



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**  

---

**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**  
Katedra přírodovědných oborů

**Kvantifikace neuromelaninu v substantia  
nigra v neuromelanin-senzitivní MRI  
snímcích**

**Neuromelanin quantification in the  
substantia nigra in neuromelanin-sensitive  
MRI scans**

Diplomová práce

Studijní program: Biomedicínská a klinická technika  
Studijní obor: Přístroje a metody pro biomedicínu  
  
Autor diplomové práce: Bc. Martin Lang  
Vedoucí diplomové práce: Mgr. Radim Krupička, Ph.D.

---

**Kladno 2019**



# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Lang** Jméno: **Martin** Osobní číslo: **474934**  
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**  
Garantující katedra: **Katedra přírodovědných oborů**  
Studijní program: **Biomedicínská a klinická technika**  
Studijní obor: **Přístroje a metody pro biomedicínu**

## II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

**Kvantifikace neuromelaninu v substantia nigra v neuromelanin-senzitivní MR snímcích**

Název diplomové práce anglicky:

**Neuromelanin in substantia nigra quantification from neuromelanin-sensitive MRI images**

Pokyny pro vypracování:

Cílem diplomové práce je vytvořit metodologii a systém pro určení množství neuromelaninu v substantia nigra. Kromě neuromelanin-senzitivní snímků mozku jsou k dispozici i MRI sekvence T1 a T2. Součástí práce bude určení oblasti zájmu, kde bude nutné snímky z různých modalit vzájemně registrovat a prostorově normalizovat. Hlavní jádro práce bude v následné segmentaci a kvantifikaci množství neuromelaninu. Pro zpracování snímků je preferováno využití Matlabu s knihovnou SPM12. Snímky pocházejí od pacientů s poruchou spánku, u kterých se předpokládá propuknutí Parkinsonovy nemoci. Úspěšná realizace práce přispěje k porozumění její patofyziologie a zlepšení včasné diagnostiky.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Xiangchuan Chen, Daniel E. Huddleston, Jason Langley, Sinyeob Ahn, Christopher J. Barnum, Stewart A. Factor, Allan I. Levey, Xiaoping Hu, Simultaneous imaging of locus coeruleus and substantia nigra with a quantitative neuromelanin MRI approach, Magnetic Resonance Imaging, ročník 32, číslo -, 2014
- [2] David Sulzer, Clifford Cassidy, Guillermo Horga, Un Jung Kang, Stanley Fahn, Luigi Casella, Gianni Pezzoli, Jason Langley, Xiaoping P. Hu, Fabio A. Zucca, Ioannis U. Isaias & Luigi Zecca, Neuromelanin detection by magnetic resonance imaging (MRI) and its promise as a biomarker for Parkinson's disease, Parkinson's Disease, ročník 4, číslo 11, 2018

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

**Mgr. Radim Krupička, Ph.D.**

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

**MUDr. Petr Dušek, Ph.D.**

Datum zadání diplomové práce: **19.02.2019**

Platnost zadání diplomové práce: **18.09.2020**

doc. Ing. Lenka Lhotská, CSc.  
podpis vedoucí(ho) katedry

prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.  
podpis děkana(ky)

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem „Kvantifikace neuromelaninu v substantia nigra v neuromelanin-senzitivní MRI snímcích“ vypracoval samostatně a použil k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně 15. 5. 2019

.....

Bc. Martin Lang

## **PODĚKOVÁNÍ**

Rád bych poděkoval vedoucímu práce Mgr. Radimu Krupičkovi, Ph.D. za možnost pracovat pod jeho vedením, čas, trpělivost, podnětné rady a připomínky během konzultací.

## **ABSTRAKT**

Neuromelanin je černý pigment nacházející se v mozku v substantia nigra pars compacta a locus coeruleus. Jeho ztráta má přímou souvislost se ztrátou nervových buněk v této části mozku. Vzhledem k fyzikálním vlastnostem neuromelaninu je magnetická rezonance (MRI) ideálním nástrojem pro monitorování množství neuromelaninu v mozku. To znamená, že neuromelanin může být použit jako indikátor pro Parkinsonovu chorobu a stavy jí předcházející. Získané obrazy z MRI musí být objektivně vyhodnoceny. Všechny dosud používané metody k vyhodnocení MRI dat byly prováděny na principu manuálního a subjektivního hodnocení snímků lékařem.

Tato diplomová práce si klade za cíl vyvinout nástroje a metody pro kvantifikaci neuromelaninu v neuromelanin-senzitivních MRI obrazech. Pomocí softwaru MATLAB s knihovnou SPM jsme vytvořili cestu, která postupně upravuje a zpracovává neuromelanin-senzitivní MRI snímky. Ve snímcích byly, po základních úpravách, vytvořeny oblasti zájmu, odpovídající anatomické poloze substantia nigra v mozku na základě anatomického atlasu. Následně byl stanoven práh intenzity signálu. Spojením anatomické informace a intenzity signálu jsme schopni segmentovat substantia nigra. Jako další metoda byla pro segmentaci substantia nigra použita neuronová síť U-Net. Následně byl vypočten objem charakterizující množství neuromelaninu v oblasti substantia nigra.

Pro ověření metody a předpokladů byla porovnána dostupná data od různých skupin pacientů. Střední objemy neuromelaninu se mezi skupinami pacientů při segmentaci za použití neuronové sítě liší přibližně o  $30 \text{ mm}^3$  (ANOVA:  $p = 0,001$ ). Pro segmentaci s použitím informací o anatomické poloze a intenzitě signálu se průměrné objemy liší o přibližně  $10 \text{ mm}^3$  (ANOVA:  $p = 0,041$ ).

Hlavním přínosem této diplomové práce je vytvoření objektivní metody kvantifikace a usnadnění procesu zpracování obrazu ve srovnání s manuálním přístupem. Je ideální pro zpracování mnoha sad snímků v jedné dávce.

### **Klíčová slova**

Neuromelanin, RBD, Kvantifikace, Neuronová síť, U-Net, Parkinsonova nemoc

## **ABSTRACT**

Neuromelanin is a black pigment located in the brain in substantia nigra pars compacta and locus coeruleus. Its loss is directly connected to the loss of nerve cells in this part of the brain. Due to the physical properties of neuromelanin, magnetic resonance imaging (MRI) is an ideal tool to monitor the amount of neuromelanin in the brain. This means that neuromelanin can be used as a biomarker for Parkinson's disease. Obtained images from MRI must be objectively evaluated. All the methods used to evaluate MRI data so far have been performed on the principle of manual and subjective evaluation of images by a physician.

This thesis aims to develop tools and methodology for the quantification of neuromelanin in neuromelanin-sensitive MRI images. Using the MATLAB software with the SPM library, we have created a pipeline that gradually adjusts and processes neuromelanin-sensitive MRI images. In the images, after the basic adjustments, areas of interest were created, corresponding to the anatomical position of substantia nigra in the brain based on anatomical atlas. Subsequently, the signal intensity threshold was determined. By linking the anatomical and signal intensity information, we were able to segment the substantia nigra. As another method, the neural network U-Net was used for segmentation of substantia nigra. Subsequently, the volume characterizing the amount of neuromelanin in the substantia nigra region was calculated.

To verify the method and assumptions, available data from various patient groups were correlated. Mean volumes of neuromelanin vary by approximately 30 mm<sup>3</sup> between patient groups using neural network for segmentation (ANOVA:  $p = 0.001$ ). For segmentation using anatomical and signal intensity information mean volumes vary by approximately 10 mm<sup>3</sup> (ANOVA:  $p = 0.041$ ).

The main benefit of this work is the objectivity of quantification and facilitation of the image processing process compared to the manual approach. It is ideal for processing many image sets in one batch.

### **Keywords**

Neuromelanin, RBD, Quantification, Neural network, U-Net, Parkinson's disease

# Obsah

Seznam symbolů a zkratk.....	9
<b>1 Úvod .....</b>	<b>10</b>
<b>2 Přehled současného stavu.....</b>	<b>12</b>
2.1 Parkinsonova nemoc .....	12
2.1.1 Příčiny.....	12
2.1.2 Porucha chování v REM spánku .....	13
2.1.3 Substantia nigra a neuromelanin .....	14
2.2 Zobrazovací metody a zpracování dat.....	15
2.2.1 MRI a zobrazení neuromelaninu .....	15
2.2.2 Nástroje pro zpracování snímků.....	16
2.2.3 Detekce neuromelaninu .....	16
2.3 Metody segmentace obrazu .....	17
2.3.1 Segmentace obrazu magnetické rezonance .....	17
2.3.2 Neuronové sítě.....	19
2.3.3 Princip fungování neuronové sítě.....	19
2.3.4 Hluboké učení.....	20
2.3.5 Konvoluční neuronové sítě.....	20
2.3.6 Učení neuronové sítě .....	21
2.3.7 Neuronová síť U-Net.....	22
2.3.8 Architektura U-Net.....	23
<b>3 Cíle práce.....</b>	<b>25</b>
<b>4 Metody .....</b>	<b>26</b>
4.1 Proces zpracování obrazových dat .....	27
4.1.1 Úprava primárních obrazových dat .....	29
4.1.2 Předzpracování snímků .....	29
4.1.3 Lokalizace substantia nigra v NM-MRI snímcích.....	31
4.1.4 Ruční výběr odpovídajících řezů SN.....	32
4.1.5 Stanovení prahu signálu pozadí.....	33
4.1.6 Oprava oblasti zájmu SN.....	34
4.2 Kvantifikace množství neuromelaninu v SN .....	36

4.3	Aplikace neuronové sítě U-net .....	37
4.3.1	Příprava obrazových dat .....	37
4.3.2	Nastavení parametrů neuronové sítě .....	37
4.3.3	Učení neuronové sítě .....	38
4.3.4	Aplikace neuronové sítě na obrazová data .....	40
4.4	Statistické zpracování dat .....	41
<b>5</b>	<b>Výsledky.....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>Diskuse .....</b>	<b>47</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>54</b>
	<b>Seznam použité literatury .....</b>	<b>55</b>
	<b>Příloha A: Obsah přiloženého DVD .....</b>	<b>60</b>



# Seznam symbolů a zkratek

## Seznam symbolů

Symbol	Jednotka	Význam
T	Tesla	Jednotka magnetické indukce

## Seznam zkratek

Zkratka	Význam
SN	Substantia nigra
PD	Parkinsonova nemoc
RBD	Rapid eye movement sleep behavior disorder
EEG	Elektroencefalografie
NM	Neuromelanin
LC	Locus coeruleus
SPECT	Single-Photon Emission Computed Tomography
PET	Pozitronová emisní tomografie
MRI	Magnetická rezonance
NM-MRI	Neuromelanin-senzitivní MRI
fMRI	Funkční magnetická rezonance
ROI	Region of interest
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine
qMT	Quantitative magnetization transfer
PSR	Pool size ratio

# 1 Úvod

Parkinsonova nemoc je druhým nejčastěji se vyskytujícím neurodegenerativním onemocněním v populaci. Typicky se projevuje v druhé polovině života jedince a v současné době na ni neexistuje účinná léčba. Lze pouze mírnit její příznaky. Proto je mimo hledání možné léčby vyvíjeno značné úsilí také na včasnou diagnostiku tohoto onemocnění. Jedním z indikátorů této nemoci je dle výsledků přechozích výzkumů neuromelanin.

Jedná se o černý pigment vyskytující se nejhojněji v mozku v oblastech substantia nigra a locus coeruleus. Během života jeho množství postupně narůstá, až v okolí šedesátého roku života jedince začne množství neuromelaninu stagnovat, popřípadě klesat. Právě neurony obsahující neuromelanin jsou náchylnější k oxidačnímu stresu, podléhají neurodegeneraci a způsobují tak Parkinsonovu nemoc. Mozek vlivem smrti těchto buněk přichází o část buněk produkujících dopamin. V důsledku snížení množství dopaminu v mozku se začnou projevovat typické příznaky Parkinsonovy nemoci a parkinsonských syndromů jako je třes, svalová ztuhlost, křeče a problémy se spánkem.

Rozvoj zobrazovacích metod v posledních dekáдах dnes umožňuje zobrazení neuromelaninu v mozku in vivo. Zlatým standardem je v této disciplíně modifikovaná T1 vážená sekvence magnetické rezonance. Ačkoli zobrazení již nepředstavuje problém, získané snímky jsou stále vyhodnocovány manuálně, pohledem lékaře. Záleží tak na jeho schopnostech a zkušenostech, jak rychle a přesně je schopen množství neuromelaninu v mozku posoudit. Vzniká tak poptávka po usnadnění a objektivizování tohoto hodnotícího procesu.

Tato diplomová práce má za cíl doposud manuálně prováděný hodnotící proces usnadnit a předložit metodiku, která bude schopna kvantifikovat množství neuromelaninu v substantia nigra. Základním krokem v celém procesu je úspěšné vymezení (segmentace) anatomických struktur, které neuromelanin obsahují. Vzhledem k anatomickým poměrům v této části mozku je volena segmentace substantia nigra, neboť locus coeruleus je i při vysokém rozlišení snímků z magnetické rezonance strukturou nevhodnou k segmentaci a určování množství neuromelaninu. Úbytek množství neuromelaninu je však v locus coeruleus odpovídající úbytku v substantia nigra. Pro co nejpřesnější segmentaci byl pro zpracování snímků využit anatomický atlas spolu s prahovou hodnotou signálu neuromelaninu vůči pozadí. Následně byla jako alternativní cesta na segmentaci dat využita také neuronová síť.

V první části práce je krátce představena Parkinsonova nemoc, zobrazovací a hodnotící metody využívané v současné době včetně neuronových sítí jako nejmodernějším nástrojem pro segmentaci obrazu. V další části práce jsou popsány cíle

práce a podrobně rozvedena námi použitá metodika zpracování snímků. Postupně je celý proces zpracování snímků krok za krokem popsán. Od získaných klinických dat, přes prováděnou segmentaci, až po samotnou kvantifikaci množství neuromelaninu v substantia nigra. Následují výsledky provedené segmentace a kvantifikace, které jsou posléze spolu s námi vytvořeným postupem zpracování snímků podrobené diskusi. Celou práci ukončuje závěr.

## 2 Přehled současného stavu

V této kapitole je krátce představena Parkinsonova nemoc včetně příčin jejího vzniku a rizikových faktorů spolu s poruchou REM spánku, která může této nemoci předcházet, a neuromelaninu jako možného indikátoru tohoto onemocnění. Následně jsou popsány využívané zobrazovací metody a nástroje používané v předchozích studiích pro zpracování snímků a detekci neuromelaninu. V další části jsou stručně přiblíženy metody využívané v biomedicínských aplikacích pro segmentaci obrazu s podrobnějším zaměřením na neuronové sítě a hluboké učení. V závěru je nastíněno fungování neuronové sítě U-Net.

