练集中使用的阈值分割算法显著增强了水平褶皱，可能在训练过程中使模型混淆。



Figure 4.25 原始图像

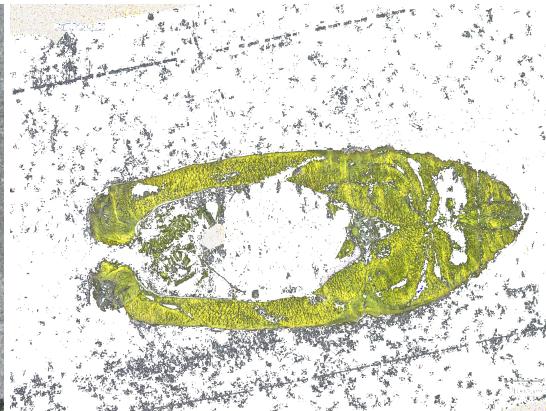


Figure 4.26 黄色阈值分割后的图像

这些发现突显了图像预处理的挑战。过度的预处理有时会消除关键信息，导致训练结果降低。在未来的步骤中，可能会采用迁移学习，使用适应我们数据集的预训练的大规模深度学习模型，以提高训练效果并解决这些挑战。

4.6 模型 3：原始图像与迁移学习

使用预训练模型的迁移学习

我们正在整合三个在 ImageNet 数据集上预训练的知名模型：VGG16、VGG19 和 InceptionV3。这些模型带有预训练的权重，这些权重经过高度优化，预计在适应我们特定的数据集时，将显著提高特征提取能力。

- VGG16（模型 3a）和 VGG19（模型 3b）相似，但 VGG19 有三个额外的卷积层，可能提供更好的特征提取能力。
- InceptionV3（模型 3c）整合了 Inception 模块，使其能够在多个尺度上捕获更广泛的特征，提供更复杂且可能更有效的特征提取机制。

迁移学习的适应性

为了防止过拟合并优化迁移学习过程：

- 使用了早停法。
- 学习率设定较低，对于 VGG16 和 VGG19 为 $1e-5$ ，对于结构更复杂的 InceptionV3 稍高，为 $1e-4$ 。
- 所有模型都被调整为接受 224×224 的输入大小，除了 InceptionV3 使用其默认的输入大小 299×299 。这种统一的输入大小有助于标准化数据预处理步骤。
- 在每个模型的基础模型层之后添加了一个全局平均池化层，然后是一个与输出类别数匹配的全连接层。

模型训练的观察

以下是这些模型的训练和验证性能：

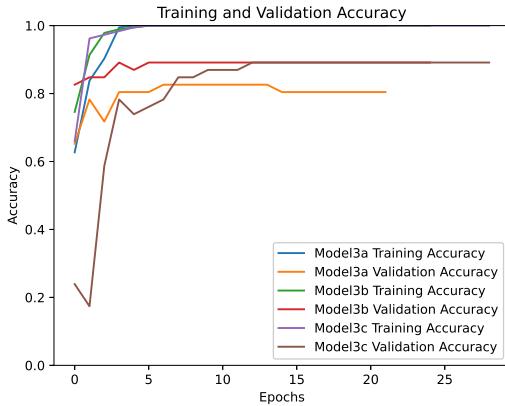


Figure 4.27 模型 3 的准确率

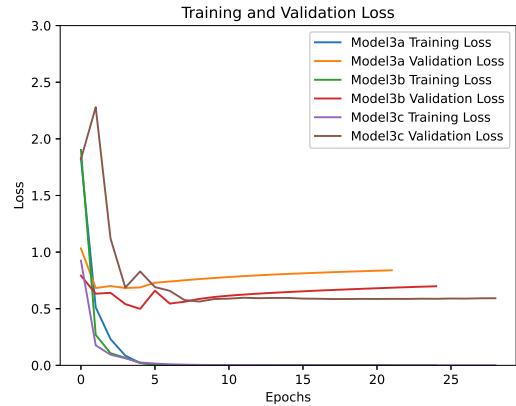


Figure 4.28 模型 3 的损失

分析

- 模型 3b (VGG19) 和 3c (InceptionV3) 显示出约 90% 的显著更高的验证准确率，与模型 3a (VGG16) 相比。
- 损失指标表明，模型 3c (InceptionV3) 在三者中具有最低的验证损失，表明它在泛化到未见过的数据方面最为有效。这突显了 InceptionV3 在捕获复杂特征方面的优越能力。
- 模型 3a 和模型 3b 之间的性能差距支持了这样的观点，即 VGG19 中额外的卷积层增强了其比 VGG16 更有效地处理图像特征的能力。

