

Od sklíčka po model

Kompletný postup: ako nasnímať histologický preparát tak, aby sa z neho dal natrénovať použiteľný model — a ako ho v littlEye AI natrénovať, overiť a vyexportovať kolegom.

Prečo na spôsobe snímania záleží viac než na počte snímok

Model sa učí to, čo mu ukážete. Ak sú snímky rozostrené, v inej mierke alebo s inak nastavenou bielou, model sa naučí práve tieto rozdiely — a nie tkanivo. Meranie na základnom modeli littlEye AI ukázalo, že zmena zväčšenia z 20× na 40× zrazí presnosť zo 78 % na 52 % a nekvalitná snímka z mobilu cez okulár až na 30 %. Hodina venovaná nastaveniu mikroskopu preto urobí viac než tisíc ďalších zlých snímok.

1 · Čím snímať

Postup funguje na všetkých troch úrovniach vybavenia. Líšia sa rýchlosťou a pohodlím, nie použiteľnosťou výsledku.

Vybavenie	Ako to funguje	Na čo si dať pozor
Mikroskop + mobil cez okulár	Adaptér za pár desiatok eur drží telefón nad okulárom. Na začiatok stačí.	Najväčšie riziko: automatika telefónu mení expozíciu aj farby medzi snímkami. Zamknite expozíciu aj vyváženie bielej. Nepoužívajte digitálny zoom.
Mikroskop + mikroskopová kamera	Kamera v C-mount adaptéri namiesto jedného okuláru, obraz ide priamo do počítača.	Toto je rozumné optimum. Kamera s 5–12 Mpx a 1× adaptérom pokryje pri objektíve 20× pole s dostatočným rozlíšením.
Slidescanner	Naskenuje celé sklíčko naraz do jedného veľkého súboru; z neho sa výrezy vyberajú v počítači.	Najrýchlejší a najkonzistentnejší spôsob — jedno sklíčko dá stovky výrezov. Investícia sa oplatí až pri desiatkach preparátov denne.

Argument pre vedenie pracoviska: mikroskopová kamera za približne tisíc eur umožní zbierať dáta hneď. Slidescanner (rádovo desaťtisíce eur) sa oplatí, keď sa ukáže, že sa materiál naozaj zbiera a modely sa naozaj používajú. Rozumné poradie je začať kamerou, ukázať výsledky, a až potom žiadať skener.

2 · Preparát

Model nedokáže napraviť, čo pokazil rez. Použiteľný preparát má:

- hrúbku 3–5 µm — hrubší rez prekrýva jadrá a stráca detail
- rovnomerné farbenie HE bez preexponovaného hematoxylínu; jadrá musia byť modrofialové a čitateľné, nie čierne
- bez záhybov, trhlín a bublín v hodnotenej oblasti
- čisté krycie sklo — prach a odtlačky sa na snímke prejavajú ako artefakty, ktoré sa model ochotne „naučí“

Ak zbierate materiál z viacerých pracovísk, počítajte s tým, že sa farbenie bude líšiť. To nie je chyba — naopak, práve táto rozmanitosť robí model odolným. Podmienka je, aby každá trieda mala materiál z viacerých zdrojov, nie aby jedna trieda pochádzala z jedného pracoviska a druhá z iného.

3 · Nastavenie mikroskopu — Köhlerovo osvetlenie

Trvá to dve minúty a je to jediná najväčšia zmena kvality, akú viete urobiť zadarmo. Nesprávne osvetlenie znižuje kontrast a rozlíšenie tak, že ani drahá kamera nepomôže.

