



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 3rd 2024

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

Supervisor: Dong Wang

Abstract

This research demonstrates the innovative application of deep learning technologies in optimizing the cutting parameters of microtomes used in biomedical research. Our objective is to enhance the precision and efficiency of tissue sample preparation by utilizing Convolutional Neural Networks (CNN) to analyze tissue sections and determine optimal cutting conditions. The study integrates advanced image analysis and machine learning to evaluate the quality of tissue samples under various cutting angles, thereby improving the production of high-quality specimens for microscopic examination.

Our methodology includes collecting a comprehensive dataset of tissue samples, classifying sample quality using artificial image classification, and developing a CNN model to predict the best cutting parameters. The performance of the model was validated through empirical testing, showcasing significant improvements in tissue sample quality and laboratory workflows. This work promises to advance biological and medical sciences by simplifying the tissue sample preparation process and enhancing the quality of tissue sections in scientific research.

The results indicate that deep learning models, especially those pretrained on large datasets, are highly effective in identifying and classifying the quality of tissue sections, thus providing a robust framework for the automatic adjustment of microtome settings. This study not only deepens our understanding of the factors affecting tissue section quality but also proposes a concept for future research on automating biological sample preparation using machine learning.

Keywords: Deep Learning Image Analysis Convolutional Neural Networks
Tissue Microtome

Table of Contents

1	Introduction and background	1
1.1	Background	1
1.2	Introduction	1
1.3	Structure of the Report	1
2	Literature review	2
2.1	切片机与显微镜	2
2.2	深度学习	3
2.2.1	卷积神经网络	3
2.2.2	迁移学习	3
2.2.3	关于切片组织的深度学习	4
3	Methodology and theory	4
3.1	计算机视觉-图像分割	4
3.1.1	边缘检测	5
3.1.2	阈值分割	6
4	Experimental work/ analytical investigation/ design	6
4.1	采集数据	6
4.2	标注数据	7
4.3	模型 1：简单 CNN 网络与原始图像	8
4.4	图像预处理改进	10
4.4.1	边缘检测	10
4.4.2	Threshold Segmentation	11
4.4.3	另一种阈值分割方法：指纹算法	12
4.4.4	总结	13
4.5	模型 2：使用简单 CNN 网络的预处理图像	13

4.5.1 小结	13
4.6 模型 3: 原始图像与迁移学习	14
4.6.1 小结	15
4.7 模型选择总结	16
5 Presentation of experimental or analytical results/descriptions of final constructed product . .	16
5.1 在测试集上验证模型的准确性	16
5.2 模型的改进（改变输入分辨率）	17
5.3 研究机器的最佳切割角度	18
5.4 模型的泛化性	19
6 Discussion and conclusions	20
6.1 Discussion of results	20
6.2 Future work	21
6.2.1 提升分类方法	21
6.2.2 探究其他参数对切削质量的影响	21
6.2.3 性能提升和优化	22
6.2.4 切割过程的优化	22
6.3 Conclusions	23
7 Project management, consideration of sustainability and health and safety	23
7.1 Project management	23
7.2 Health and Safety	23
7.3 Sustainability	24
References	24

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]。

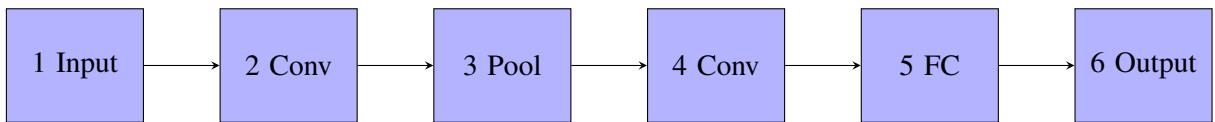
同样，显微镜的选择也至关重要。在这个实验中，我们使用 Keyence 的 VHX7000 显微镜进行图像采集。它能够捕获生物组织切片的图像（例如，小鼠前列腺细胞 [5]），以及无机材料（如陶瓷 [6]，玻璃 [7]）。

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 深度学习

2.2.1 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 [8]。一个典型的 CNN 架构如下所示：[9]



在这个模型中：

卷积层（Conv）：这是 CNN 的核心层，负责从图像中提取特征。

池化层（Pool）：这些层用于减少特征图的维度，从而降低计算负载。

全连接层（FC）：这些层整合了卷积层和池化层提取的特征，用于分类或回归分析，最终导致输出。

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。
[10]

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。

一旦训练完成，CNN 可以用来预测新的、未见过的图像的标签。CNN 的独特之处在于它们能够自动且高效地学习不同层次的抽象特征，使它们对于涉及复杂图像数据的任务非常有效，如医学图像分析，其中准确性和细节至关重要。[11]

2.2.2 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。[12]

对于 CNN 模型，有几种迁移学习的方法，如微调和特征提取：

微调涉及调整预训练模型的参数以适应新任务。这通常包括在新数据上重新训练一些卷积层和全连接层，使模型能够将特征微调到新数据集的特定特性。[13]

特征提取涉及使用预训练模型作为固定的特征提取器，其中只有全连接层在新数据上进行训练。在这种方法中，卷积层保持其学习的权重，并仅用于提取特征，这些特征然后被新训练的分类器层用于执行特定于新数据集的任务。[14]

常用的预训练模型包括 VGG16, VGG19、Inception 等。这些模型已经在像 ImageNet 这样的大型数据集上进行了大量训练，其中模型中各层的权重已经被优化，可以有效地用于迁移学习。[15]

Table 2.1 显示了由牛津大学视觉几何组设计的 VGG 系列（VGG16, VGG19）模型 [16]，以及由 Google 开发的模块化深度学习模型 InceptionV3 [17] 和 Xception [18] 的参数数量。这些模型拥有大量的参数，使它们能够从复杂的图像中准确地提取特征。利用这些训练有素的模型的能力使研究人员和实践者能够在特定任务上获得高性能，而无需从头开始训练整个网络，既节省了时间和资源，又保持了高准确性。[?]