4.6.1 小结

对 VGG16、VGG19 和 InceptionV3 模型的比较分析显示，InceptionV3 提供了最佳的训练结果，其训练和验证准确率分别收敛于 1 和 0.9 左右，损失收敛于 0.6。这表明 InceptionV3 模型不仅有效地进行训练，而且展示了卓越的泛化能力。

4.7 模型选择总结

当在模型系列——模型 1、模型 2 和模型 3——之间进行比较时，显然模型 3 的表现最好，特别是模型 3c。其根本原因可能是由于模型 3 基于在大规模图像数据集上预训练的深度卷积网络，使得特征提取更有效，能够开发出强大的特征空间。

模型 3c (InceptionV3) 的显著特性：

- **架构设计：** InceptionV3 具有模块化设计，包含多个“inception 模块”，这些模块包括在同一层内并行操作的多尺度卷积层。这种模块化方法使网络能够在各种尺度和深度上捕获广泛的特征。
- **特征提取：** Inception 模块可以通过在同一层内处理不同尺度的特征来适应性地捕获适当的特征表示。这种适应性使其特别适合处理复杂的图像数据，如生物医学图像。
- **深度网络处理：** InceptionV3 集成了批量归一化和残差连接，这些在训练深度网络中至关重要。这些技术有效地缓解了梯度消失的问题，从而有助于训练更深的模型而不降低性能。

考虑到这些优点，模型 3c (InceptionV3) 被选为我们的最终模型，用于进一步的应用和测试。这个模型不仅因其先进的架构创新而突出，而且因其在泛化到新的、未见过的数据方面的证明效果而突出，使其非常适合复杂的任务，如医学图像分析，其中准确性和可靠性至关重要。

5 Project management, consideration of sustainability and health and safety

5.1 Project management

The primary tool for managing the project was a Gantt chart, as illustrated in Figure 7.1. This chart served as a visual tool to set and track realistic timelines for completing various sections of the project. It was updated throughout the project to reflect changes, including additions and deletions of project segments.

Regular updates to the chart, combined with weekly meetings with the supervisor, ensured the project remained on schedule.



Figure 5.1 Gantt chart

5.2 Health and Safety

The only potential safety hazards in the laboratory stem from the operation of experimental equipment, particularly during the preparation of biological sections and the use of microscopes. The preparation of sections involves the use of extremely sharp tissue slicers, necessitating great caution to avoid cutting fingers. We adhere strictly to laboratory protocols, wearing gloves and avoiding direct contact with blades. Moreover, to minimize injuries and ensure consistency in experiments, we mostly employ the automatic cutting function of the machine rather than manual cutting. This means that during the section preparation process, the experimenter is only responsible for adjusting the blade while the machine handles the rest.

While capturing images under the microscope, the primary risk involves accidentally touching the microscope's lenses, which could damage them. To prevent this, we minimize manual handling and

utilize the microscope's automatic adjustment features to control focus and aperture. This approach helps prevent contamination of the lens during manual adjustments, thereby maintaining the quality of imaging.

5.3 *Sustainability*

Concerning sustainability, the only outputs from our experiments are biological tissue sections and glass slides. These used materials are disposed of strictly according to waste segregation protocols. Biological tissue sections are scraped off and placed in biological waste bins, whereas glass slides, given their sharpness, are wrapped and placed in bins designated for glass. These practices ensure a clean laboratory environment and protect personnel from injuries caused by sharp objects.

Additionally, we implement basic energy-saving measures related to the use of electricity and other resources in the lab. Ensuring that equipment is completely turned off when not in use helps to minimize energy wastage. Although these measures may seem minor, they contribute significantly to environmental protection and energy conservation over the long term.

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>.