1. Zaostríte preparát pri objektíve 10×.
2. Zatvorte poľnú clonu (dolná clona pri zdroji svetla) skoro úplne — v zornom poli sa objaví svetlý mnohouholník.
3. Zaostríte hranu mnohouholníka otáčaním výškou kondenzora, kým nie je ostrá.
4. Vycentrujte ho dvoma skrutkami kondenzora doprostred poľa.
5. Otvorte poľnú clonu práve tak, aby mnohouholník zmizol za okrajom poľa — nie viac.
6. Aperturnú clonu (na kondenzore) nastavte na zhruba 70–80 % otvorenia. Zatvorenie viac zvýši kontrast, ale zníži rozlíšenie a vytvorí falošné obrysy.
7. Pri každej zmene objektívu skontrolujte body 2–5 znova.

Kontrola

Pozadie mimo tkaniva má byť rovnomerne biele bez farebného nádychu a bez tmavších rohov. Ak sú rohy tmavšie, kondenzor nie je vycentrovaný alebo je poľná clona privretá.

4 · Voľba zväčšenia

Tabuľka je z merania na základnom modeli littlEye AI (19 tkanív, nezávislý test na 286 snímkach). Testovacie snímky sa upravovali tak, aby napodobnili iné podmienky:

Podmienky	Presnosť	Poznámka
objektív 20× (celkovo 200×), 480 px	78,3 %	mierka, na ktorej sa model učil
objektív 40× (celkovo 400×)	52,1 %	štruktúry sú dvakrát väčšie, než model očakáva
objektív 100× imerzia (celkovo 1000×)	10,8 %	pri 19 triedach je náhoda 5,3 % — hádanie
rozlíšenie 240 px	69,9 %	ešte použiteľné
rozlíšenie 160 px	59,4 %	hraničné
rozlíšenie 96 px	29,7 %	nepoužiteľné

Odporúčanie: objektív 20× (pri okuláre 10× je to celkové zväčšenie 200×) a výrez aspoň 480 px na kratšej strane. Pri tomto zväčšení je v poli vidieť aj usporiadanie tkaniva, aj bunkový detail — to je práve tá rovnováha, z ktorej sa model učí najlepšie.

Objektív 40× a imerzia majú svoje miesto pri hodnotení jadrových detailov okom, ale ako trénovací materiál pre model, ktorý sa učil na 20×, nefungujú. Ak chcete model pre 40×, natrénujte ho samostatne — miešať zväčšenia v jednom datasete je najistejší spôsob, ako pokaziť oboje.

5 · Mierka — zmerajte si ju raz a máte pokoj navždy

„Objektív 20×“ nehovorí nič presné o tom, koľko mikrometrov pokrýva jeden pixel — to závisí od kamery, adaptéra aj tubusového faktoru. Zmerať sa to však dá raz a potom to platí.

Postup s objektíovým mikrometrom

1. Položte na stolík objektívový mikrometer (sklíčko s vyleptanou stupnicou, zvyčajne 1 mm delený po 10 µm). Ak ho nemáte, ústav histológie ho takmer isto má.
2. Nasnímajte ho každým objektívom, ktorý budete používať — pri tom istom nastavení kamery a rozlíšenia, aké použijete na preparáty.
3. V ľubovoľnom prehliadači obrázkov odčítajte, koľko pixelov zaberá 100 µm.
4. Vydeľte: µm na pixel = 100 ÷ počet pixelov. Číslo si zapíšte k objektívu.

Ak 100 µm zaberá...	µm na pixel	Zorné pole výrezu 480 px	Hodnotenie
200 px	0,50	240 µm	ideál — zodpovedá základnému modelu littlEye AI
400 px	0,25	120 µm	detailnejšie; výrez 960 px zmenšíte na 480 px
100 px	1,00	480 µm	hrubšie; použiteľné, ale detail chýba
50 px	2,00	960 µm	prehľadová snímka — na tréning nevhodná

Mierka priamo v snímke

Keď poznáte µm na pixel, viete do snímky vložiť mierku — čiaru známej dĺžky. Väčšina programov k mikroskopovým kamerám to vie automaticky; ak nie, dá sa vložiť aj ručne v ľubovoľnom editore.