Table 2.1 Comparison of CNN Models

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

2.2.3 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 [19]。

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 [20]。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 [21]。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。

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 [22]。

Sobel 算子是一种一阶差分算子，可以用来检测图像边缘 [23]。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。

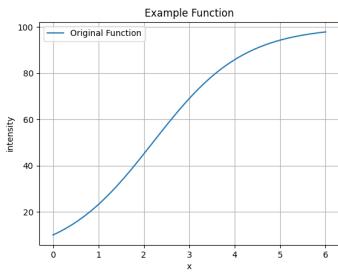


Figure 3.1 $f(x)$

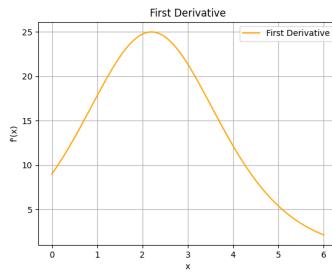


Figure 3.2 $f'(x)$

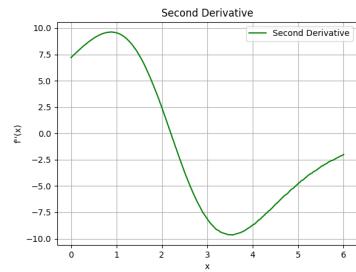


Figure 3.3 $f''(x)$

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 [24]。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。

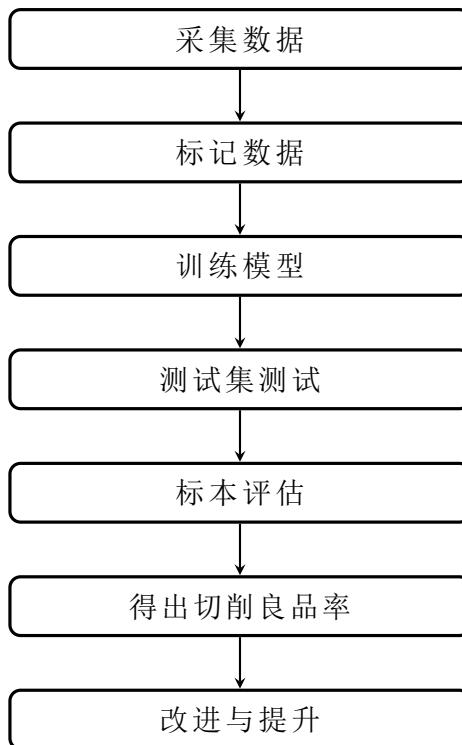
对于样品来说，一个很简单的方法就是将石蜡区域和生物组织区域（样品在制备时已染色）的颜色进行对比，然后通过阈值分割的方法将其分割开来。假定生物组织为黄色，石蜡为白色，那么可以通过设置一个阈值，将图像中的白色部分分割出来，那么剩下的就是生物组织部分。

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。[25]

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

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 [26].