### 2.1 Parkinsonova nemoc

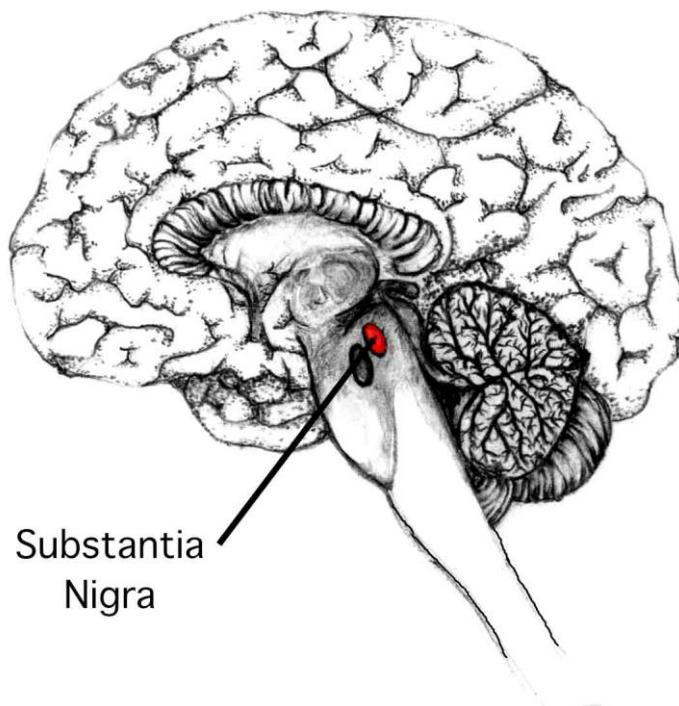
Parkinsonova nemoc je druhým nejčastějším neurodegenerativním onemocněním, projevujícím se typicky v období po šedesátém roku života. Je definována jako neurodegenerativní porucha způsobená selektivní smrtí neuronů v substantia nigra (SN) obsahujících černý pigment neuromelanin. Nákres anatomické lokalizace SN přibližuje obrázek 2.1. Takto nabarvené neurony jsou zranitelnější než neurony bez pigmentace. V důsledku smrti neuronů dochází k vyčerpání dopaminu v corpus striatum. V současné době pro tuto nemoc neexistuje žádná léčba, lze pouze zmírňovat její příznaky. Toto onemocnění postihuje především oblast mozku zodpovědnou za kontrolu pohybů. Typickým projevem Parkinsonovy nemoci je třes, svalová ztuhlost a celkově zhoršená pohyblivost. Mezi další, méně specifické příznaky, patří zácpa, podrážděnost, poruchy spánku a únava. [1] [2] [3]

#### 2.1.1 Příčiny

Přesná příčina vzniku Parkinsonovy nemoci (PD) nebyla prozatím jednoznačně identifikována. Jedná se s největší pravděpodobností o kombinaci vzájemného působení životního prostředí a genetické dispozice, která způsobuje specifické buněčné procesy. Parkinsonova nemoc má prevalenci přibližně 10–18/100000 obyvatel za rok. Dle statistik jsou více ohroženi muži než ženy (3:2). Z rasového hlediska je vznik nemoci častější u hispánského obyvatelstva než u bělochů, Asiatů nebo černochů (USA). [4]

Největším rizikovým faktorem je věk pacienta. Incidence a prevalence roste s věkem téměř exponenciálně a vrcholu dosahuje přibližně v oblasti osmdesátého roku života. Tento jev bude mít zásadní vliv, neboť populace obecně stárne a pacientů s tímto onemocněním tedy bude v budoucnu značně přibývat. Další rizikové faktory jsou především dány životním prostředím a stylem života. Patří mezi ně například pesticidy, předchozí zranění hlavy, život na venkově, užívání  $\beta$ -blokátorů, kouření, pití kávy, užívání nesteroidních protizánětlivých léků, pití alkoholu. [4]

Genetické faktory vzniku Parkinsonovy nemoci jsou přisuzovány především zvýšenému riziku onemocnění v případě historického výskytu v rodině. Byly však objeveny některé mutace genů, kódujících specifické proteiny, které mohou pravděpodobně přispívat k vzniku tohoto onemocnění. Jedná se například o gen *SNCA*, který je zodpovědný za kódování proteinu  $\alpha$ -synuclein. Dalším genetickým faktorem pro vznik Parkinsonovy nemoci (PD) je mutace genu *GBA*, který kóduje  $\beta$ -glukocerebrosidázu, enzym, který štěpí vazbu mezi tukem a sacharidem (cerebrosid). Jeho nedostatek je nazýván Gaucherovou chorobou. [4]



**Obrázek 2.1:** Lokalizace SN v mozku. Zdroj: [5]

### 2.1.2 Porucha chování v REM spánku

Porucha chování v REM spánku (RBD – REM sleep behavior disorder) je typická ztrátou svalové ochablosti, která je hlavní charakteristikou této fáze spánku. Druhým typickým projevem je abnormální chování během spánku, které je často násilné povahy (kopání, rozhazování rukama) a může vést až k zranění pacienta. [6] [7]

Tato spánková porucha patří mezi nepohybové příznaky Parkinsonovy nemoci (PD) a v mnoha případech předchází vzniku neurodegenerativních onemocnění, jako je právě PD nebo demence. Časový interval mezi nástupem RBD a pohyb ovlivňující fází PD může být až 12–14 let. Topografické rozmístění změn pozorovaných při EEG vyšetření u pacientů s RBD odpovídá změnám pozorovaným u pacientů s demencí, spojenou s PD. Rovněž je pozorován úbytek některých kognitivních funkcí u pacientů

s diagnostikovanou RBD, který svým charakterem opět odpovídá pacientům s demencí. [4] [8]

Dlouhodobé studie ukázaly, že se po 16 letech vyvinula u 81 % pacientů s RBD buď PD nebo demence. Další dvě dlouhodobé studie vyhodnocené po 4 letech zjistily, že 48 % pacientů s potvrzenou PD s RBD dospělo do stádia demence. U skupiny, která neměla přítomnu RBD, dospělo do stádia demence 0 % pacientů. V jiné studii PD s vyhodnocením po 1,8 roce byla demence zjištěna u 32,1 % pacientů s RBD a u 8,7 % pacientů bez RBD. [9]

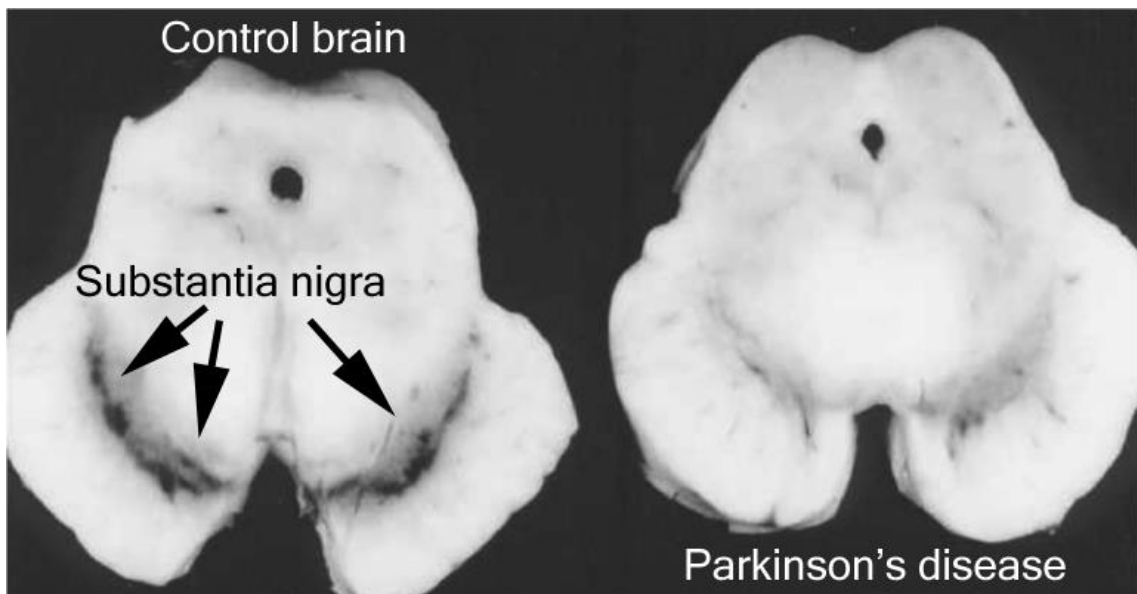
Jak je patrné z výše uvedených dat, RBD často předchází vzniku samotné PD. Časový rozsah nástupu RBD je variabilní. V současné době převládá názor, že patogenní proces způsobující PD probíhá právě ve fázi, kdy je již přítomna RBD. Správná a včasná diagnostika nástupu RBD a sledování jejího průběhu může přispět k včasnému zahájení léčby PD v momentě, kdy tato léčba bude dostupná. [4]

### 2.1.3 Substantia nigra a neuromelanin

Substantia nigra (SN) je malá oblast mozku, součást bazálních ganglií, uložena v mesencephalonu (středním mozku). Skládá se z části *pars compacta* a *pars reticularis*. Část *pars compacta* je napojena na nukleus kaudatus a putamen. Tato část je tvořena dopaminergními neurony. Část *pars reticularis* slouží pro přenos signálu z bazálních ganglií do dalších struktur mozku. SN je v mozku z funkčního hlediska součástí procesů, které regulují pohybové funkce, vnímání a odměňování. [3] [10] [11]

Neuromelanin (NM) je druhem melaninu nacházejícím se především v katecholaminergních neuronech. Skládá se z eumelaninu a pheomelaninu. Jedná se o černý pigment, který se během života člověka hromadí specificky ve dvou částech mozku – substantia nigra (SN) a locus coeruleus (LC). [3] [10] [12]

Chemicko-patologické studie mozku prokázaly, že NM má stejné vlastnosti jako melanin. Zabarvení těchto dvou oblastí mozku se s rostoucím věkem jedince postupně zvyšuje až do přibližně šedesátého roku života. Ztráta neuromelaninu a s tím spojená depigmentace SN *pars compacta* je známka Parkinsonovy choroby. NM aktivuje signály vedoucí k apoptóze, čímž jsou buňky s vyšším množstvím akumulovaného NM zranitelnější a náchylnější k degeneraci. Patologické snímky porovnávající oblast středního mozku zdravého jedince s jedincem trpícím PD jsou na obrázku 2.2. [2] [12]



**Obrázek 2.2:** Patologický snímek oblasti středního mozku u zdravého pacienta (vlevo) a pacienta postiženého PD (vpravo). Zdroj: [5]

## 2.2 Zobrazovací metody a zpracování dat

Role zobrazovacích metod při diagnostice PD a s ní spojených onemocnění není v současné době jasně specifikována. Zobrazovací metody jsou především zaměřeny na rozlišení mezi PD a jiným neurodegenerativním onemocněním. Standardně se využívá jednofotonová emisní výpočetní tomografie (SPECT), pozitronová emisní tomografie (PET) a magnetická rezonance (MRI). První dvě jmenované modalitty svým charakterem umožňují zobrazit metabolické a neurochemické změny v mozku. K tomuto účelu se využívá celá řada radiofarmak. MRI pak dokáže různou úpravou a kombinací snímacích sekvencí zobrazit především strukturu sledované oblasti v mozku a také částečně její funkci. [13]

### 2.2.1 MRI a zobrazení neuromelaninu

Pro včasné zachycení možné nastupující PD se v praxi využívá nejčastěji zobrazovací vyšetření pomocí neuromelanin-senzitivní MRI (NM-MRI). Neuromelanin obsahuje chelát železa, vykazuje magnetické vlastnosti, a proto je pro magnetickou rezonanci dobře zobrazitelný. Modifikovaná T1 vážená sekvence vykazuje vysokou intenzitu signálu v místech, kde je přítomný neuromelanin. [14]

Neuromelanin-senzitivní MRI dokáže detekovat rozdílné intenzity signálu v SN a LC i u pacientů v brzkém stádiu PD. Tyto změny intenzit odpovídají změně koncentrace NM, a tudíž úbytku neuronů v SN. Konvenční MRI není schopna jasně zachytit brzká stadia nemoci. V provedené studii byly změny zaznamenány pouze u 40 % pacientů. Při využití NM-MRI bylo dosaženo značně vyšší přesnosti. [15]

Další oblastí, ve které se využívá zobrazení pomocí MRI, je zobrazování mozkové aktivity – funkční MRI (fMRI). Měří se změna „blood oxygen level dependent (BOLD)“ signálu pomocí T2 vážené sekvence. Tato měření změny funkčního propojení v dané mozkové oblasti mohou odhalit počínající změny ještě před nástupem strukturálních změn, v některých případech i desetiletí před projevem prvních klinických příznaků onemocnění. Tato metoda je v současné době stále zájmem výzkumu. Některé provedené studie však již nyní přinášejí velmi slibné výsledky při odlišení pacientů s PD a zdravých kontrol. [14]

V klinické praxi se při zobrazování struktur pomocí magnetické rezonance setkáme s přístroji různých výrobců a různých sil magnetického pole. Obecně lze říci, že v dnešní době patří mezi nejrozšířenější přístroje s magnetickým polem o síle 3T. Tyto přístroje jsou pro běžné klinické zobrazování naprosto dostačující a jsou považovány za zlatý standard. V některých klinických studiích byl využit i přístroj o síle 7T. [14]

### **2.2.2 Nástroje pro zpracování snímků**

Problematikou zpracování NM-senzitivních MRI snímků se v poslední době zabývalo několik týmů. Jejich přístupy a metody se navzájem lišily a každý výzkumný tým volil odlišnou metodiku využívající jiné nástroje. Jednalo se především o volně šiřitelné programy umožňující práci s klinickými snímky z MRI (3D slicer software, Jim 3.0 Software, Elastix). V některých případech muselo být pro jednotlivé kroky procesu použito různých programů. [16] [17] [18]

Velmi vhodným nástrojem pro zpracování snímků se jeví program MATLAB. Jedná se o programovací nástroj pro vědecké výpočty, vývoj algoritmů, analýzu dat a mnoho dalšího. Jeho hlavní datovou strukturou jsou matice. [19] Pro možnost zpracování klinických dat z MRI bylo v roce 2014 představeno rozšíření tohoto programu v podobě volně dostupné knihovny SPM12. Tato knihovna umožňuje nahrání, úpravu a převedení klinických dat do formátu, se kterým lze následně pohodlně pracovat v prostředí programu MATLAB. [20]

### **2.2.3 Detekce neuromelaninu**

Stejně tak jako v případě zpracování snímků, i pro detekci neuromelaninu existuje více přístupů. Zásadní princip zůstává však stejný. Na podkladě klinických snímků, které mohou být různě upraveny, určit jednu nebo více veličin charakterizujících množství neuromelaninu ve zkoumané oblasti. Takovou veličinou byl nejčastěji objem NM v SN.

Nejčastějším přístupem byl výběr omezeného množství řezů mozkem z oblasti SN, na kterých byla zachycena zvýšená intenzita signálu neuromelaninu. Jednalo se o dva až čtyři řezy, podle tloušťky řezu, kterou si konkrétní výzkumná skupina zvolila. Na těchto určených řezech byl následně prováděn veškerý další postup. Nejprve byly snímky vyříznuty pouze na oblast SN. V dalším kroku byla většinou ručně určena malá oblast



ležící mimo oblast SN na daném snímku. Tato oblast byla brána jako reference odpovídající síle signálu pozadí. Podle intenzity signálu pozadí byla následně stanovena prahová hodnota a do dalších výpočtů byly zahrnuty pouze oblasti odpovídající SN vykazující intenzitu signálu vyšší než prahová hodnota. [16] [17] [21]

Pouze v jednom případě [18] nebyla oblast SN určena zcela ručně, ale za pomoci anatomického atlasu sestaveného z MRI snímků mozku 13 zdravých pacientů. Následný postup určení množství NM se od předchozích studií nelišil. Opět se jednalo o stanovení prahu signálu pozadí a na jeho základě odvození objemu NM.