Dôležité: mierku vkladajte len do snímok pre publikáciu a výučbu

Do tréningových snímok mierku nevkladajte. Model by sa naučil rozpoznávať práve tú čiaru a text pri nej — a keďže sa mierka pri každom zväčšení líši, naučil by sa podľa nej hádať zväčšenie namiesto tkaniva. Je to rovnaká pasca ako popisky, šípky a krúžky vo snímke.

Postup, ktorý funguje: nasnímajte pole raz, uložte čistý súbor na tréning a kópiu s mierkou a popisom na prednášku.

6 · Snímanie

- Rozlíšenie: ukladajte aspoň 480 px na kratšej strane hodnoteného poľa; väčšie je lepšie, zmenšiť sa dá vždy, dorobiť detail nikdy.
- Formát: TIFF alebo PNG, ak môžete. JPEG stačí pri kvalite 90 % a vyššej — ale ukladajte ho len raz. Opakované ukladanie JPEG pridáva artefakty, ktoré sa hromadia.
- Vyváženie bielej nastavte raz na prázdnom mieste sklíčka a zamknite. Automatika medzi snímkami mení farby a model si to vysvetlí ako rozdiel tkaniva.
- Expozíciu zamknite tiež. Pozadie má byť svetlé, ale nie vypálené — v histograme nesmie byť špička úplne pri pravom okraji.
- Zaostrujte na jadrá, nie na krycie sklo ani na prach.
- Vypnite doostrovanie a redukciu šumu v kamere, ak sa dá. Obe menia textúru, z ktorej sa model učí.
- Nesnímajte digitálnym zoomom — zväčšuje pixely, nie detail.

7 · Koľko snímok a odkiaľ

Toto je časť, kde sa najčastejšie robí chyba, ktorá sa prejaví až na konci.

Pravidlo	Prečo
Aspoň 3 rôzne prípady na každú triedu, ideálne 5 a viac	Bez toho sa model naučí farbu a odtieň konkrétneho bloku. Reálne sa nám stalo, že pečeň natrénovaná z jedného prípadu klasifikovala červensiu pečeň z iného pracoviska ako obličku.
Aspoň 100 výrezov na triedu, lepšie 300	Pod sto snímkami sú metriky náhodné — model môže vyzerat' dobre len šťastím.
Rôzne miesta preparátu, nie desať snímok jedného poľa	Desať snímok toho istého miesta je pre model takmer jedna snímka.
Vyvážené triedy — podobný počet snímok na každú	Ak má jedna trieda desaťnásobok, model sa naučí, že sa oplatí hádať práve ju.
Snímky jedného pacienta patria buď do tréningu, alebo do testu — nikdy do oboch	Inak si model zapamätá individuálne znaky tkaniva a test ukáže nezaslúžene vysoké číslo. littlEye AI rozdeľuje náhodne, preto snímky jedného prípadu pridávajte naraz a pri vážnom hodnotení si testovací prípad odložte bokom.

8 · Úprava snímky — čo áno a čo nie

Áno: orezať na hodnotené pole (štvorec), otočiť o násobok 90°, zmenšiť na 480 px, previesť formát bez opakovanej kompresie.

Nie: filtre a „vylepšenia“, dodatočné doostrenie, zvýšenie kontrastu a sýtosti, odstránenie šumu, popisky, šípky, krúžky, mierka, vodoznaky, koláže z viacerých polí v jednom súbore.

Dôvod je vždy ten istý: model nerozlišuje medzi tkanivom a tým, čo ste do snímky pridali. Ak sú všetky snímky nádoru doostrené a všetky normálne nie, model sa naučí rozpoznávať doostrenie.