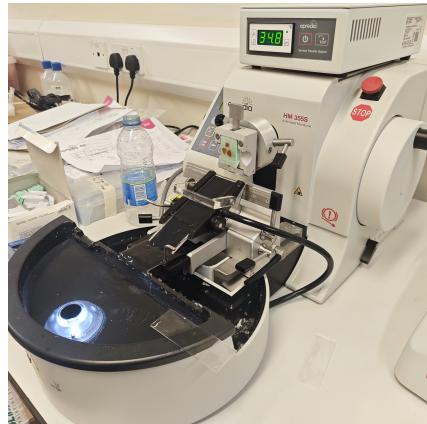


Figure 4.1 切片机

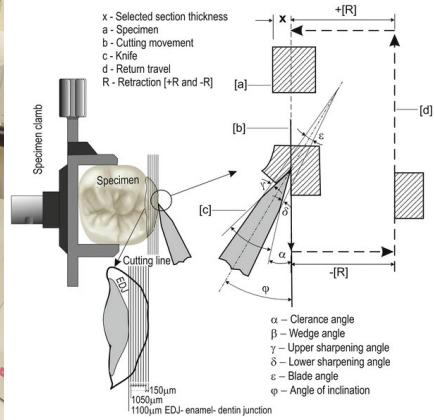


Figure 4.2 切片机示意图

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 4.3 生物组织切片



Figure 4.4 采集样本

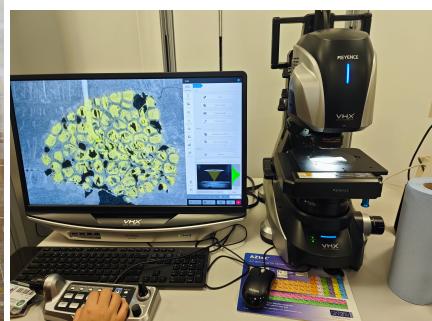


Figure 4.5 显微镜

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）。

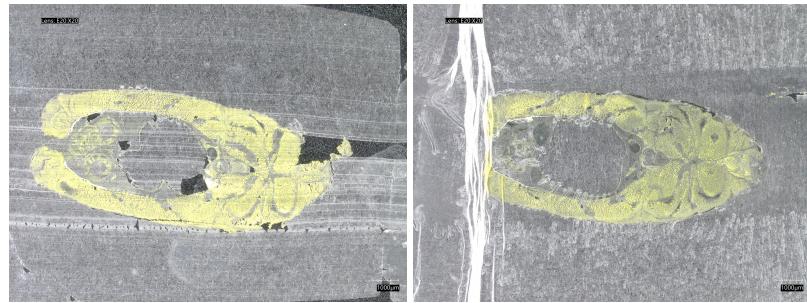


Figure 4.6 horizontal line

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)。

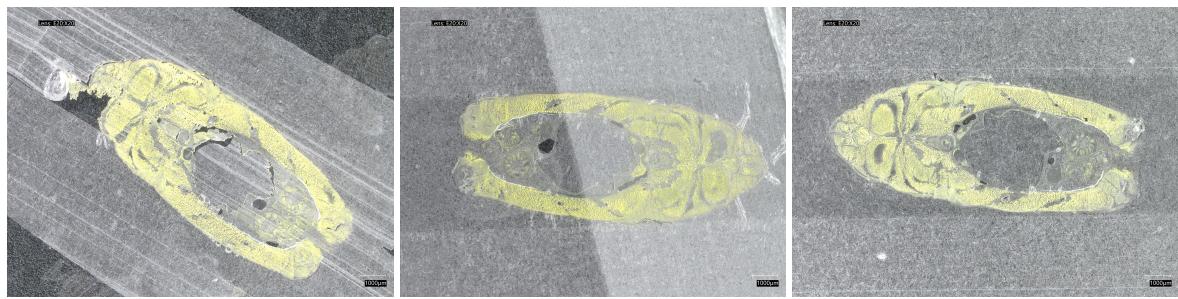


Figure 4.8 slope

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。

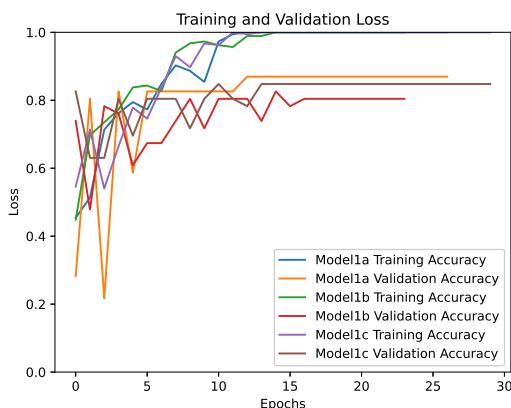


Figure 4.11 Model 1 accuracy

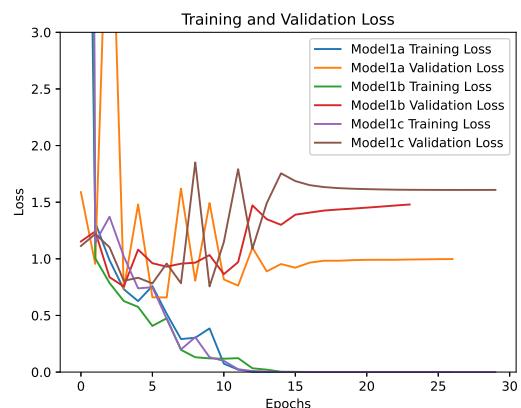


Figure 4.12 Model 1 loss

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。

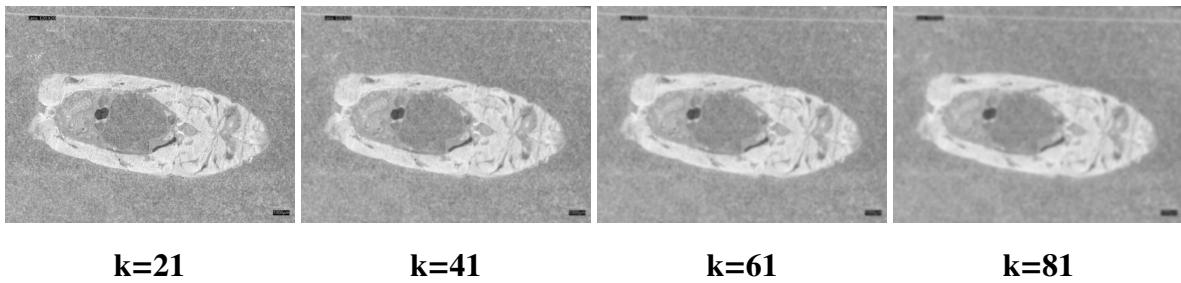


Figure 4.13 Images post-Gaussian blur

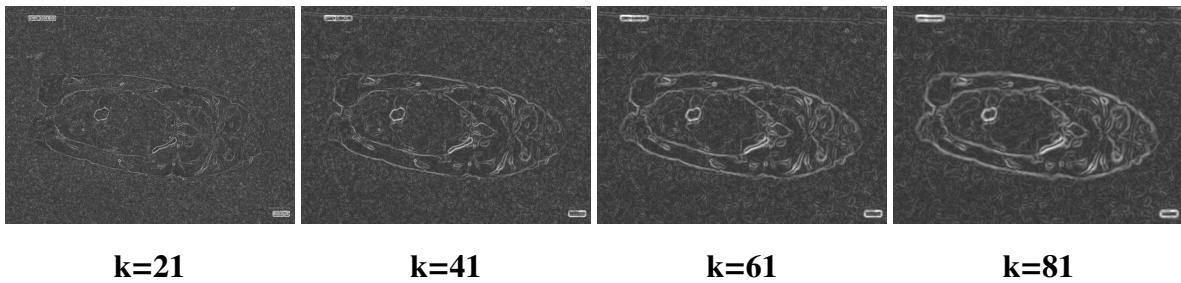


Figure 4.14 Images post-Sobel operator

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 [27]。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。