## **2.3 Metody segmentace obrazu**

V první části následující podkapitoly je stručně nastíněn přehled metod segmentace obrazu využívaných při zpracování biomedicínských obrazů s důrazem na obrazy magnetické rezonance. Metody jsou řazeny dle sofistikovanosti od nejjednodušších manuálních segmentací až po konvoluční neuronové sítě. Na konvoluční neuronové sítě je zaměřena druhá část této kapitoly. V závěru je rovněž představen princip a architektura neuronové sítě U-Net.

### **2.3.1 Segmentace obrazu magnetické rezonance**

Hlavním cílem při segmentaci obrazu v biomedicínské aplikaci je přiřadit pixelům nebo voxelům, které mají stejný biologický význam nebo jsou součástí určité anatomické oblasti, jednu značku, sdružit je do jedné oblasti. Pro segmentaci obrazu se využívá mnoho metod. Základem je ruční segmentace a segmentace založená na prahování. Tyto dvě metody jsou vzhledem ke své povaze zatíženy poměrně velkou chybovostí a především subjektivitou. [22] V současnosti je proto snaha nahradit je jinými metodami, jako je například segmentace založená na detekci hran, regionálních metodách, shlukování nebo řezech grafem. Historicky se segmentace MRI snímků opírala pouze o intenzitu signálu obrazu. Tento přístup se však brzy ukázal jako nedostačující, neboť rozdílné struktury mohou mít ve snímcích velmi podobný signál a rovněž anatomické oddělení struktur je často nejasně viditelné a nerozpoznatelné pouze na základě intenzity signálu. [23]

Prahování obrazu je snadno použitelnou metodou segmentace. Šedotónový obraz je převeden na binární pomocí stanovení prahu. Všechny pixely s hodnotou pod tímto prahem jsou brány jako pozadí a je jim tak přiřazena hodnota 0. Pixely s hodnotou vyšší, než je stanovený práh, jsou brány jako předmět a je jim přiřazena hodnota 1. Prahování může být fixní, adaptivní nebo iterativní. Hlavní nevýhodou této metody je absence prostorové informace, která je pro biomedicínské aplikace zásadní. Prahování se proto ve většině případů nepoužívá samostatně, ale jako součást nebo doplněk dalších metod. [22]

Jednou ze základních metod využívaných pro segmentaci biomedicínských obrazů je segmentace na základě atlasu. Atlas je definován jako kombinace dvou obrazů: obraz intenzity (šablona) a segmentovaný obraz. Existují v zásadě dva typy atlasů. Topologický atlas se skládá z pevně určených oblastí, kterým jsou jasně přiřazeny značky. Takový atlas vychází často pouze ze snímků jednoho jedince a segmentace oblastí je prováděna manuálně. Pravděpodobnostní atlas naproti tomu spojuje mnoho topologických atlasů, převádí je do jednoho společného prostoru a na základě většího množství dat následně přiřazuje každému voxelu určitou pravděpodobnost, s jakou patří do dané struktury. [23]

Další metodou je šíření značek. Jedná se o nejpřímochařejší cestu automatické segmentace obrazu na základě známých dat, jako jsou například oblasti definované tkáňovým atlasem. Principem je převod nebo deformace prostoru atlasu do stejného prostoru jako je námi segmentovaný obraz. Touto transformací získáme deformační mapu (matici), na jejímž základě můžeme příslušně upravit také značky v atlasu a získat tak snadno segmentovaný obraz. Pro registraci dvou obrazů se jako nejslibnější jeví metoda kombinující geometrii a intenzitu obou obrazů. [23]

Inovativnější přístup oproti předchozím metodám je zvolen u více atlasové segmentace. Namísto použití jen jednoho atlasu, který nemusí odpovídat přesně námi segmentovanému obrazu, je využito více atlasů a každý atlas je zvlášť převáděn do prostoru námi segmentovaného obrazu, stejně jako ve výše popsaném přístupu. Po převedení všech dostupných atlasů jsou získané značky z jednotlivých atlasů sloučeny a společně vytvoří výslednou segmentaci obrazu. Výhodou této metody je lepší přizpůsobivost jednotlivým anatomickým odlišnostem pacientů a přesnější segmentace díky použití většího množství atlasů. [24]

Metody založené na učení jsou v současné době v popředí zájmu. Cílem těchto metod je předpovědět segmentaci na základě vložených vlastností. Lze je dělit na metody diskriminační a generativní. Diskriminační modely poskytují pouze model proměnných daných vstupními daty. Snaží se pro konkrétní voxel přímo odhadnout a přiřadit značku na základě jeho okolí. K tomu jsou z obrazu získány části bohaté na informace a použijí se k učení (trénování) modelu pomocí algoritmu. Generativní modely naproti tomu vytvářejí pravděpodobnostní model pro všechny proměnné v obraze. Snaží se odvodit nejpravděpodobnější segmentaci obrazu. Pracuje se zde například s Bayesovskou statistikou, která vychází z podmíněných pravděpodobností a na základě přísunu dalších relevantních skutečností zpřesňuje segmentaci obrazu. V reálných aplikacích se jedná například o využívání pravděpodobnostních tkáňových atlasů. [23]

Mezi další metody patří deformační metody. Do obrazu je ručně nebo automaticky umístěn obrys struktury, který je následně iterativně deformován a vznikají tak nové obrysy. Existuje více deformačních modelů, které se vzájemně liší silami působícími na obrys objektu. Poslední z hojněji využívaných je metoda založená na segmentaci oblastí.

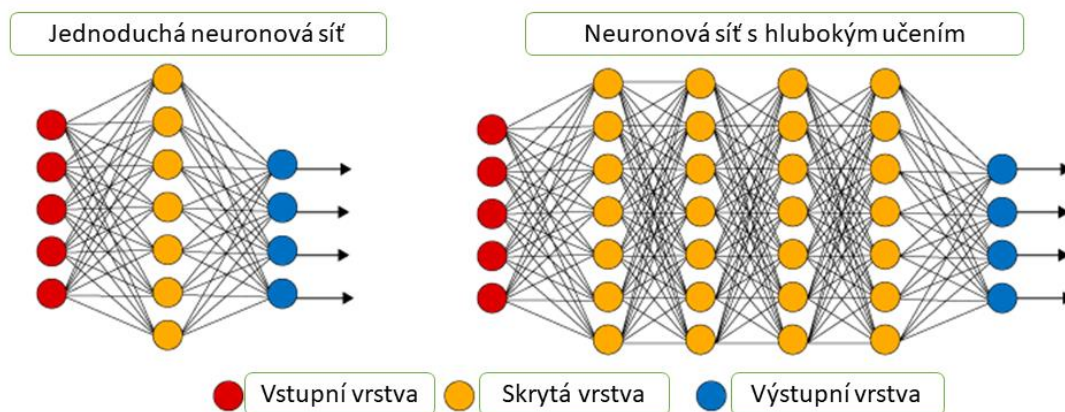
Tato metoda je založená na podobnosti vlastností voxelů patřících do stejné oblasti. Nejpoužívanější je technika rostoucí oblasti. [23]

### 2.3.2 Neuronové sítě

Obecná uměle vytvořená neuronová síť se skládá z mnoha jednoduchých, vzájemně propojených jednotek – umělých neuronů, inspirovaných neurony biologickými. Každý z těchto neuronů produkuje na základě vstupního signálu signál výstupní, který následně slouží jako vstup pro jeden nebo více dalších neuronů. Vstupní neurony jsou aktivovány signálem přicházejícím od senzorů, ostatní na základě vzájemných spojů mezi neurony o různé váze. Některé neurony pak mohou ovlivnit prostředí tím, že vyvolají určitou akci. Proces učení spočívá v tom nastavit váhy propojení mezi jednotlivými neurony tak, aby na příslušný signál vstupu vytvářely příslušnou odezvu výstupního signálu. V závislosti na složitosti problému a množství dat může být neuronová síť různě rozsáhlá a učení může trvat různě dlouhou dobu. [25] [26]

### 2.3.3 Princip fungování neuronové sítě

Neuronovou síť lze popsat jako konečný soubor jednotek (neuronů) a konečný počet spojů mezi nimi. Tyto neurony a jejich spoje jsou organizovány do jednotlivých vrstev neuronové sítě (skryté vrstvy). Základní schéma porovnávající jednoduchou neuronovou síť a neuronovou síť s hlubokým učením přibližuje obrázek 2.3. Chování neuronové sítě je určeno sadou reálných čísel – vah, které jsou přiřazeny jednotlivým spojům mezi neurony. Během jednoho období (*epochy*) zpracování informace se neuronovou sítí šíří částečně kauzální sekvence reálných hodnot – událostí. Každá tato událost je buď způsobena vnějším prostředím nebo se jedná o událost pocházející z jiného neuronu v rámci sítě, jejíž hodnota je nižší než hodnota původní události vstupující z vnějšku. Následně je zde funkce, která kóduje topologické informace a indexům událostí přiřazuje určitou váhu. [26]



**Obrázek 2.3:** Schématické porovnání jednoduché neuronové sítě (vlevo) a neuronové sítě s hlubokým učením (vpravo). Zdroj: [27]

Události, které nejsou způsobené vnějším vstupem, ale aktivací neuronu v rámci sítě, mají povahu funkce založené na násobení nebo součtu příslušného signálu a váhy, která je přiřazena spojení mezi neurony. Tuto funkci nazýváme aktivační funkcí a má zpravidla nelineární charakter (hyperbolický tangens). Existují také události na principu maxima aktivační funkce nebo komplexních polynomiálních aktivačních funkcí. V rámci jedné epochy může být v neuronové síti jedna váha použita opakovaně na různých místech. Toho je využíváno například v konvolučních neuronových sítích. Takovéto opakování vah může značně snížit složitost konvoluční neuronové sítě. [26]

### **2.3.4 Hluboké učení**

Cílem počítačového učení je vytvořit takový model, který po příslušném natrénování a dodání vstupních dat provede s daty požadovanou operaci. Algoritmus učení je laděn na tréninkových souborech dat. Hlavní vlastností modelu by měla být schopnost zobecnit naučené dovednosti a následně je aplikovat na předložená neznámá data. Způsobů učení je několik. Prvním z nich je posilované učení, které funguje na principu pokusu a omylu a postupně optimalizuje danou funkci. Dalším způsobem je učení bez učitele. V tomto případě model sám odhaluje vzorce v obrazu bez našeho zásahu. Jako příklad tohoto učení lze uvést shlukování. Většina dnešních systémů je založena na principu učení s učitelem. Zde je modelu předložena sada označených dat jako vzor a jeho úkolem je vytvořit na neznámých datech značky dle předloženého vzoru. [28]

Během hlubokého učení se model učí užitečné vlastnosti a reprezentace automaticky, přímo z předložených dat. Odpadá tak krok manuální charakterizace důležitých vlastností v datech. Nejběžněji používané jsou různé modely neuronových sítí. Hlavní charakteristikou hlubokého učení je zaměření se na učení příznaků, tedy automatické reprezentace dat. Odhalování příznaků a provádění zadaného úkolu je tak sdruženo do jedné operace. Obě tyto schopnosti jsou posléze rozvíjeny současně během učení. Hlavní oblastí zájmu ve zpracování biomedicínských dat jsou v současné době konvoluční neuronové sítě. [28]

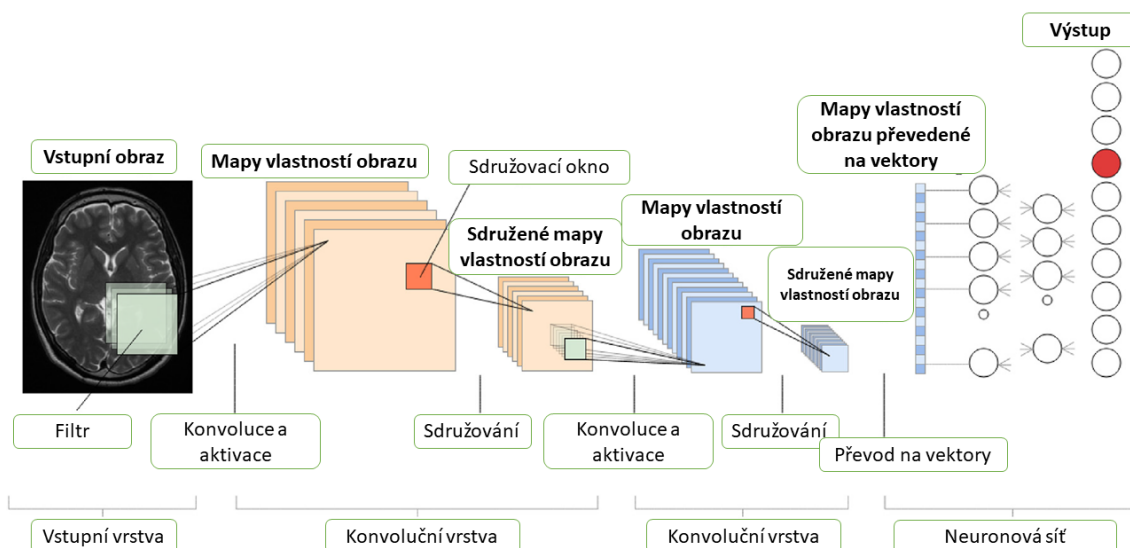
### **2.3.5 Konvoluční neuronové sítě**

Konvoluční neuronové sítě využívají posunu konvolučního jádra (obvykle obdélník) s příslušnou vahou postupně krok za krokem po dvourozměrném vstupním poli hodnot, jako jsou pixely v obrázku. Vzniklé 2D pole posloupných aktivačních událostí této konvoluční jednotky následně slouží jako vstupy pro konvoluční jednotky vyšší úrovně. Díky velké replikaci hodnot vah je pro popis chování takové konvoluční vrstvy dostačující relativně málo parametrů. Podvzorkované vrstvy jsou složeny z jednotek, které mají pevně dané váhy spojů. Tyto váhy jsou odvozeny od fyzických sousedů z nižších konvolučních vrstev. Podvzorkovaná jednotka se aktivuje, pokud je aktivován alespoň jeden z jejích vstupů. Jejich reakce jsou necitlivé na malé posuny obrazu. Váhy (a potažmo učení neuronové sítě) jsou v současnosti nejčastěji stanovovány a upravovány

pomocí zpětného šíření. Pro podvzorkování je nejčastěji užívaná metoda *max-pooling* (sdužování). Sdužování je technikou v neuronové síti, která vrstvu 2D aktivačních jednotek rozdělí na menší obdélníková pole. Každá jednotka je v podvzorkované vrstvě v případě techniky využívající maximum nahrazena nejvyšší hodnotou svého pole (obrázek 2.4). Mimo nahrazení maximální hodnotou se může použít také průměr nebo suma. Schéma základních konstrukčních prvků konvoluční neuronové sítě nastiňuje obrázek 2.5. [26]



**Obrázek 2.4:** Schéma principu podvzorkování sdužováním maxima v oblasti 2x2 prováděného v konvoluční vrstvě. Zdroj: [29]



**Obrázek 2.5:** Schématické znázornění základních prvků konvoluční neuronové sítě. Zdroj: [28]

### 2.3.6 Učení neuronové sítě

Zpětné šíření je také známo jako reverzní režim automatické diferenciace, kde se nároky na aktivaci směrem vpřed de facto rovnají nárokům na výpočet zpětné derivace.