9 · Import a označenie v littlEye AI

1. Otvorte Prehľad a zvolte orgán, prípadne ho pridajte.
2. Tlačidlom Pridať snímky nainportujte súbory. Vyberte naraz všetky snímky jedného prípadu — jednoduchšie sa označujú.
3. Každý snímke priradte diagnózu z katalógu. Katalóg má vyše osemdesiat položiek s mikroskopickým popisom a kľúčovými znakmi; ak vašu diagnózu neobsahuje, pridajte vlastnú.
4. Vyplňte zväčšenie a farbenie. Model si tieto údaje ponesie so sebou a pri vyhodnocovaní podľa nich upozorní, ak snímka neseďí.
5. Do poznámky napíšte číslo prípadu alebo bloku. Neskôr podľa toho zistíte, koľko rôznych prípadov trieda naozaj obsahuje.

Ak máte dataset od kolegu, nainportujte ho na Prehľade tlačidlom Importovať dataset (.le3set). Snímky, ktoré už máte, sa nezduplikujú — každá si nesie vlastné stabilné ID.

10 · Tréning

V sekcii Tréning vyberte typ modelu a spustíte. Nastavenia znamenajú toto:

Nastavenie	Čo robí	Odporúčanie
Typ modelu	Tkanivový rozpoznáva orgán; diagnostický rozlišuje diagnózy v rámci jedného orgánu.	Začnite diagnostickým pre orgán, ktorý reálne hodnotíte.
Iterácie	Koľkokrát model prejde dáta.	25 je rozumný základ. Viac má zmysel až pri veľkom datasete a sledujte, či nerastie len tréningová presnosť.
Augmentácie	Umelo pridá otočené a preklopené kópie snímok.	Otočenie a preklopenie zapnite pri malom datasete. Pri viac než tisíc snímkach na triedu ich vypnite — skutočná rozmanitosť je lepšia.
Nezávislý test	Odloží 15 % snímok bokom; model ich pri učení nevidí.	Nikdy nevypínajte. Bez neho nemáte ako zistiť, či je model dobrý.

11 · Čítanie výsledkov

Po tréningu sa zobrazia tri čísla a konfúzna matica. Dôležité je len to tretie.

- Tréningová presnosť — ako dobre model zvládol to, čo videl. Vysoká je vždy; nič nehovorí.
- Validačná presnosť — priebežná kontrola počas učenia.
- Testovacia presnosť — na snímkach, ktoré model nikdy nevidel. Toto je jediné poctivé číslo.

Ako čítať konfúznu maticu

Riadok je skutočná diagnóza, stĺpec je odpoveď modelu. Čísla mimo uhlopriečky sú zámeny. Nezaujíma vás, koľko ich je — zaujíma vás ktoré triedy sa mýlia a s čím. Zámena, ktorá dáva histologický zmysel (nádorová stróma za hladkú svalovinu), sa opraví doplnením snímok. Zámena, ktorá zmysel nedáva, znamená, že v datasete je niečo zle označené — a to je nález, nie porucha.

Presnosť nad 95 % pri zmiešanom materiáli je dôvod na podozrenie, nie na radosť. Skoro vždy za ňou je jedna z pascí z kapitoly 7.

V sekcii Vyhodnotenie snímky si model hneď vyskúšajte na snímke, ktorá v datasete nebola. Ak sa výsledok nezhoduje s vaším posúdením, použite Naučiť z tejto snímky: priradíte správnu diagnózu, snímka sa uloží do datasetu a pri ďalšom tréningu ju model už bude poznať. Toto je učiaca slučka — model sa nedotrénuje, ale dataset rastie a každý ďalší model je lepší.

12 · Ako to vyzerá v skutočnosti — model hrubého čreva

Aby čísla nezostali abstraktné: takto dopadol model natrénovaný v littlEye AI z verejného datasetu NCT-CRC-HE-100K (Kather et al., licencia CC BY 4.0). Deväť tkanivových zložiek kolorektálneho karcinómu, HE, objektív 20×.