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

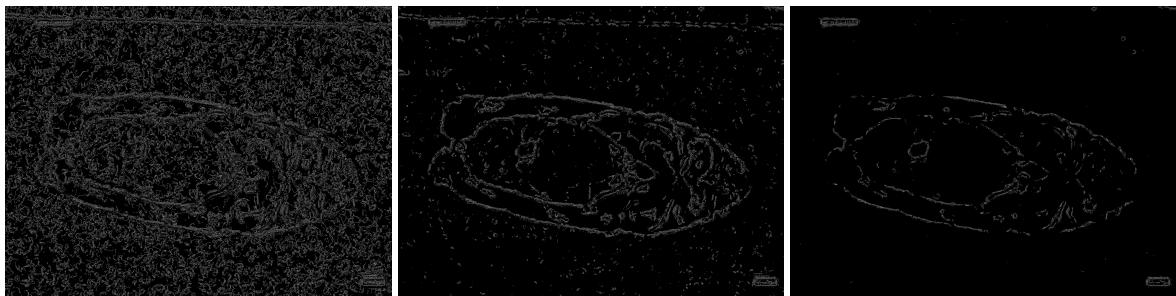


Figure 4.16 canny 2 5

Figure 4.17 canny 4 10

Figure 4.18 canny 6 15

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。

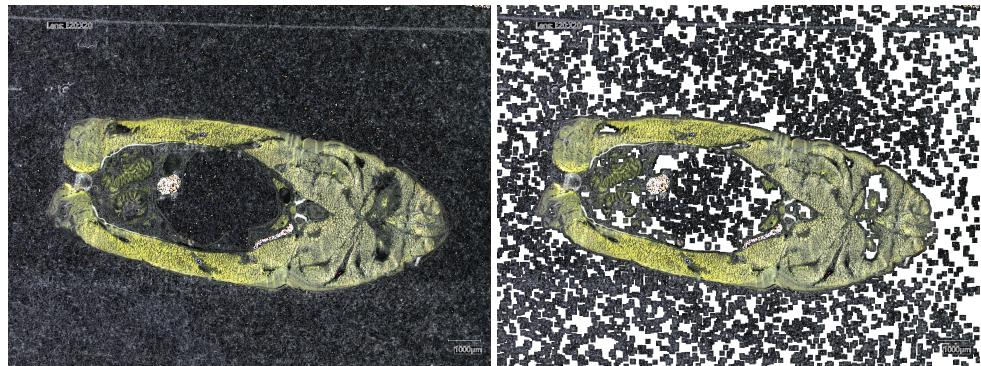


Figure 4.19 增强了颜色区分的图
像

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。

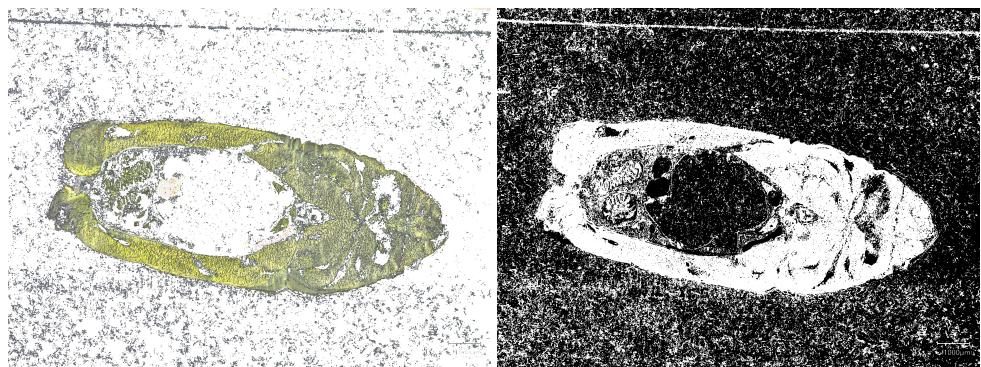


Figure 4.21 移除黑色块后的最终
图像

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。

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。

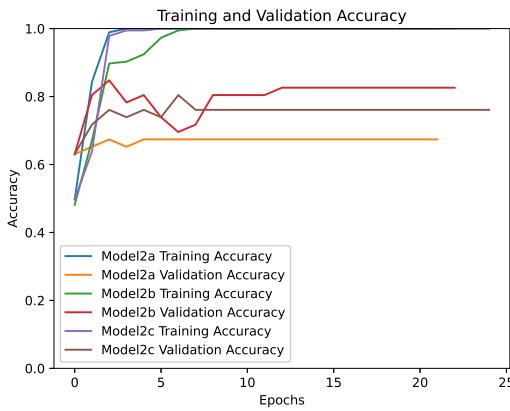


Figure 4.23 模型 2 的准确率

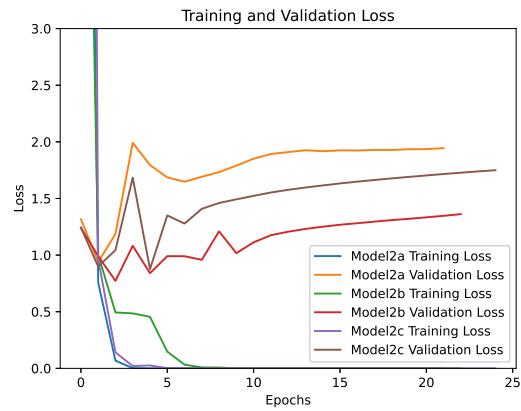


Figure 4.24 模型 2 的损失

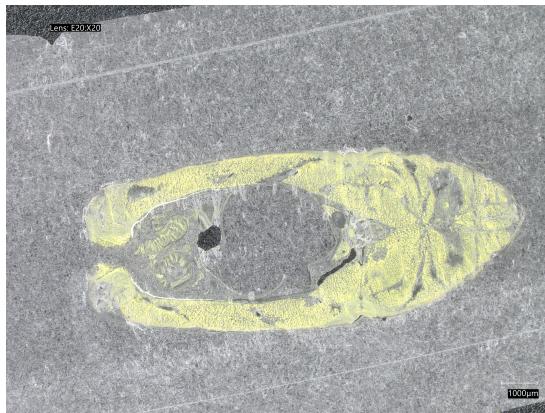


Figure 4.25 原始图像

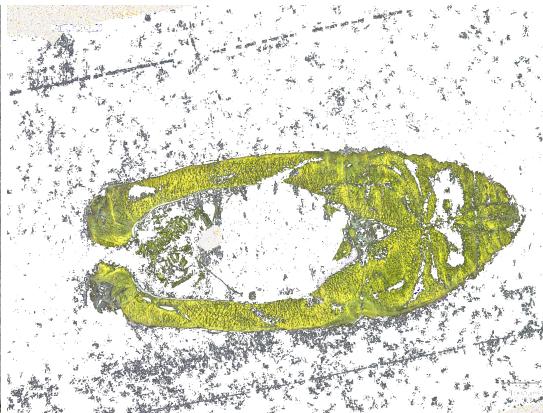


Figure 4.26 黄色阈值分割后的图像

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。

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：

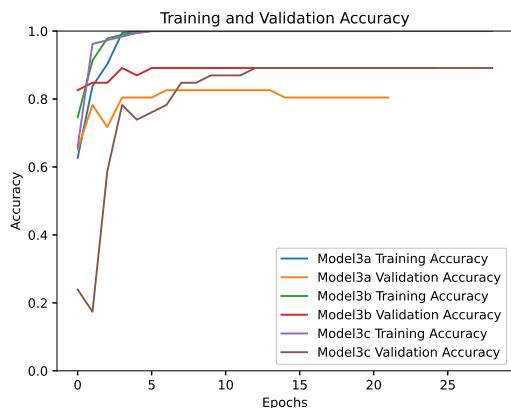


Figure 4.27 模型 3 的准确率

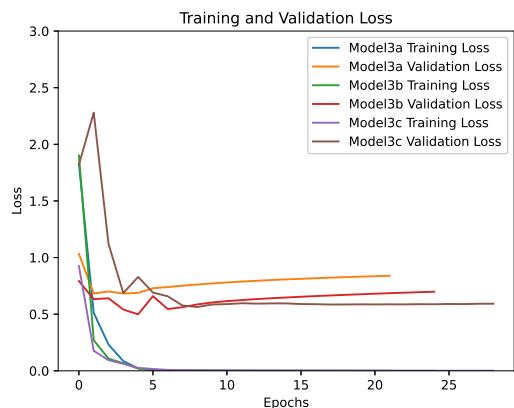


Figure 4.28 模型 3 的损失

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，而且展示了优越的泛化能力。

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

在这一部分，我们将讨论我们的模型的测试结果，并探索进一步改进的领域。

5.1 在测试集上验证模型的准确性

训练后，我们在一个特别准备的测试集上评估了模型的准确性。准确性定义为模型预测与实际标签匹配的样本比例。