[30] Zpětné šíření chyby je v současnosti nejvyužívanějším učícím algoritmem. Poprvé bylo pro konvoluční neuronové sítě použito již v roce 1989. Nejprve jsou spojmů mezi neurony přiřazeny různé (náhodné) váhy a na data je aplikována neuronová síť. Známé vstupní a výstupní data a sledujeme, jako moc se odhad výsledku po průchodu dat neuronovou sítí liší od naší známé výsledné hodnoty. Následně můžeme vypočítat chybu odhadu a snažit se tuto chybu minimalizovat. [26]

Parametr, který můžeme snadno změnit, jsou váhy spojmů mezi neurony za pomoci poklesu gradientu chybové funkce. Výpočet gradientu chybové funkce vzhledem k vahám postupuje neuronovou sítí zpět. Tedy v opačném směru, než prochází data. Nová hodnota váhy se vypočítá následovně: Od původní hodnoty váhy odečteme podíl derivace chyby a derivace původní hodnoty váhy. Výsledek tohoto podílu je ještě násoben číslem, které nazýváme mírou učení. Derivace chybové funkce je vyhodnocována použitím řetězového pravidla. Pomocí těchto kroků nalezneme nové váhy, které následně aplikujeme v síti. Poté opět aplikujeme na data neuronovou síť a celý postup opakujeme tak dlouho, dokud není chyba blízká nebo rovna nule. [26]

Pro potřebu učení neuronové sítě se data používaná neuronovou sítí dělí do několika skupin. První z nich je skupina trénovacích dat. Tato data slouží pro učení sítě a jedná se o náhodně vybraný vzorek dat. Druhou skupinou je testovací množina, která slouží k ověření míry naučení sítě. Brání přeučení sítě, tedy momentu, kdy neuronová síť není schopna zobecňovat vlastnosti na nově dodaných datech a dosahuje horších výsledků. Tento problém může být způsoben příliš velkým počtem neuronů v síti nebo v případě, kdy do sítě vstupuje mnoho parametrů a je k dispozici pouze malý počet pozorování. Třetí skupinou dat jsou pak data validační. Jedná se o zbylou část dat, která síť doposud neměla k dispozici a slouží k ověření kvality naučení a celkové funkce sítě. Klasické rozdělení celku dat do těchto skupin je 50:25:25 nebo alternativně 75:15:15. [25] [31]

### 2.3.7 Neuronová síť U-Net

Pro správné fungování a učení standardní neuronové sítě je zapotřebí velkého množství tréninkových dat a nastavení parametrů. Jedná se o řády statisíců až milionů. Standardním výstupem takové sítě je poté klasifikace obrazu. Například jaké číslo se v obrazu nachází. Pro aplikaci v biomedicíně je však zapotřebí se vypořádat s vyššími nároky. Požadovaný výstup by měl obsahovat spíše než klasifikaci obrazu jako celku klasifikaci pro jednotlivé pixely obrazu a umožnit tak segmentaci. Rovněž počet tréninkových dat je pro reálnou biomedicínskou aplikaci nedosažitelný, neboť množství obrazových dat je limitováno počtem pacientů. Z tohoto důvodu byla pro potřeby práce s biomedicínskými obrazovými daty vytvořena architektura U-Net. [32]

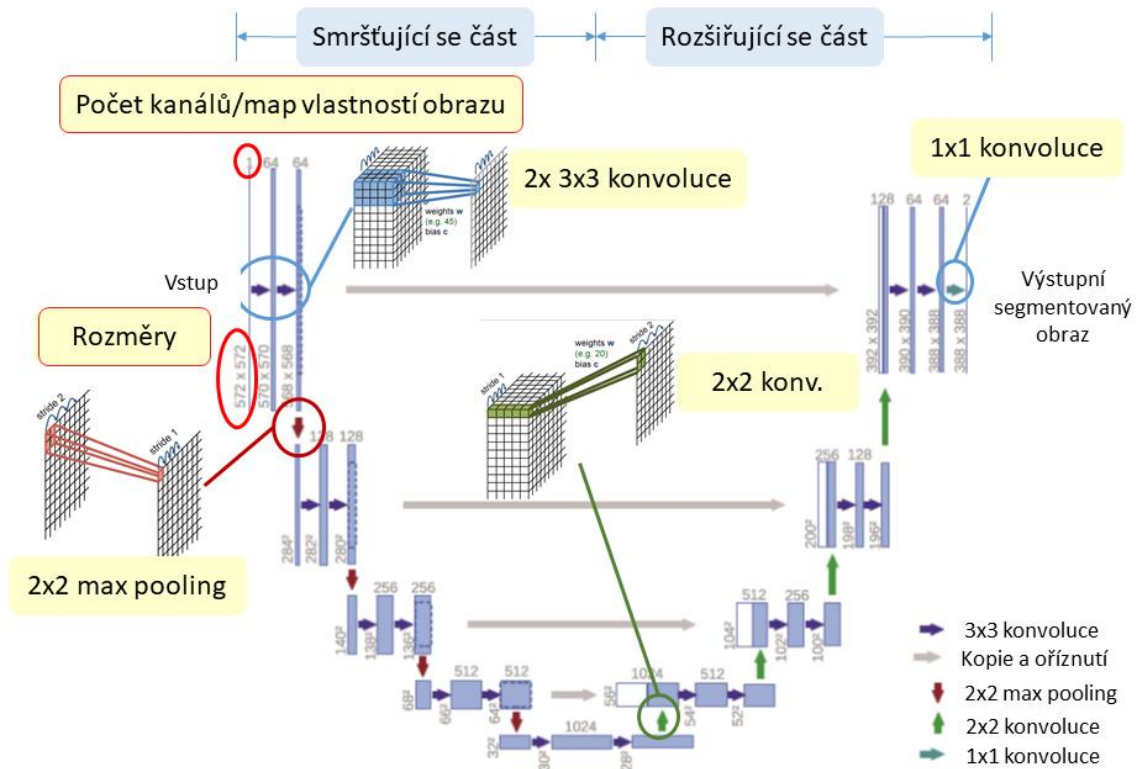
Tato architektura vychází z plně konvoluční neuronové sítě. Obvyklá, data postupně smršťující síť je doplněna vrstvami, ve kterých jsou sdružovací operátory nahrazeny operátory nadzvorkovacími. Díky tomu je zvýšeno rozlišení výstupu. Pro potřebu

lokalizace jsou kombinovány převzorkované výstupy s vlastnostmi obrazu s vysokým rozlišením. Následná konvoluční vrstva může na základě těchto informací sestavit přesnější výstup. Další podstatnou úpravou bylo přidání kanálů přenášejících vlastnosti obrazu do vrstev sítě s vyšším rozlišením. Díky tomu má výsledná architektura sítě tvar písmene U. Rozšiřující se část sítě je téměř symetrická se zužující se částí sítě. Síť nemá žádné zcela propojené vrstvy, ale pracuje pouze s platnou částí každé konvoluce. To znamená, že ve výsledné segmentační mapě jsou zastoupeny pouze takové pixely, pro které je znám plný kontext ze vstupního obrazu. Pro zpracování pixelů v okrajových částech obrazu je využívána extrapolace kontextu pomocí zrcadlení vstupního obrazu. Tyto úpravy umožňují segmentaci i obrazů s vysokým rozlišením. [32]

Problém s nedostatkem tréninkových dat je vyřešen rozšířením dostupných obrazových dat. Na snímcích je prováděna elastická deformace a tím je docíleno zvětšení množství výukových dat. Tato deformace umožňuje síti naučit se možné odchylky a změny struktur bez toho, aby musely být ručně vytvářeny a označovány. Takové odchylky a deformace struktur a tkání jsou v biomedicínských obrazech velmi časté. Je tak možné efektivně simulovat reálné deformace struktur a tkání. [32]

### 2.3.8 Architektura U-Net

Základem stavby neuronové sítě U-Net jsou dvě přibližně symetrické strany. Část sítě smršťující data a část sítě rozšiřující data. Smršťující se část sítě odpovídá standardní konvoluční síti. Skládá se z opakovaného použití dvou konvolučních masek  $3 \times 3$  následovaných opravnou lineární jednotkou a  $2 \times 2$  sdružovací vrstvou s krokem 2 pro podvzorkování. Při každém podvzorkovacím kroku je zdvojnásoben počet kanálů přenášejících vlastnosti obrazu. V rozšiřující se části sítě se každý krok skládá z nadvzorkování mapy vlastností obrazu následované  $2 \times 2$  dekonvolucí, která sníží počet kanálů přenášejících vlastnosti obrazu na polovinu. Následuje řetězec, který příslušně ořízne mapu vlastností obrazu ze smršťující se části sítě a dvě  $3 \times 3$  konvoluce, každá následovaná opravnou lineární jednotkou. Oříznutí mapy je nezbytné z důvodu ztráty okrajových pixelů při každé konvoluci. V poslední vrstvě je provedena  $1 \times 1$  konvoluce pro zmapování každého vektoru vlastností obrazu s 64 složkami do požadovaného množství tříd. V celkovém součtu má síť 23 konvolučních vrstev. Popsané schéma je graficky přiblíženo obrázkem 2.6. [32]



Obrázek 2.6: Schéma architektury neuronové sítě U-Net. Zdroj: [33]



### 3 Cíle práce

Cílem diplomové práce bylo vytvořit systém, který hodnotí množství neuromelaninu v substantia nigra u pacientů trpících poruchou spánku a tím přispět k časnému odhalení nastupující Parkinsonovy choroby a jiných neurodegenerativních onemocnění. K tomuto cíli jsme dospěli plněním dílčích cílů práce. Nejprve bylo nezbytné seznámení se s problematikou a objasnění současného stavu výzkumu v této oblasti. Nutné bylo také osvojení si práce se snímky a jejich zpracování v knihovně SPM. Prvním dílčím cílem práce bylo předzpracovat, registrovat a normalizovat snímky získané z Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze. Jedná se o neuromelanin-senzitivní MRI snímky a T1, T2 MRI sekvence celého mozku. Následujícím cílem bylo vytvoření algoritmu, který na základě anatomie a intenzity signálu lokalizuje substantia nigra v daných snímcích a současně umožní manuální korekci hodnotícím lékařem. Třetím dílčím cílem práce byla tvorba algoritmu schopného z určené oblasti vypočítat objem neuromelaninu. Čtvrtý cíl spočíval v segmentaci oblastí neuromelaninu pomocí neuronové sítě a opětovný výpočet objemu neuromelaninu. Závěrečným cílem bylo porovnání zjištěných hodnot množství neuromelaninu mezi sledovanými skupinami pacientů.

## 4 Metody

V následující části práce je podrobně popsán postup, kterým byly snímky zpracovány. V úvodu jsou krátce uvedeny programy a popsány klinické snímky. V následujících podkapitolách je postupně představena cesta zpracování snímků. Od primárního formátování přes kroky předzpracování a vzájemné registrace až po segmentaci oblastí substantia nigra a kvantifikaci množství neuromelaninu. Následně je popsán způsob, jakým byla na obrazová data aplikována neuronová síť U-Net.

Pro zpracování neuromelanin-senzitivních snímků jsme využili program MATLAB vyvíjený společností MathWorks. Jedná se o programové prostředí a skriptovací programovací jazyk. Hlavní datovou strukturou jsou v tomto programu matice. Jako doplněk tohoto programu umožňující zpracování MRI snímků sloužila knihovna SPM12 (Statistical Parametric Mapping). Jedná se o volně dostupný software vyvinutý pro analyzování obrazových dat pocházejících z různých zobrazovacích modalit nebo různého času.

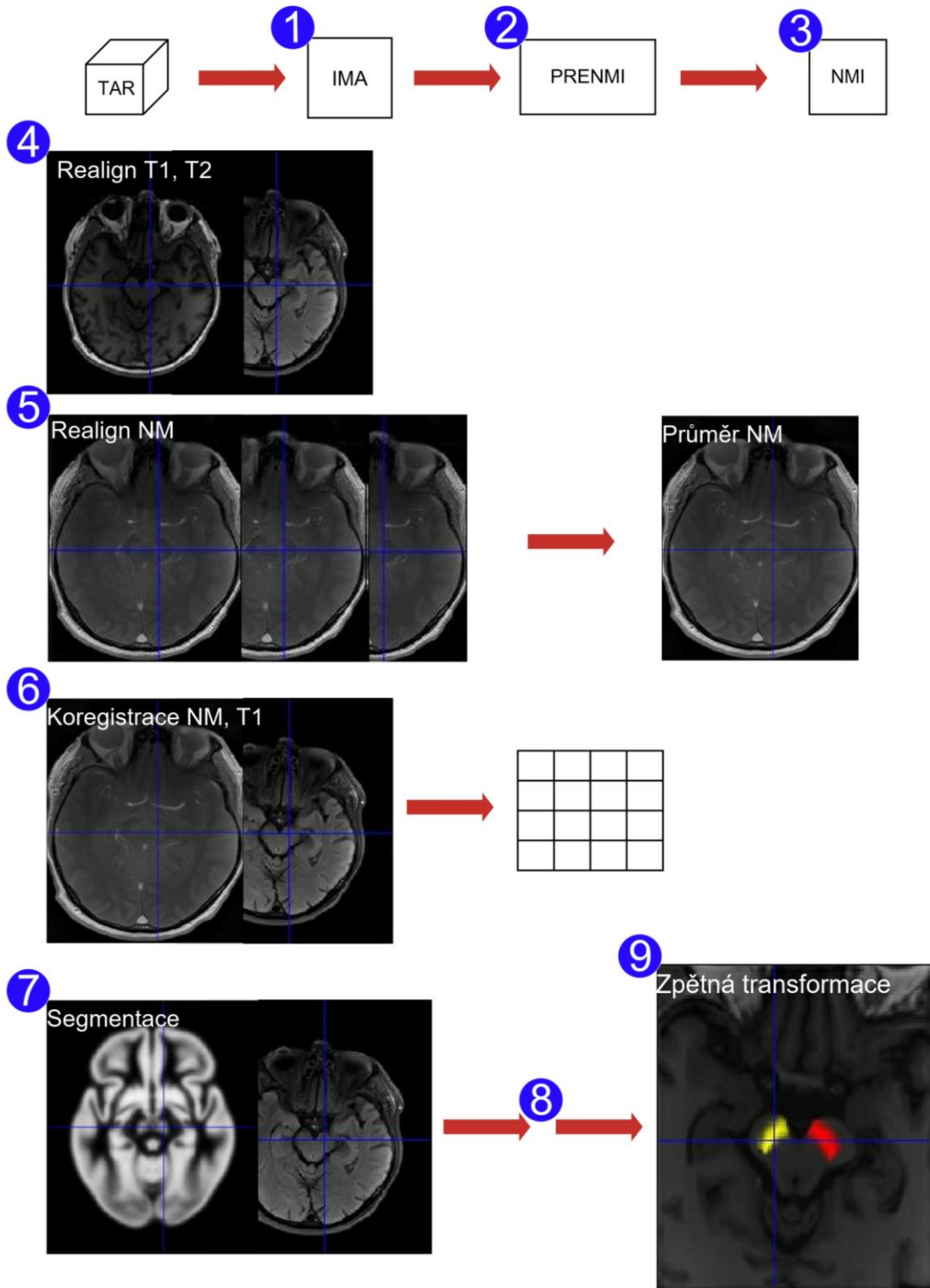
Zkombinováním těchto dvou nástrojů jsme dosáhli toho, že byly současně zpracovány celé sady snímků, pocházejících od různých pacientů. To napomáhalo rychlejšímu a jednoduššímu zpracování většího objemu dat. V průběhu úpravy primárních snímků prováděla samotnou práci se snímky knihovna SPM, příkazy určující pořadí a systém práce se snímky byly realizovány skripty psanými v programu MATLAB. Následně byly snímky z klinického pracoviště převedeny do podoby matic, s nimiž lze plnohodnotně pracovat v programu MATLAB bez nutnosti využití knihovny SPM.