Parameter	Hodnota
tréninových snímok	6 300 (700 na každú z 9 tried)
testovacích snímok	7 180 — od 50 pacientov, ktorých model nikdy nevidel
nastavenie	25 iterácií, augmentácia otočenie + preklopenie
tréninová presnosť	94,9 %
testovacia presnosť	88,3 %
čas tréningu	necelá minúta na MacBooku s Apple Silicon

Úspešnosť po triedach

Trieda	Úspešnosť	Poznámka
Pozadie bez tkaniva	98,6 %	
Hlien	95,5 %	
Nekróza a detritus	94,4 %	
Lymfocytárny infiltrát	93,2 %	
Tukové tkanivo	91,4 %	
Normálna sliznica	91,2 %	
Hladká svalovina	83,3 %	
Adenokarcinóm	83,0 %	7,5 % zamenených za normálnu sliznicu
Nádorová stróma	44,9 %	46,6 % zamenených za hladkú svalovinu

Čo nám tá jediná slabá trieda hovorí

Nádorová stróma sa takmer v polovici prípadov zamenila za hladkú svalovinu. To nie je porucha — je to histologicky poctivá zámena. Obe tkanivá sú vretenobunkové a eozinofilné, a na poli širokom 112 µm ich bez okolitého kontextu spoľahlivo nerozlíši ani patológ. Rozhoduje usporiadanie do zväzkov a vzťah k okolitým žľazám — a to sa do takého malého výrezu nezmestí.

Presne takto sa má konfúzna matica čítať. Zámena, ktorá dáva histologický zmysel, hovorí o hraniciach metódy. Zámena, ktorá zmysel nedáva, hovorí o chybe v označení datasetu. Prvé sa rieši väčším zorným poľom, druhé opravou dát.

Pre porovnanie: rovnaká aplikácia natrénovala aj tkanivový model, ktorý rozoznáva 19 rôznych tkanív s testovacou presnosťou 80,6 %. Oba modely bežia na tom istom zariadení, bez pripojenia na internet, a natrénujú sa za minúty.

13 · Export a zdieľanie

1. V sekcii Modely a export nájdite model a stlačte Export .le3AI.
2. Súbor pomenujte tak, aby bolo jasné, čo obsahuje a koľká je to verzia — napríklad main.le3AI pre váš hlavný model, alebo littlEye-srdce-v2.le3AI pre konkrétny orgán.
3. Zapište pôvod — zdroj snímok, licenciu a dátum. Bez toho sa model po roku nedá poctivo posunúť ďalej.
4. Ak zdieľate aj snímky, vyexportujte dataset (.le3set). Kolega ho naimportuje, doplní vlastné preparáty a model pretrénuje — tak vzniká v2, v3 a spoločná znalosť odboru rastie.

Oba súbory sú šifrované a otvorí ich len littlEye AI. Model si so sebou nesie celý audit trail: autora, dátum, počty snímok, metriky, konfúznú maticu, farbenie aj zväčšenie. Ktokoľvek ho dostane, vidí, na čom stojí.

14 · Kontrolný zoznam

Pred tým, než pustíte tréning:

- Köhlerovo osvetlenie nastavené, pozadie rovnomerne biele
- objektív 20×, μm na pixel zmerané a zapísané
- vyváženie bielej a expozícia zamknuté
- výrezy aspoň 480 px, štvorcové, bez mierky a popiskov
- aspoň 3 rôzne prípady na každú triedu
- aspoň 100 výrezov na triedu, triedy približne vyvážené
- snímky z rôznych miest preparátu, nie z jedného poľa
- každá snímka má diagnózu, zväčšenie, farbenie a číslo prípadu
- nezávislý test zapnutý

Po tréningu:

- testovacia presnosť je pod 95 % (vyššia je podozrivá)
- konfúzna matica prezretá, zámeny dávajú histologický zmysel
- model vyskúšaný na snímke, ktorá v datasete nebola
- pôvod snímok a licencia zapísané

MUDr. Ján Šikuta, PhD. · forensika.eu@icloud.com · littlEye AI 2.2.3 · august 2026