下面的表格和图形展示了模型在不同类别中的准确性：

模型性能分析

模型在"正常"类别中的表现非常出色，准确率达到 98.4%，这表明它在识别没有明显缺陷的组织切片方面具有强大的能力。同样，"水平线"和其他类别的准确度也很高，反映出模型在识别这些特定类型的缺陷方面的有效性。

然而，"垂直线"类别的准确度明显较低，只有 80.0%。这表明模型识别这种类型缺陷的能力需要加强。这可能是由于训练数据不足，限制了模型的学习。也可能是因为垂直线的特征相对不太明显，使得模型难以准确提取特征。

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

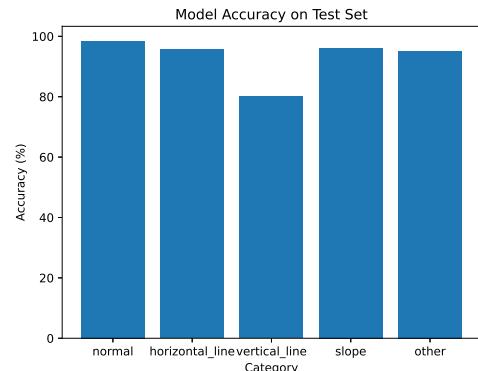


Figure 5.1 Model Accuracy on Test Set

5.2 模型的改进（改变输入分辨率）

在这里，我们将讨论模型进一步改进的可能性。

将高分辨率图像缩放到 InceptionV3 模型所需的默认大小 299x299，确实可能导致信息和细节的丢失。这对于原始分辨率较高的图像尤其关键，例如 VHX7000 设备拍摄的 2880x2160 的图像。直接缩小这些图像可能会阻碍模型捕获所有微妙差异的能力，这在医学成像等细节丰富至关重要的领域尤其有害。

一种可能的解决方案是修改模型的输入层，以接受更大的图像尺寸。这种方法使模型能够处理更高分辨率的图像，从而保留更多的原始信息和细节，这可能会提高性能和准确度。InceptionV3 架构，其具有多个不同核大小的卷积，特别适合处理更大的图像，因为它可以有效地捕获不同尺度的特征。

由于实验室硬件（16GB 的显存）的限制，图像被缩放到原始大小的 0.4 倍，因此在这个实验中，图像的尺寸为 1152x864。

Training the New Model (Model 4)

Model 4 is trained with these adjusted image sizes, and its training effectiveness is as follows:

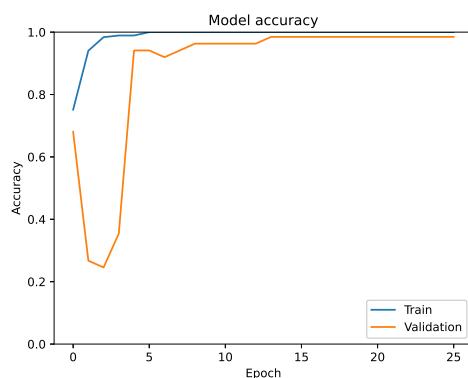


Figure 5.2 Model-4 accuracy

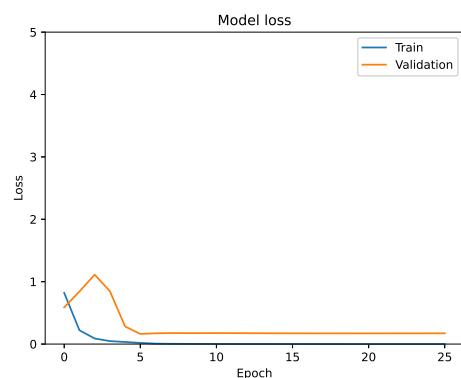


Figure 5.3 Model-4 loss

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

通过观察训练准确性和损失随时间的变化，我们可以看到模型性能有了显著的提升。训练和验证的准确性都接近 1，验证损失降低到大约 15%，这表明模型具有强大的泛化能力。这表明模型不仅在训练数据上表现优秀，而且能够有效地泛化到新的、未见过的数据。