Sady snímků, získané z klinického pracoviště, obsahovaly sedm opakovaných sekvencí neuromelanin-senzitivních MRI snímků, T1 a T2 MRI sekvence. Každá sada NM-MRI senzitivních snímků obsahovala vždy několik po sobě jdoucích řezů mozku v oblasti mesencephalonu, kde se nacházejí námi zkoumaná substantia nigra. Hlavní část práce se odehrávala právě na těchto snímcích. Další sady snímků obsahující T1 a T2 MRI sekvence obsahovaly řezy celou hlavou pacienta. Jednalo se o standardní MRI snímky a pro naši práci sloužily jako přehledové snímky usnadňující lokalizaci struktur v rámci zkoumané oblasti.

Každý pacient před vyšetřením podepsal informovaný souhlas. Data pacientů byla pro účely naší práce anonymizována. Každému pacientovi byl přidělen kód obsahující název skupiny, do které pacient spadá, a číslo. Podrobné informace o pacientech mělo k dispozici klinické pracoviště, poskytující obrazová data. Z naší strany tak nemohlo dojít k žádnému zneužití nebo neoprávněnému nakládání s osobními a důvěrnými údaji pacientů.

## 4.1 Proces zpracování obrazových dat

V této podkapitole je podrobně popsán postup, který jsme prováděli s obrazovými daty tak, aby bylo možné na konci tohoto postupu zahájit lokalizaci substantia nigra a následně kvantifikovat množství neuromelaninu. Proces lze rozdělit do dvou částí. Nejprve byla nutná úprava primárních dat do příslušného formátu. Tento proces představují kroky jedna až tři a je popsán v kapitole 4.1.1 Úprava primárních obrazových dat. Poté následovalo již předzpracování snímků, spočívající v jejich vzájemném zarovnání NM senzitivních snímků a T1 snímků (krok 4), zarovnání NM senzitivních opakovaných sekvencí (krok 5). Následovala vzájemná registrace zarovnaných T1 a NM senzitivních snímků, takzvaná koregistrace (krok 6), segmentace oblastí SN dle tkáňového atlasu (krok 7) a zpětné transformaci (krok 9). Jednotlivé kroky předzpracování jsou podrobněji popsány v kapitole 4.1.2 Předzpracování snímků. Pro přehlednost jsme celý tento proces zpracování obrazových dat shrnuli do jednoduchého grafického schématu (obrázek 4.1).



Obrázek 4.1: Schéma zpracování obrazových dat.

### 4.1.1 Úprava primárních obrazových dat

Obrazová data bylo nejprve nutno převést do formátu kompatibilního s námi používaným software. Každá složka dat konkrétního pacienta obsahovala adresáře ve formátu .tar. V těchto adresářích se nacházely jednotlivé snímky z MRI v DICOM formátu (Digital Imaging and Communications in Medicine). V prvním kroku zpracování dat bylo nutné .tar adresáře rozbalit. Po specifikaci adresářové struktury k souborům byla vytvořena nová složka „IMA“. Do této nové složky byly rozbaleny všechny soubory.

Prvním krokem jsme získali sady snímků volně přístupné a bylo nutné je z DICOM formátu převést do formátu NIfTI (.nii), kompatibilního s SPM knihovnou. Opět jsme specifikovali adresářovou cestu k souborům. Byla vytvořena nová složka „PRENMI“. Do této složky byly vloženy nově naformátované sady snímků. Jednalo se ve zkratce o import snímků přes SPM knihovnu. Došlo k identifikaci dat ze specifikovaného adresáře, načtení řezů knihovnou SPM a jejich konverze do formátu NIfTI (.nii). Praktickým výsledkem tohoto procesu bylo převedení jednotlivých řezů mozku uložených jako samostatné soubory do jednoho souboru, obsahujícího celou sadu řezů. Zachována zůstala všechna obrazová i technická data.

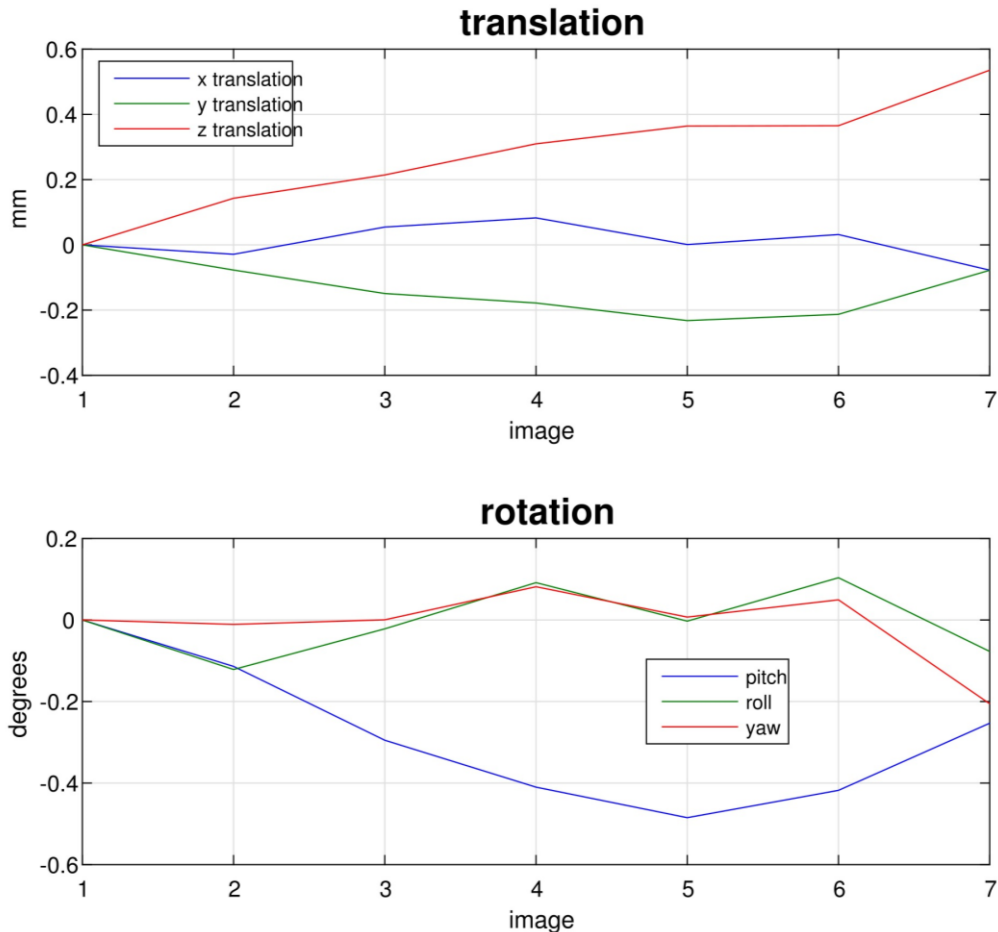
Třetím krokem přípravy snímků bylo jejich přejmenování a zjednodušení adresářové struktury. Byla vytvořena nová složka „NMI“, vloženy do ní adresáře pro jednotlivé pacienty a do nich přejmenované soubory. Získali jsme tak sady souborů začínajících „nm“ pro sekvence neuromelanin-senzitivních snímků a soubory „t1“, „t2“ obsahující sekvence celého mozku.

### 4.1.2 Předzpracování snímků

Čtvrtým krokem procesu byl tzv. realign. Proces, který přeskupil (přeladil) a v případě potřeby ořízl snímky do jednotného rámce, odpovídajícího prvnímu snímku celé série. Tato operace byla nejprve provedena pro snímky celého mozku (t1, t2). Byla zde používána funkce předběžného výpočtu přeskupení, která byla přímo následována aplikací tohoto výpočtu na snímky. Došlo tak k vytvoření nové sady snímků, která byla shodně orientována v prostoru. Vytvořila se nová složka „NMIR“, do které se vložily nové, jednotně zarovnané sekvence snímků t1, t2. Současně došlo k vytvoření souboru, ve kterém byly graficky popsány úpravy a posuny jednotlivých nově vzniklých snímků v sérii oproti původním snímkům. Lze tak posoudit míru změn snímků, která byla tímto krokem provedena.

Následovalo zprůměrování všech neuromelanin-senzitivních MRI snímků. Nejprve došlo k přeskupení všech snímků do jednotného rámce stejně jako v předchozím kroku u t1, t2 sekvencí. Následně bylo všech sedm NM-MRI snímků zprůměrováno do jedné sady řezů. Ve složce NMIR byl vedle jednotlivých upravených sérií NM-MRI snímků vytvořen nový soubor „nm.nii“ obsahující průměr všech sedmi NM-MRI snímků daného pacienta. Stejně jako v předchozím kroku došlo k vytvoření souboru, který graficky

znázorňuje, jak byly jednotlivé sady snímků upraveny oproti původním snímkům. Obrázek 4.2 ilustruje toto grafické znázornění posunů a úprav pro sadu sedmi NM-MRI snímků.



**Obrázek 4.2:** Grafické znázornění realignmentu. Na vodorovných osách je vyznačeno číslo snímku. Horní graf zobrazuje translaci jednotlivých snímků (v milimetrech) vůči prvnímu snímku v osách x, y a z. Spodní graf zobrazuje rotaci jednotlivých snímků (ve stupních), vůči prvnímu snímku.

Šestý krok procesu zpracování představoval vzájemnou koregistraci sekvencí t1, t2 podle NM-MRI senzitivních snímků. Došlo k zarovnání strukturálních snímků mozku (t1, t2 sekvence) podle průměru neuromelaninových snímků (nm.nii). Tím bylo umožněno lokalizovat funkční informace z NM snímků v anatomickém prostoru celého mozku. Vzhledem k dalším plánovaným úpravám snímků byla v tomto kroku zvolena možnost předběžného výpočtu tohoto zarovnání. Došlo tak k vytvoření transformační matice, nikoli však k aplikaci této matice na snímky. Transformační matice byla uložena a na snímky byla aplikována až v závěrečném kroku procesu předzpracování snímků. Tím byl snížen negativní vliv transformace na snímky.

Sedmým krokem byla segmentace tkání. K tomuto kroku byl využíván pravděpodobnostní atlas tkání (Lorio Draganski) [34], beroucí v úvahu různé anatomické variace, neboť při jeho tvorbě bylo využito většího množství snímků (98) mozku zdravé populace. Na základě atlasu bylo možné předem určit pravděpodobnost, že konkrétní voxel obsahoval konkrétní tkáň. Tato pravděpodobnost byla následně zkombinována s daty z konkrétního snímku a byl tak určen konkrétní druh tkáně v jednotlivých voxelech. Díky tomuto přístupu mohly být dva voxely se shodnou intenzitou signálu určeny jako dva rozdílné typy tkáně. Tím bylo docíleno zvýšení přesnosti určení námi vybrané oblasti SN v mozku. Segmentace podle tkáňového atlasu byla provedena na T1 sekvenci celého mozku.

Osmý krok představoval normalizaci tkání segmentovaných v předchozím kroku do prostoru šablon. Šablony představují tvar SN získaný z pravděpodobnostního atlasu tkání. Za pomoci dat získaných segmentací v předchozím kroku došlo k úpravě prostoru NM snímků podle prostoru šablon SN.

Devátý a poslední krok úpravy snímků spočíval ve zpětné transformaci oblastí SN z prostoru anatomického atlasu do prostoru NM snímků pacientů. Díky předchozím krokům jsme měli k dispozici dvě vyznačené oblasti SN z tkáňového atlasu. Ty byly zpětně převedeny do reálných NM snímků. Výsledkem byly dvě oblasti přibližně odpovídající lokalizaci pravé a levé SN konkrétního pacienta. Tyto oblasti jsme mohli následně zobrazit buď v neuromelaninové sekvenci nebo v klasické T1 sekvenci snímků jako překrývající vrstvu primárního snímku. Určení oblastí pravé a levé SN (byť ne zcela přesné) bylo stěžejní pro další práci, neboť právě v těchto oblastech jsme následně kvantifikovali množství neuromelaninu.

### **4.1.3 Lokalizace substantia nigra v NM-MRI snímcích**

Prvním krokem při lokalizaci oblastí substantia nigra (SN) ve snímcích celého mozku byla specifikace oblastí zájmu (ROI), ve které se SN nachází. Došlo proto k identifikaci adresářové cesty ke zpracovávaným souborům ve formátu NIfTI (.nii) a nahrání všech potřebných obrazových dat pomocí knihovny SPM. Jednalo se o neuromelanin-senzitivní sekvence, T1, T2 vážené sekvence a snímky s přibližně vyznačenou oblastí SN na základě anatomického atlasu. Nahráním byla tato data transformována z NIfTI (.nii) formátu do podoby matic, se kterými již lze volně pracovat v programu MATLAB bez nutnosti dále používat knihovnu SPM. Všechna nahraná obrazová data byla pro každého pacienta uspořádána do struktury, obsahující jako první složku jeho identifikační kód a následně jednotlivé matice, obsahující zpracovávané snímky.

Souřadnice oblastí zájmu odpovídající SN byly získány pomocí funkce GetROI. Tato funkce pracovala se souřadnicemi určenými anatomickým modelem. Byla načtena oblast anatomicky lokalizovaná jako levá SN a pravá SN. Následně byly tyto oblasti sečteny.

Souřadnice takto vzniklé oblasti byly brány jako základní údaj pro vymezení ROI. Nově vzniklá ROI byla oproti původní anatomické lokalizaci SN lehce zvětšena. Rozměry ROI byly zapsány a následně využity v dalším kroku.

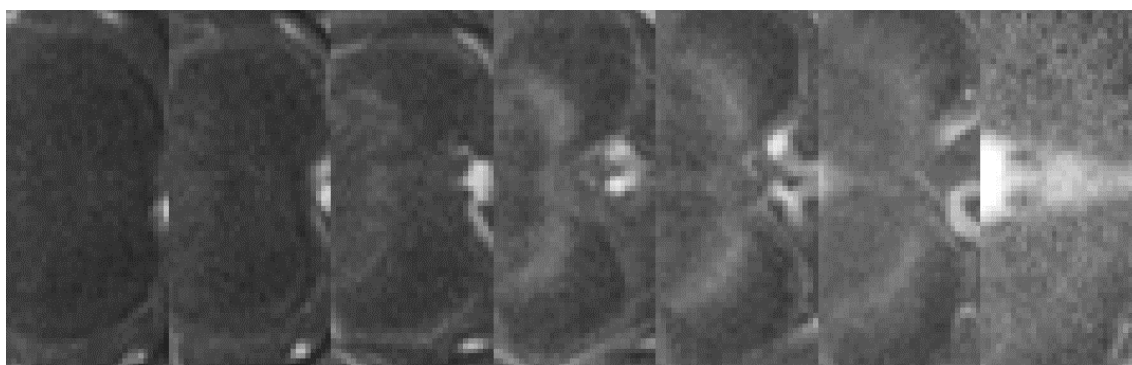
Na základě získaných souřadnic ROI byla z NM senzitivních snímků vybrána pouze tato oblast a byla následně uložena. Posledním bodem bylo zkopírování souřadnic ROI do nové buňky v rámci struktury pro další práci při ručním zásahu do procesu.

Výstupem této části procesu byla struktura obsahující v jednotlivých řádcích data zpracovávaných pacientů. V našem případě se jednalo o zpracování vždy po příslušné skupině (RBD, NORMA, BIO PD). Každá skupina zahrnovala řádově 40 pacientů. Z této obsáhlé struktury byla data jednotlivých pacientů extrahována do samostatných struktur, které byly pojmenovány příslušným kódem konkrétního pacienta.

#### 4.1.4 Ruční výběr odpovídajících řezů SN

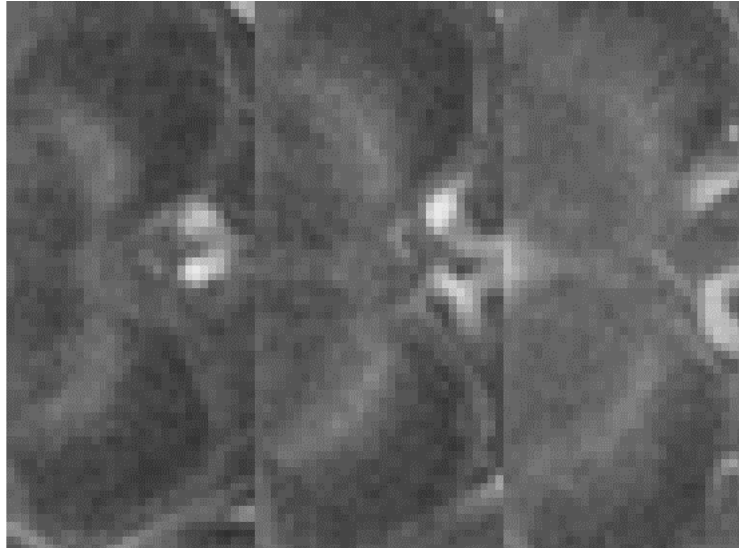
Během analýzy získaných obrazových dat z klinického pracoviště jsme zjistili, že počet řezů mozku v NM senzitivních sekvencích se pro jednotlivé pacienty liší. Stejně tak byla nejednotná vertikální lokace SN v rámci snímkové sekvence. Při práci s celým rozsahem sekvence by pravděpodobně docházelo k chybným výsledkům, neboť by pro různé pacienty byl zpracováván různý rozsah SN. Abychom těmto možným chybám předešli, rozhodli jsme se pro manuální zásah do procesu kvantifikace neuromelaninu.

U každého pacienta jsme si zobrazili celou NM senzitivní sekvenci snímků zobrazující SN (obrázek 4.3). Manuálně jsme ze sekvence určili tři řezy, které obsahují signál ze SN. Tyto byly vybrány tak, aby na prvním z nich již byla patrná SN na své kaudální hranici. Zbývající dva řezy poté odpovídaly následujícím řezům mozku směrem vzhůru (obrázek 4.4).



**Obrázek 4.3:** NM-MRI senzitivní sekvence po sobě následujících řezů oblastí SN. Směr řezů je zleva doprava kaudálně kraniální.





**Obrázek 4.4:** Tři NM-MRI senzitivní řezy oblasti SN vybrané manuálně z celé sekvence NM-MRI řezů (obrázek 4.3). Vlevo kaudální část SN, vpravo kranální.

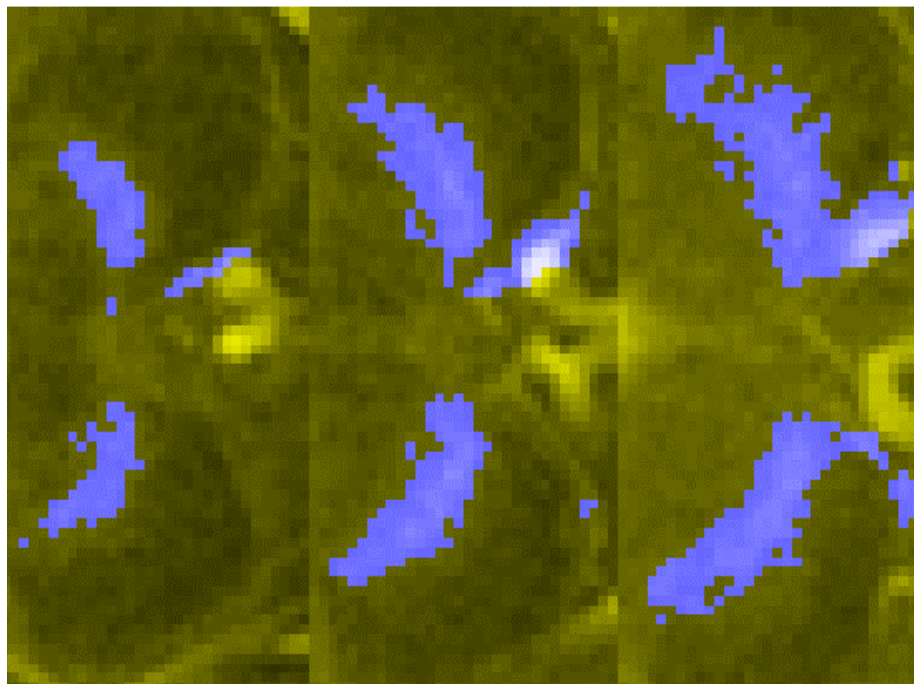
Pro zápis tohoto nového rozsahu byla využita zkopírovaná data o rozměrech ROI. V těchto datech byl manuálně upraven počet řezů sekvencí. Ten odpovídal rozsahu určenému při vizuálním stanovení tří řezů oblasti SN. Podle stanoveného rozsahu došlo následně k vyříznutí nové oblasti zájmu z NM senzitivních snímků mozku stejným způsobem, jako je popsáno výše. V následující kvantifikaci jsme pracovali u každého pacienta pouze s tímto rozsahem tří řezů oblastí SN.

#### **4.1.5 Stanovení prahu signálu pozadí**

Stejně tak jako jsme odhalili nejednotnost získaných dat v oblasti rozsahu snímání, zjistili jsme i nestandardnosti v rozsahu intenzit signálu. U některých pacientů byly hodnoty nasnímaného signálu celkově vyšší oproti ostatním. Jak u lokalizované struktury SN, tak u pozadí. Rozhodli jsme se proto tento jev eliminovat použitím prahové hodnoty signálu, který bude určován jednotlivě pro každého pacienta zvlášť. Do kvantifikace množství neuromelaninu pak budou zahrnuty pouze hodnoty, které jsou vyšší než tento práh.

Pro stanovení prahu pozadí jsme opět vzhledem k nekonzistentnosti obrazových sekvencí využili manuální postup. Byla načtena a zobrazena sekvence NM senzitivních snímků, obsahující tři řezy oblastí SN. V této sekvenci byla na kaudálním řezu ručně vybrána oblast, mající charakterem intenzity signálu povahu pozadí. Tedy oblast mimo námi zpracovávaná SN a další anatomické struktury, které v některých případech intenzitou signálu dokonce převyšovaly signál ze SN. Velikostně se jednalo o kruh o průměru 4 milimetry. Jako hodnotu prahu jsme z takto vytyčené oblasti určili střední hodnotu intenzity všech pixelů obsažených v kruhu. Hodnotu prahu jsme samozřejmě zaznamenali pro každého pacienta pro potřeby dalšího zpracování obrazových sekvencí.

Pro kontrolu, zdali námi stanovený práh souhlasí, jsme využili zobrazení řezů oblastí SN se zvýrazněním všech pixelů, které mají intenzitu signálu vyšší než práh. Při této kontrole jsme zjistili, že metoda je funkční, ovšem nenabízí dostatečnou přesnost. Rozhodli jsme se proto kombinovat oba přístupy. Jak anatomickou lokalizaci na základě tkáňového atlasu, tak i prahování intenzity signálu na základě intenzity signálu pozadí. Výsledná oblast vzniklá kombinací obou přístupů je zobrazena modře na obrázku 4.5. Tato oblast již mnohem věrněji odpovídala námi požadované oblasti SN.



**Obrázek 4.5:** Zobrazení signálu NM (modrá barva) vyššího než prahová hodnota v rámci anatomické lokalizace SN.

#### **4.1.6 Oprava oblasti zájmu SN**

V některých případech se při přesné lokalizaci SN vyskytly problémy spojené s těsnou blízkostí jiných anatomických struktur, majících podobně intenzivní signál, ovšem nenáležící k SN. Tyto struktury mohly ovlivnit následující výpočty a bylo proto nezbytné je odstranit. Vzhledem k anatomické varianci u jednotlivých pacientů byly zmíněné struktury různé velikosti i lokalizace. Rozhodli jsme se proto pro třetí manuální zásah do procesu, kterým jsme tyto nežádoucí části odstranili.



**Obrázek 4.6:** Zobrazení oblastí signálu NM před úpravou pomocí MatrixUser v2.2.

Nejprve jsme si pro posouzení velikosti nutného zásahu zobrazili zvýrazněnou oblast, odpovídající automaticky vytyčené oblasti SN na základě kombinace anatomické lokalizace a prahu signálu pozadí. Následně jsme spustili skript MatrixUser v2.2, který je volně dostupný pro stažení a použití v rámci komunity programu MATLAB. Díky tomuto skriptu jsme byli schopni zvýrazněnou oblast editovat. Oblast před editací znázorňuje obrázek 4.6. Konkrétně jsme provedli vymazání některých částí takto zvýrazněné oblasti. Tyto části představovaly nejčastěji blíže naléhající anatomické struktury k SN nebo jednotky náhodných bodů, které ležely zcela mimo oblast SN. Jejich zahrnutí do výpočtu by mohlo mít u některých pacientů významný vliv na celkové výsledky. Po příslušné editaci jsme si nově upravenou oblast SN uložili jako matici do struktury daného pacienta. Výsledek editace přibližuje obrázek 4.7.



**Obrázek 4.7:** Zobrazení oblasti signálu NM po úpravě pomocí MatrixUser v2.2. Došlo k odstranění struktur neodpovídajících SN, které by mohly ovlivnit následnou kvantifikaci množství neuromelaninu.

## 4.2 Kvantifikace množství neuromelaninu v SN

Jako parametr pro kvantifikaci množství neuromelaninu v SN jsme si stanovili objem této látky v SN. Pro výpočet jsme využili upravenou a zpřesněnou oblast SN, získanou z předchozího postupu. Tato matice nám zobrazila v bodech patřících do oblasti SN hodnoty 1, ve všech ostatních bodech hodnoty 0. Díky tomu jsme mohli jednoduše prostým součtem nenulových bodů v matici zjistit, kolik voxelů v daných řezech oblastí SN spadá do naší oblasti zájmu. Ze znalosti o velikosti jednoho voxelu v NM-senzitivních snímcích jsme pak snadno vypočítali celkový objem neuromelaninu v SN. Velikost voxelu byla ve všech případech  $0,521 \times 0,521 \times 3$  mm. Hodnota výsledného objemu byla následně zapsána do struktury konkrétního pacienta.

Vedle objemu jsme se rozhodli také pro výpočet celkového signálu neuromelaninu. K tomu nám opět posloužila námi ručně upravená oblast SN. V tomto případě jsme tuto matici použili jako masku, kterou jsme aplikovali na NM-senzitivní snímek SN. Všechny hodnoty uvnitř masky byly uloženy jako nová matice, ve které byly hodnoty mimo masku rovny nule. Následně jsme všechny hodnoty z nově vzniklé matice sečetli a výsledek stejně jako v případě objemu zaznamenali do struktury daného pacienta.

## 4.3 Aplikace neuronové sítě U-net

Po zpracování snímků pomocí výše popsaných postupů jsme se snažili metodu segmentace oblastí SN více automatizovat a zbavit alespoň některých manuálních zásahů do procesu. Pro tento účel se jako ideální nástroj jevila neuronová síť U-Net, jejíž architektura je uzpůsobená pro práci s biomedicínskými daty. Následující odstavce popisují postup, který byl nezbytný pro segmentaci NM-MRI senzitivních snímků pomocí této neuronové sítě.

### 4.3.1 Příprava obrazových dat

Před samotným začátkem práce s neuronovou sítí U-net bylo nejprve nezbytné správně připravit obrazová data. Z předchozích kroků jsme disponovali pro každého pacienta jednou strukturou, obsahující různá data nejen obrazové povahy. Pro aplikaci neuronové sítě na naše obrazová data jsme ze struktury každého pacienta museli uložit obrázek odpovídající námi zvoleným třem řezům v oblasti SN nikoliv jako matici, ale jako obrázek ve formátu .tiff. Mimo to bylo také potřeba ve stejném formátu uložit námi ručně upravenou masku oblasti SN vytvořenou v předchozím procesu zpracování. Tato maska později posloužila jako vzor dat, na kterých se neuronová síť učila. V této části ukládání snímků jsme se museli vypořádat s nestandardností rozměrů snímků jednotlivých pacientů. Proto jsme přistoupili k řešení v podobě zjištění rozměrů největších snímků a ostatní snímky jsme upravili na stejnou velikost přidáním černého okraje okolo třech řezů oblastí SN. Takto jsme zajistili kompatibilitu všech snímků s neuronovou sítí a současně nedošlo k ovlivnění nebo deformaci dat obsažených na snímcích. Výsledné snímky třech řezů oblastí SN a masky oblasti SN byly uloženy zvlášť do nových složek.

### 4.3.2 Nastavení parametrů neuronové sítě

Před samotnou aplikací neuronové sítě na obrazová data bylo nejprve nutné specifikovat architekturu neuronové sítě a nastavit příslušné parametry. V prvním kroku bylo nejprve nutno specifikovat základní parametry. Jednalo se o velikost snímku, se kterou bude síť pracovat, počet tříd v sémantické segmentaci a hloubku kódování.

Velikost snímku byla jasně specifikována výstupem z předchozího kroku. V něm jsme upravili velikost všech snímků na rozměr 64x32 pixelů. Jak pro neuromelanin-senzitivní snímky oblasti SN, tak pro ručně upravenou masku oblasti SN.

Počet tříd v sémantické segmentaci specifikuje, kolik kategorií obrazových dat jsme do sítě vložili. V našem případě byl tento parametr nastaven na hodnotu 2. Pro zpracování jsme disponovali pouze dvěma kategoriemi dat. Jednalo se o neuromelanin-senzitivní snímky oblasti SN, na kterých jsme chtěli provést segmentaci a vzor pro tuto segmentaci, který představovala data ručně upravené masky oblasti SN.

Třetím parametrem byla hloubka kódování. Tento parametr určoval počet kódování a opětovného dekódování snímku při zpracování neuronovou sítí. Pro naše zpracování jsme zvolili parametr 4. To v praxi znamená, že obraz byl převzorkován s  $2^4$  a se stejným faktorem také následně převzorkován na druhé straně procesu. Na základě těchto specifikovaných parametrů jsme sestavili vrstvy neuronové sítě U-net.