在测试集上重新评估准确性

更新后的模型然后在测试集上重新进行评估，结果如Table 5.2所示：

比较改变分辨率前后的准确性，有明显的提升，尽管不是很大。这种适度的增加可能归因于已经接近 1 的高准确性，进一步的改进有递减的回报。

结果证实了处理高分辨率图像的潜在好处，特别是在需要高保真和细节的设置中，如生物组织分析和研究。

5.3 研究机器的最佳切割角度

为了确定微切机的最佳切割角度，我们准备了在 8 到 12 度之间，以 0.5 度为增量的各种角度切割的组织切片图像。每个角度类别包含 100 个图像，总共有 9 个不同的数据组。然后使用模型 4 来评估每组的质量率，目标是找出获得高质量切片最多的角度。

下表和图形展示了每个切割角度的准确性，定义为高质量切割的百分比：

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

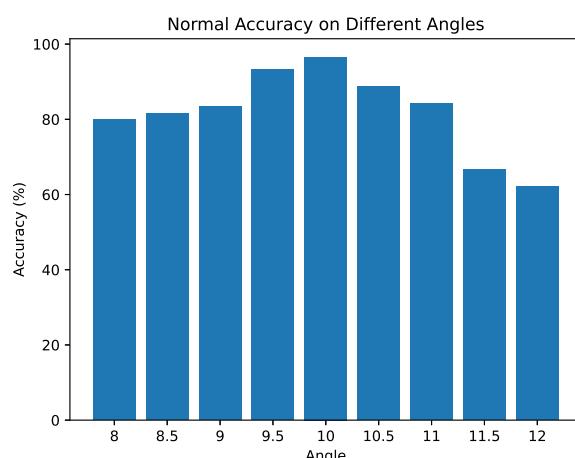


Figure 5.4 Model Accuracy on Different Angle

从Figure 5.3中的数据可以看出，获得最高质量组织切片的最佳切割角度是 10 度，准确性高达 96.6%。

此外，如Figure 5.4所示，为了保持至少 80% 的切片质量率，切割角度应设置在 9 到 10.5 度之

间。这个范围不仅确保了高质量切割的比率，而且还提供了一些机器设置的灵活性，以适应可能的组织类型或条件的变化。

5.4 模型的泛化性

到目前为止的实验都使用了鱼的卵巢组织切片。在实际应用中，我们可能会遇到各种组织样本，包括其他器官或来自不同动物的标本。因此，评估我们的模型在各种组织类型上的泛化性是至关重要的。

我们准备了一个新的数据集，包括鱼肺组织切片，分为四类：好、正常、坏和其他。这些类别在下面的图中展示：(从Figure 5.5到Figure 5.8)

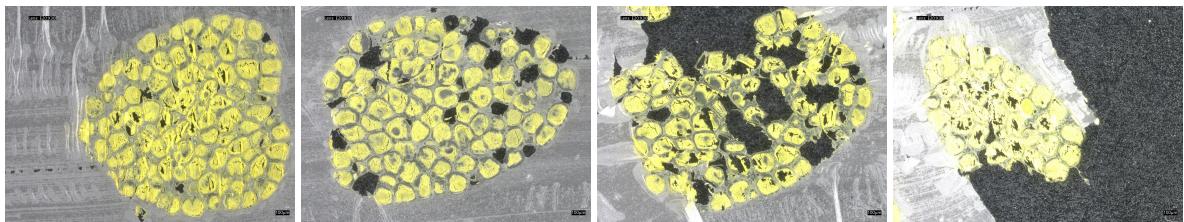


Figure 5.5 Good fish lung

Figure 5.6 Normal fish lung

Figure 5.7 Bad fish lung

Figure 5.8 Other fish lung

保持原始的模型架构（模型 4），但使用分辨率为 1152x864 的鱼肺图像重新训练。训练的准确性和损失在Figure 5.9和Figure 5.10中展示。

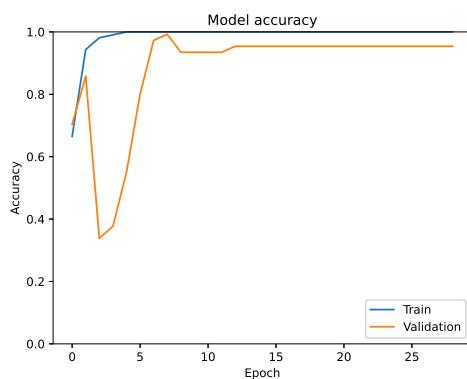


Figure 5.9 Model-5 accuracy

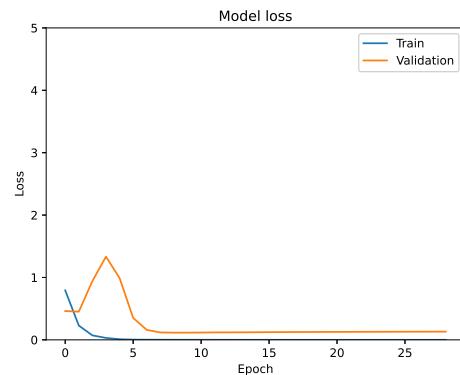


Figure 5.10 Model-5 loss

训练和验证的准确性迅速增加并保持在高水平，表明模型在两个数据集上的性能都很强。损失图显示训练损失迅速下降到零，验证损失在初期的激增后稳定下来，这表明模型的拟合和泛化性都很好。

模型进一步在测试集上进行测试，结果显示在Figure 5.11中。

Table 5.4 Model accuracy on test set

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

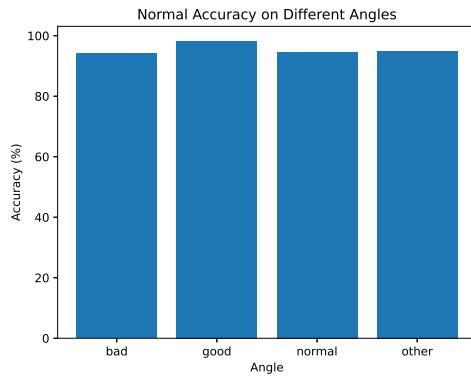


Figure 5.11 Model Accuracy on Test Set

该模型在所有标签上的准确率超过 90%，表明其强大的性能和显著的泛化能力。这表明该模型可以有效地分类不同类型的组织切片，可能使其成为各种生物医学成像应用的多功能工具。模型在不同组织类型上的稳健性强调了其在组织质量评估和分类任务中的潜力。

6 Discussion and conclusions

6.1 Discussion of results

如上所述，本研究旨在建立一个可靠的用于分类组织切片图像的模型。最初，我们实现了简单的 CNN 模型，但在观察到有限的成功后，研究转向了图像预处理，并最终选择了与 InceptionV3 模型一起使用的迁移学习，这产生了最好的结果。

值得注意的是，随着不同模型的试验，随着模型参数的调整或模型架构变得更复杂（如 InceptionV3），模型的性能显著提高，即验证集的准确率变得更高，损失变得更低。

此外，比较模型系列 1 和 2，我们发现使用预处理的图像来协助机器提取特征在图像分类任务中并不十分有效。图像处理可能会导致重要细节和信息的丢失，从而影响机器的特征提取，进而影响模型的准确性和性能。

在第 5 节中，我们测试了模型的应用。首先，我们选择了一个额外的测试集来测试模型的准确性，发现模型在所有测试集上的准确性都超过了 85%。然后我们使用模型来评估不同的切割角度，发现如果要保证切割质量在 80% 以上，切割角度应在 9 度到 10.5 度之间。最后，我们使用了另一个鱼鳃切片图像的数据集进行二次验证，发现模型对测试集标签的预测准确性都在 90% 以上，反映出该模型可以很好地应用于其他数据集。

下面展示的最终选择的模型配置，突出了我们如何有效地在训练框架中整合 InceptionV3 架构的结构化方法。

- Input Layer: 1152*864
- Base Model: InceptionV3
- Global Average Pooling Layer

- Fully Connected Layer (Number of nodes based on Labels) - Output Layer
- Learning Rate: 1e-4, Optimizer: Adam
- Loss Function: Cross-Entropy, Performance Metric: Accuracy
- Early Stopping: Enabled

6.2 Future work

6.2.1 提升分类方法

扩大分类类别

当前的研究显示，使用现有的分类方法有着令人鼓舞的结果；然而，这些方法仅限于五个类别。扩大这些类别可以深化对切割角度与样本质量之间关系的理解，提高分析精度。更广泛的分类范围也可以改善对各种组织类型和条件的最佳切割角度的预测。

过渡到线性分析方法

引入更详细的分类可以实现从分类到线性分析方法的转变。有足够的类别作为离散点，可以形成线性关系，允许线性回归准确地模拟切割角度与样本质量之间的关系。

线性判别分析（LDA）在这里非常有价值，特别是对于精化确定最佳切割角度并将其与组织质量相关联。这种方法简化了切割参数的预测，并增强了对组织切割过程的控制。

挑战和考虑因素

转向线性判别分析框架带来了重大挑战。与提供概率的二元分类模型不同，线性回归模型探索变量之间的直接关系，例如切割角度和组织质量之间的关系，这可能不是直接线性的。

此外，线性模型需要大量的数据，这增加了数据收集的持续时间和复杂性，并需要更大的计算资源。当前使用 TensorFlow 和 InceptionV3 模型的设置已经对 GPU 容量产生了压力，表明需要更先进的硬件和计算能力。

长期目标和资源需求

这些进步是需要大量资源和时间的长期目标。对线性判别分析的研究需要进一步的理论研究和实践实验。例如，Jie Wen 的"Robust Sparse Linear Discriminant Analysis" 将稀疏性整合到 LDA 模型中，增强了其鲁棒性和适用于复杂应用的适用性 [28]。

6.2.2 探究其他参数对切削质量的影响

在之前的实验中，我们把切割角度设置为自变量，切削质量设置为因变量，建立了一个模型。然而，实际上切削质量可能受到其他参数的影响，如切削速度、给进速度（切片厚度）、刀具磨损等。

在将来的工作中，如果我们重点研究切削质量的影响因素，那么关于其他变量的研究将会是必须的。事实上，关于这些参数对质量的影响可以用一个函数来直观的表示：

$$Q = f(\theta, v, f, w) \quad (6.1)$$

其中， Q 代表切削质量， θ 代表切削角度， v 代表切削速度， f 代表给进速度， w 代表刀具磨损。至于这个函数里面的具体形式，也就是各个参数所占的权重，则需要大量的实验数据来统计然后拟合。这又将是一个挑战。

6.2.3 性能提升和优化

随着这项研究向大规模应用进展，性能优化成为了一个关键的挑战。这不仅涉及提高算法效率，还包括改善模型框架的可扩展性、稳定性和部署能力，以及优化底层编程语言和代码。

为了优化计算资源的使用，采用更高效的计算框架和并行处理算法是必要的。利用分布式计算资源可以显著减少模型训练时间，并在处理大型数据集时提高效率。此外，考虑到能耗和计算成本的限制，优化模型的计算架构和参数设置以在有限资源内最大化输出是至关重要的。

文章"TensorFlow 和 PyTorch 在卷积神经网络中的应用效率分析" 强调了 TensorFlow 和 PyTorch 在处理卷积神经网络时的差异 [29]。TensorFlow 展示了较低的错误率和较小的收敛步骤，而 PyTorch 提供了更快的训练速度。

Pascal Fua 的"Comparing Python, Go, and C++ on the N-Queens Problem" 通过比较 Python、Go 和 C++ 在解决 N 皇后问题上的效率，提出了优化深度学习性能的方法。[30] 研究发现，运行时语言在处理循环和数据流方面有明显优势，这表明编译工具如 Numba、Cython 和 Pybind11 可以在深度学习应用中提高性能。

6.2.4 切割过程的优化

我们的研究还发现，在切割过程中实时评估切片质量，并根据这些评估进行调整，可以显著提高组织切片的质量。

我们提出的反馈调整过程包括在显微切片机上方安装一个摄像头，捕获正在切割的样本的数据。这些数据然后由预训练的模型实时分析，评估切片的质量。基于这个评估，可以调整显微切片机的切割速度和角度参数，以提高后续切片的质量，从而确保可控和一致的样本质量。