### 4.3.3 Učení neuronové sítě

Takto sestavenou neuronovou sít' bylo následně nutné naučit zpracování námi požadovaného typu obrazových dat. Nejprve jsme museli specifikovat adresářovou cestu k snímkům, na kterých chceme provádět segmentaci neuronovou sítí a k šablonám, podle kterých se bude neuronová sít' učit provádět segmentaci. Šablonami, sloužícími jako vzory pro učení, byly námi ručně upravené masky oblastí SN. Pro tyto šablony jsme museli před zahájením tréninku specifikovat skutečnost, že zájmová oblast, která má být segmentována, má hodnotu pixelu 255, pozadí pak 0.

Data jsme pro potřeby učení neuronové sítě ještě více rozdělili. U každého pacienta jsme vybrali pouze prostřední řez oblastí SN. Na tomto řezu byla u všech pacientů SN spolehlivě viditelná. Díky tomuto kroku jsme dosáhli snížení výpočetní náročnosti a tím rovněž doby potřebné pro naučení sítě na náš typ dat. V procesu učení tak byla vstupními daty do neuronové sítě sada prostředních řezů oblastí SN a masky, získané z procesu segmentace SN pomocí anatomické lokalizace a prahu intenzity signálu.

Následně jsme mohli zadat parametry pro trénování. Jednalo se o určení typu řešitele pro trénování, míry učení, maximální počet epoch a frekvenci vypisování průběhu tréninku.

Řešitel upravuje parametry v každém kroku pomocí podmnožiny dat (mini-bach). Typ řešitele jsme mohli volit z celkem tří možností. Jednalo se o různé varianty stochastického gradientního sestupu pro trénování sítě. Dostupnými typy byly: „adam“ (adaptive moment estimation), „rmsprop“ (root mean square propagation) a „sgdm“ (stochastic gradient descent with momentum). Po vyzkoušení všech tří typů s různou kombinací nastavení ostatních parametrů jsme na základě podoby výsledků zvolili pro náš trénink a učení sítě typ „adam“. Tento typ vykazoval značně kvalitnější a přesnější segmentaci než zbylé dva dostupné typy řešitelů.

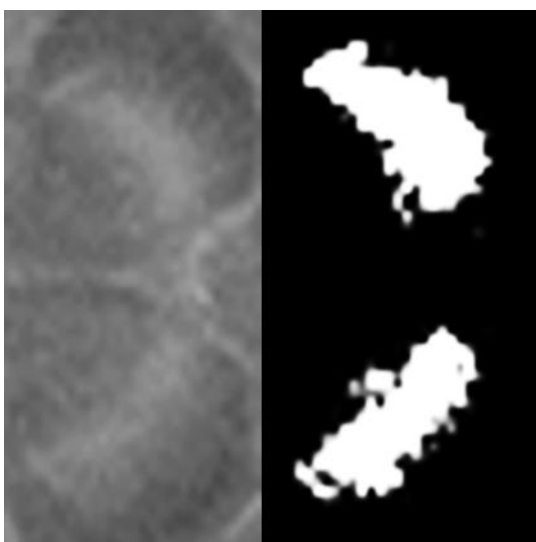
Míra globálního učení byla ponechána dle doporučeného nastavení na hodnotě 0,001. Pro urychlení učení by bylo možné začít zpočátku s vyšší hodnotou a postupně ji po daných krocích snižovat. Vzhledem k tomu, že náš soubor dat nebyl příliš obsáhlý a učení probíhalo relativně rychle, ponechali jsme malou hodnotu míry učení již od začátku.

Pro určení počtu epoch je nezbytné nejprve objasnit, co je chápáno pod tímto pojmem. Jendou epochou se rozumí průchod celým souborem zpracovávaných dat. Celkový počet epoch je nutné zvolit s ohledem na velikost souboru dat a na rozsáhlost sítě. My jsme pro naši aplikaci vyzkoušeli mnoho nastavení tohoto parametru. Zpočátku

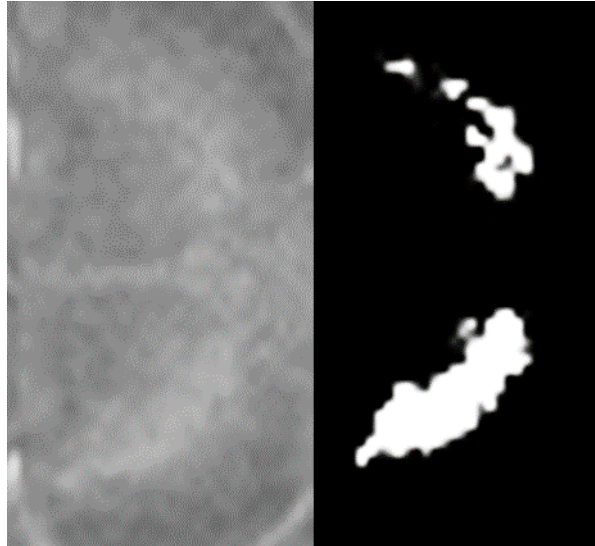
jsme volili hodnotu blízkou výchozí a prováděli jsme pouze 50 průchodů souborem dat. Výsledky však nebyly příliš přesvědčivé a postupnými kroky jsme došli k počtu 500. Tato hodnota již poskytovala dobré výsledky a současně nezvyšovala neúměrně výpočetní dobu.

Posledním parametrem, který jsme museli specifikovat, byla frekvence vypisování průběhu tréninku. Jedná se o ukazatel, který po námi specifikovaném počtu epoch vypsal do pracovního okna následující parametry, specifikující průběh tréninku sítě: číslo epochy, iterace, uplynulý čas, přesnost ověření podmnožiny dat, ztrátu v podmnožině dat a základní míru učení. Příslušným nastavením výše popsaných parametrů učení jsme byli schopni dosáhnout přesnosti segmentace na úrovni 99 %.

Po naučení neuronové sítě jsme přistoupili k testu, který ověřil míru naučení neuronové sítě. Jako testovací data pro ověření správnosti naučení jsme využili třetí (kraniální) řez oblastí SN. Na tomto řezu je již spolehlivost zobrazení SN o něco nižší a bylo tak možné prověřit, zdali je naučená segmentace neuronové sítě funkční. Výstupní data získaná z tohoto testu ukázala, že učení proběhlo úspěšně. Jako ilustrace slouží obrázky níže. Na obrázku 4.8 je zobrazen třetí řez oblastí SN a následná segmentace oblasti neuromelaninu z tohoto řezu pomocí neuronové sítě. Zde je oblast NM jasně viditelná. Na obrázku 4.9 je zobrazen také třetí řez oblastí SN a následná segmentace NM. V tomto případě se však jedná o jiného pacienta a zcela rozdílný signál v oblasti SN. Na těchto dvou obrázcích lze ilustrovat ověření naučení neuronové sítě na segmentaci oblastí neuromelaninu. Neuronová síť byla schopna reflektovat rozdílné intenzity signálu v různých vrstvách u různých pacientů.



**Obrázek 4.8:** Ukázka ověření naučení neuronové sítě na segmentaci třetího řezu oblastí SN. Pacient BIO 6. NM-MRI senzitivní snímek vlevo. Oblast signálu NM z tohoto snímku segmentovaná pomocí neuronové sítě vpravo.



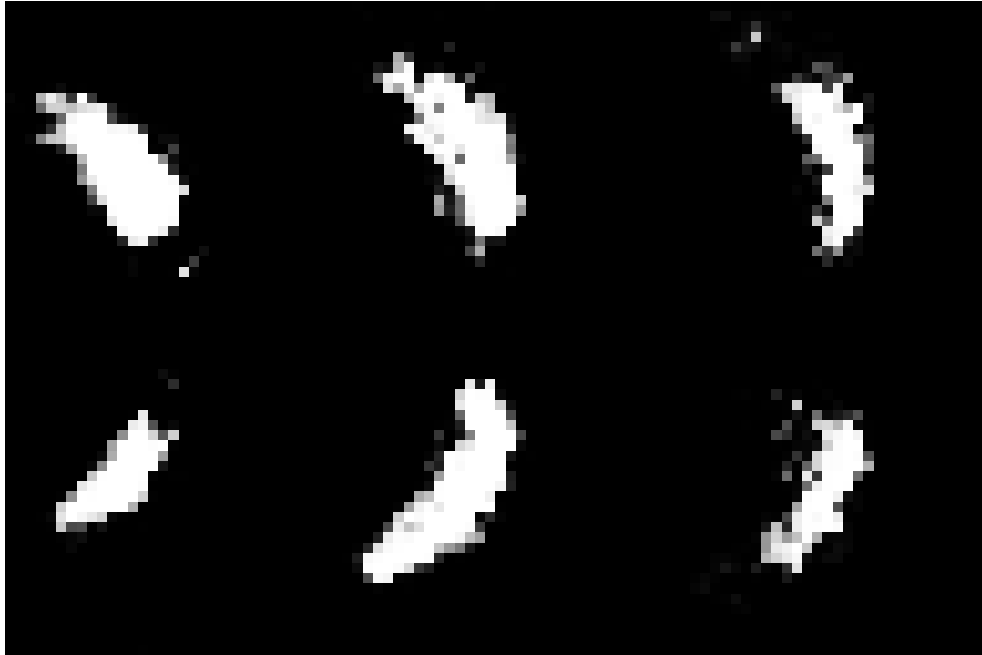
**Obrázek 4.9:** Ukázka ověření naučení neuronové sítě na segmentaci třetího řezu oblastí SN. Pacient RBD 14. NM-MRI senzitivní snímek vlevo. Oblast signálu NM z tohoto snímku segmentovaná pomocí neuronové sítě vpravo. Oproti obrázku 4.8 je zde patrný ohled neuronové sítě na intenzitu signálu během segmentace.

#### 4.3.4 Aplikace neuronové sítě na obrazová data

Po naučení neuronové sítě na náš typ obrazových dat jsme mohli přistoupit k aplikaci této sítě na všechna data. Prvotní učení probíhalo pouze na prostředním ze tří řezů oblasti SN v neuromelanin-senzitivních MRI snímcích. Tento postup jsme zvolili z důvodu menší výpočetní náročnosti během procesu učení. Prostřední řez byl vybrán z důvodu optimálního zobrazení oblasti SN ve snímku. Po naučení neuronové sítě na trénovacích datech jsme přistoupili k použití takto naučené neuronové sítě na všechny tři řezy oblastí SN u všech pacientů.

Specifikovali jsme adresářovou cestu k nesegmentovaným snímkům. Pomocí příkazu „predict“, ve kterém jsme specifikovali námi naučenou síť a NM-senzitivní snímky oblasti SN, jsme získali obraz segmentované oblasti (Obrázek 4.8). Pro každého pacienta jsme příslušný obraz segmentované oblasti uložili zvlášť.





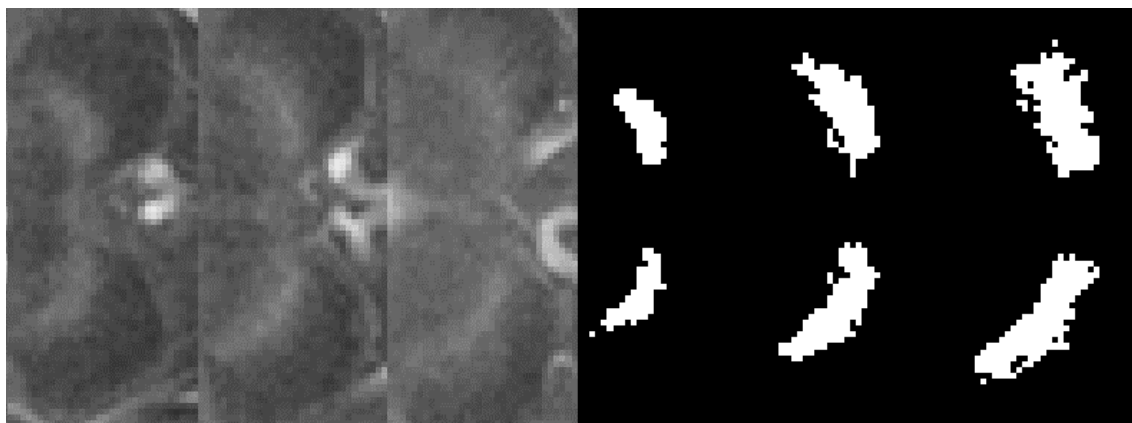
**Obrázek 4.10:** Výsledná oblast SN segmentovaná pomocí neuronové sítě U-Net.

#### **4.4 Statistické zpracování dat**

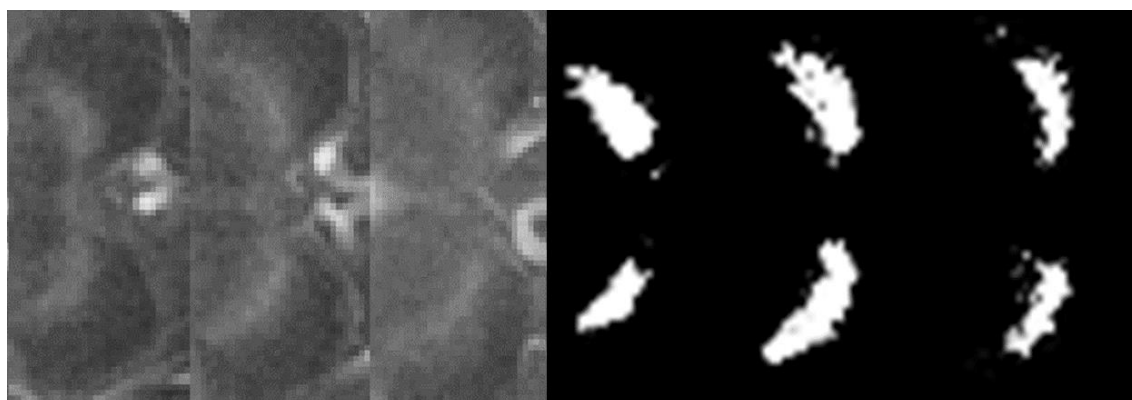
Získané hodnoty objemu neuromelaninu jsme podrobili statistickému zpracování v programu MS Excel. Pro ověření, zdali použitá metoda dokáže rozlišit mezi skupinami pacientů, byla na datech provedena analýza rozptylu ANOVA. Následně byl na řezech oblastí SN, na kterých tato analýza ukázala statisticky významný rozdíl mezi skupinami, proveden Wilcoxonův test. Ten vzájemně porovnal obě metody na shodném řezu a shodné skupině pacientů a ilustroval tak, zdali se provedené metody od sebe liší. U obou testů byla hodnota statistické významnosti zjištěných rozdílů zvolena 0,05.

## 5 Výsledky

Hlavním výsledkem této diplomové práce je samotný proces, který byl vytvořen pro zpracování snímků. Díky krokům popsaným v kapitole 4 jsme z klinických dat získaných po nasnímání pacientů pomocí MRI byli schopni kvantifikovat množství neuromelaninu v neuromelanin-senzitivních sekvencích. Výsledné snímky segmentovaných oblastí jsou představeny níže. Obrázek 5.1 představuje výsledek segmentace při použití anatomické lokalizace a prahu signálu pozadí. Obrázek 5.2 ukazuje výsledek segmentace za použití neuronové sítě U-Net. Jedná se o snímky stejného pacienta. V levé části snímku je vždy obraz NM-MRI senzitivní sekvence, vpravo výsledná oblast po segmentaci. V odstavcích následujících jsou blíže představeny výsledné hodnoty kvantifikace množství neuromelaninu.