实施这个系统面临几个挑战：

- **实时图像处理：**需要一个清晰的摄像头和一个高效的实时图像处理系统，以快速捕获和处理图像数据。
- **强大的计算资源：**需要一个预训练的模型和一个强大的计算机，以快速评估图像并根据评估调整显微切片机的参数。
- **有效的控制接口：**需要一个高效的控制接口，以确保调整后的参数能及时传达给显微切片机。
- **时间效率：**整个系统必须在切割间隔内操作。

一个相关的例子可以在研究"Convolutional neural networks applied to microtomy: Identifying the trimming-end cutting routine on paraffin-embedded tissue blocks"[31] 中找到。这项研究通过用摄像头监控切割过程，用 CNN 分析图像，并根据分析调整显微切片机的参数，自动化了切割过程。显微切片机、摄像头和深度学习模型的集成在切割过程中实时评估和调整切割参数提供了一种可行的解决方案。

6.3 *Conclusions*

本研究通过将深度学习与生物医学组织切片设备相结合，显著增强了对优化活检参数的理解。该研究采用了通过迁移学习调整的 InceptionV3 模型，展示了一个用于高精度评估组织切片质量的强大框架。这种创新方法不仅提高了组织分析的准确性，而且革新了组织切片的操作方法。研究发现了切割角度与组织切片质量之间的明显相关性，提供了一种实用的方法来提高未来切片的质量。模型在各种组织类型（如鱼卵巢和肺组织）上的有效性，突显了其广泛的适应性和广泛应用的潜力。

然而，研究也指出了传统图像预处理技术的局限性。初步的预处理并没有显著提高性能，有时甚至模糊了准确分类所需的关键细节。这表明，保留原始图像数据可能比应用广泛的预处理更有利。

研究提出了通过扩展分类方法和性能优化来改进组织切片过程的改进。这包括结合更多的分类类别和线性分析方法，如线性判别分析（LDA），以精细化切割参数与样品质量之间关系的理解。未来的工作将专注于优化计算框架和并行处理，并检查额外的参数，如切割速度和进给速率，以提高模型的预测性和组织切片的质量。实施一个使用机器学习动态调整切割参数的实时反馈系统，有望推动组织学准备向全自动化发展，确保持续的高质量组织切片。

总的来说，这个项目不仅强调了深度学习在推进生物医学研究和应用中的关键作用，而且为组织切片技术的大幅改进奠定了基础。这些进步可能会显著提高组织样本处理的产量和效率，为未来组织切片技术的发展提供新的策略和方法，对生物医学产生持久的影响。

7 Project management, consideration of sustainability and health and safety

7.1 *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.

7.2 *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



Figure 7.1 Gantt chart

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.

7.3 *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] 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>.
- [9] Bhatt, D., Patel, C., Talsania, H., Patel, J., Vaghela, R., Pandya, S., Modi, K. and Ghayvat, H., 2021. CNN Variants for Computer Vision: History, Architecture, Application, Challenges and Future Scope. *Electronics*, 10(20), p.2470.
- [10] Montserrat, D.M., Lin, Q., Allebach, J. and Delp, E.J., 2017. Training Object Detection And Recognition CNN Models Using Data Augmentation. *Electronic Imaging*, 29(10), pp.27-27.
- [11] Anwar, S.M., Majid, M., Qayyum, A. et al., 2018. Medical Image Analysis using Convolutional Neural Networks: A Review. *Journal of Medical Systems*, 42, p.226. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10916-018-1088-1>.

- [12] Torrey, L. and Shavlik, J., 2010. Transfer Learning. In: E. Soria Olivas, J. Guerrero, M. Martinez-Sober, J. Magdalena-Benedito and A. Serrano López, ed., *Handbook of Research on Machine Learning Applications and Trends: Algorithms, Methods, and Techniques*, 1st ed. Hershey, PA: IGI Global, pp.242-264. Available at: <https://doi.org/10.4018/978-1-60566-766-9.ch011> [Accessed 30 April 2024].
- [13] Swati, Z.N.K., Zhao, Q., Kabir, M., Ali, F., Ali, Z., Ahmed, S. and Lu, J., 2019. Brain tumor classification for MR images using transfer learning and fine-tuning. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 75, pp.34-46. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.compmedimag.2019.05.001> [Accessed 30 April 2024].
- [14] Orenstein, E.C. and Beijbom, O., 2017. Transfer Learning and Deep Feature Extraction for Planktonic Image Data Sets. In: *2017 IEEE Winter Conference on Applications of Computer Vision (WACV)*, Santa Rosa, CA, USA, pp. 1082-1088. doi: 10.1109/WACV.2017.125.
- [15] Shah, M. and Pawar, M., 2018. Transfer Learning for Image Classification. In: *2018 Second International Conference on Electronics, Communication and Aerospace Technology (ICECA)*, Coimbatore, India, pp. 656-660. doi: 10.1109/ICECA.2018.8474802.
- [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] Shah, S.R., Qadri, S., Bibi, H., Shah, S.M.W., Sharif, M.I. and Marinello, F., 2023. Comparing Inception V3, VGG 16, VGG 19, CNN, and ResNet 50: A Case Study on Early Detection of a Rice Disease. *Agronomy*, 13(6), p.1633. Available at: <https://doi.org/10.3390/agronomy13061633> [Accessed 30 April 2024].
- [20] 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>
- [21] 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>

- [22] 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>.
- [23] 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>.
- [24] Bradski, G. and Kaehler, A., 2008. Learning OpenCV: Computer vision with the OpenCV library. O'Reilly Media, Inc.
- [25] 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>.
- [26] 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>.
- [27] 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>.
- [28] 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>.
- [29] 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>.
- [30] 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>.
- [31] Fua, P. & Lis, K., 2020. Comparing Python, Go, and C++ on the N-Queens Problem. Available at: <https://arxiv.org/abs/2001.02491>.
- [32] 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., Controzzoli, 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>.