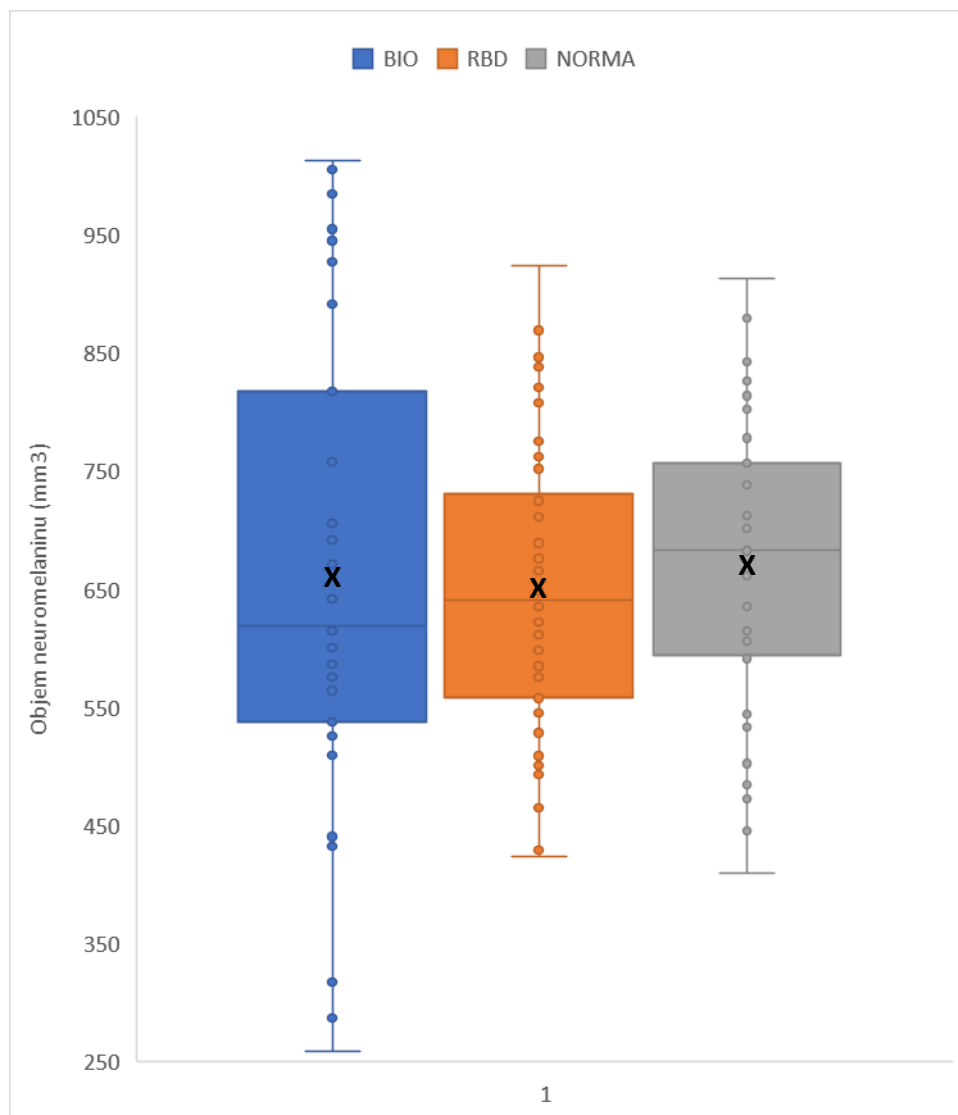
**Obrázek 5.1:** Tři po sobě následující řezy oblastí SN v NM-MRI senzitivním snímku. Zleva kaudální řez, střední a kraniální řez oblastí SN (vlevo). Výsledek segmentace oblastí SN za použití anatomické lokalizace a prahové hodnoty intenzity signálu po manuální korekci hodnot nepříslušících oblastí SN (vpravo).



**Obrázek 5.2:** Tři po sobě následující řezy oblastí SN v NM-MRI senzitivním snímku. Zleva kaudální řez, střední a kraniální řez oblastí SN (vlevo). Výsledek segmentace oblastí SN za použití neuronové sítě U-Net. (vpravo).

Z výsledků kvantifikace jsou jako první prezentovány výsledky získané z kvantifikace množství neuromelaninu bez použití neuronové sítě U-Net. Následně jsou uvedeny výsledky kvantifikace množství neuromelaninu v obrazových datech segmentovaných pomocí neuronové sítě U-Net. Měřeným parametrem byl u všech pacientů objem signálu neuromelaninu v oblasti SN.

Následující graf 5.1 zobrazuje vzájemné porovnání skupin pacientů. Jedná se o celkový objem získaný po segmentaci pomocí anatomické lokalizace a intenzity signálu. Zobrazená data odpovídají poslednímu řádku tabulky 5.1. Skupina označená „BIO“ zahrnuje pacienty trpící Parkinsonovou chorobou, skupina „RBD“ označuje pacienty trpící RBD bez dosavadní přítomnosti PD a skupina „NORMA“ představuje zdravé kontrolní subjekty.



**Graf 5.1:** Porovnání celkového objemu neuromelaninu skupin pacientů při použití segmentace anatomickým atlasem a intenzitou signálu. Kružnice značí jednotlivé subjekty, křížek průměrnou hodnotu a vodorovná čára medián.

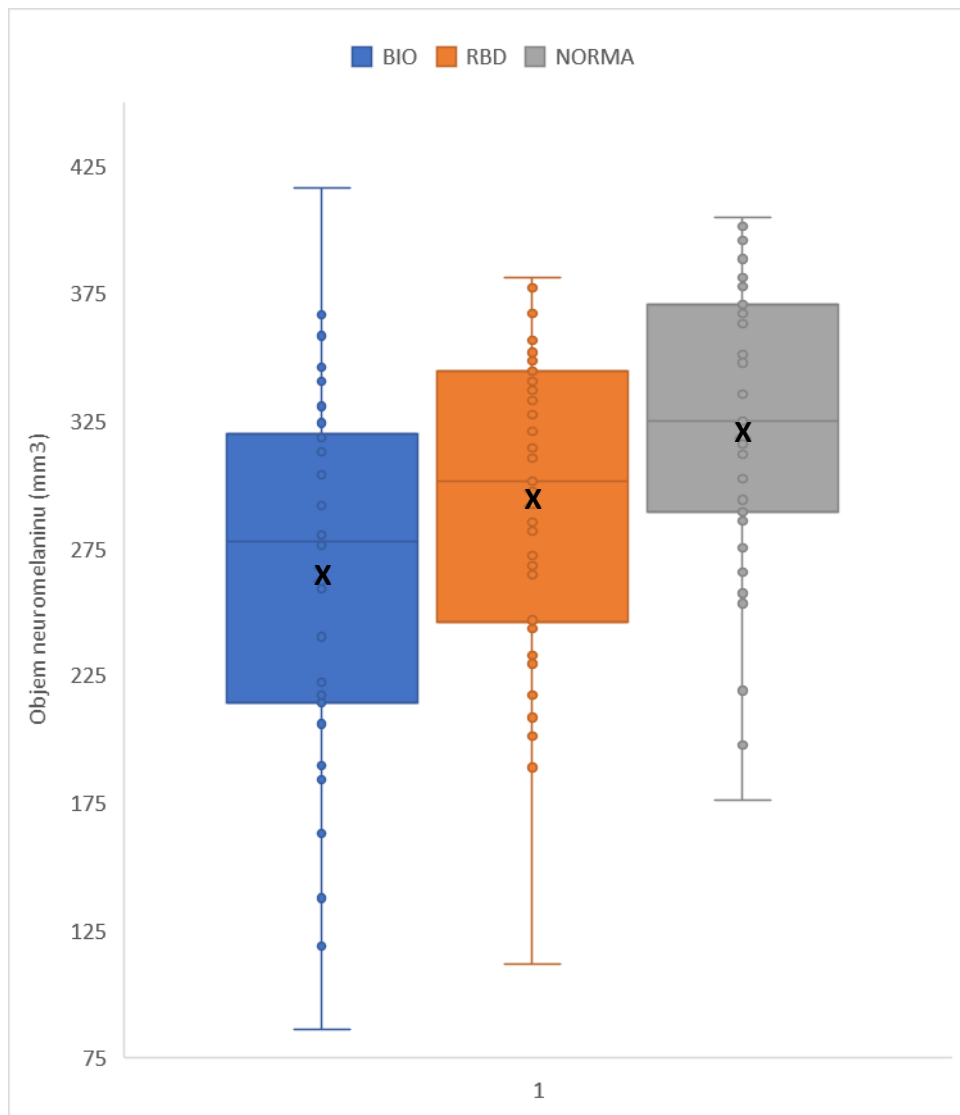
Z grafu je zřetelný rozdíl středních hodnot celkového objemu jednotlivých skupin. Střední hodnota u skupiny BIO odpovídá průměru přibližně 660 mm<sup>3</sup> (medián: 618 mm<sup>3</sup>). Pro skupinu RBD je průměr přibližně 650 mm<sup>3</sup> (medián: 640 mm<sup>3</sup>) a pro skupinu NORMA je průměr zhruba 669 mm<sup>3</sup> (medián: 682 mm<sup>3</sup>). Přesná data a výsledky provedené analýzy rozptylu (ANOVA) pro jednotlivé řezy i celkový objem neuromelaninu nabízí tabulka 5.1.

**Tabulka 5.1:** Výsledné hodnoty kvantifikace množství neuromelaninu a analýzy rozptylu dat při použití segmentace anatomickým atlasem a intenzitou signálu.

	Průměr (mm <sup>3</sup> )			ANOVA
	BIO	RBD	NORMA	p
<b>Řez 1</b>	74,36 (±60,37)	76,75 (±56,12)	49,24 (±42,34)	0,041*
<b>Řez 2</b>	234,59 (±68,38)	244,14 (±50,14)	251,06 (±49,95)	0,451
<b>Řez 3</b>	351,67 (±118,23)	329,90 (±79,51)	369,51 (±73,11)	0,132
<b>Celkový objem</b>	660,63 (±206,82)	650,80 (±122,93)	669,81 (±124,51)	0,847

V tabulce jsou uvedeny průměrné hodnoty množství neuromelaninu skupin pacientů v jednotlivých řezech SN a průměr celkového objemu ve všech řezech v mm<sup>3</sup>. V další části je uvedena hodnota parametru p pro jednotlivé řezy SN a celkový objem. Symbol \* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami pacientů.

Graf 5.2 zobrazuje objem neuromelaninu ve třetím (kraniálním) řezu oblastí SN po segmentaci provedené neuronovou sítí U-Net. Data odpovídají předposlednímu řádku tabulky 5.2. Z grafu je zřetelně viditelný rozdíl mezi jednotlivými skupinami pacientů. Přibližné průměrné hodnoty pro jednotlivé skupiny jsou následující: BIO: 264 mm<sup>3</sup> (medián: 277 mm<sup>3</sup>) RBD: 294 mm<sup>3</sup> (medián: 301 mm<sup>3</sup>) NORMA: 321 mm<sup>3</sup> (medián: 324 mm<sup>3</sup>). Přesné průměrné hodnoty jednotlivých skupin a výsledky analýzy rozptylu dat nabízí tabulka 5.2.



**Graf 5.2:** Porovnání objemu NM ve třetím (kraniálním) řezu oblastí SN u skupin pacientů po segmentaci neuronovou sítí U-Net. Kružnice značí jednotlivé subjekty, křížek průměr a vodorovná čára medián.

**Tabulka 5.2:** Výsledné hodnoty kvantifikace množství neuromelaninu a analýzy rozptylu dat při segmentaci neuronovou sítí U-Net.

	Průměr (mm <sup>3</sup> )			ANOVA
	BIO	RBD	NORMA	p
<b>Řez 1</b>	228,92 (±62,65)	217,20 (±68,43)	185,19 (±57,77)	0,008*
<b>Řez 2</b>	333,76 (±82,66)	337,56 (±66,08)	340,55 (±62,58)	0,917
<b>Řez 3</b>	264,49 (±77,75)	294,40 (±60,51)	321,14 (±56,80)	0,001*
<b>Celkový objem</b>	817,44 (±147,35)	840,54 (±122,01)	837,27 (±111,47)	0,692

V tabulce se nacházejí průměrné hodnoty množství neuromelaninu skupin pacientů v jednotlivých řezech SN a průměr celkového objemu ve všech těchto řezech v mm<sup>3</sup>. Je zde vypočítána směrodatná odchylka a uvedena hodnota parametru p testu rozptylu dat pro jednotlivé řezy SN a celkový objem. Symbol \* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami pacientů.

Na základě dat získaných po analýze rozptylu jsme provedli další porovnání výsledných hodnot. Vzájemně jsme srovnali výsledky obou segmentačních metod na prvním (kaudálním) a třetím (kraniálním) řezu oblasti SN. Pomocí Wilcoxonova testu jsme zjišťovali, zdali se výsledky metod segmentace významně statisticky liší. Výsledek nabízí tabulka 5.3.

**Tabulka 5.3:** Výsledky Wilcoxonova testu na datech prvního a třetího řezu oblastí SN.

	W			p		
	BIO	RBD	NORMA	BIO	RBD	NORMA
<b>Řez 1</b>	800,50	1113,00	943,00	0,005*	0,00001*	0,001*
<b>Řez 3</b>	859,50	1582,00	1328,00	0,027*	0,022*	0,145

Tabulka uvádí parametry W a p Wilcoxonova testu. Byly zvlášť testovány jednotlivé skupiny pacientů pro dané metody segmentace. Symbol \* značí statisticky významné rozdíly mezi metodami segmentace.

## 6 Diskuse

Hlavním výsledkem této diplomové práce je představená metodika zpracování neuromelanin-senzitivních snímků z magnetické rezonance. Díky námi představenému postupu jsme schopni z klinických dat po sérii úprav a zpracování snímků kvantifikovat množství neuromelaninu v oblasti zájmu, tedy v substantia nigra. Příslušný proces, který vedl k výše uvedeným výsledkům, je podrobně popsán v sekci 4 Metodika. Následně jsme námi vytvořený postup aplikovali na dostupná klinická data. Jednalo se o pacienty trpící Parkinsonovou nemocí (skupina BIO), pacienty trpící poruchou REM spánku (RBD) a zdravé kontrolní jedince (NORMA).

Představená metodika splnila hlavní zadání práce, neboť její aplikací na klinická data došlo ke kvantifikaci množství neuromelaninu v substantia nigra. Podrobně lze na výsledné hodnoty nahlédnout do sekce 5 Výsledky. Z grafů srovnávajících jednotlivé skupiny pacientů je zřejmý trend, oddělující skupiny pacientů na základě vypočítaného objemu neuromelaninu. Podle předpokladů, které uvádí odborné články [6] [7] [8], je objem neuromelaninu nejnižší u pacientů trpících PD. Medián skupiny BIO je přibližně  $618 \text{ mm}^3$ . Skupina RBD, která má předpoklady pro rozvoj PD nebo jiných neurodegenerativních onemocnění, je svým mediánem  $640 \text{ mm}^3$  o něco výše a leží mezi skupinou pacientů trpících PD a zdravých kontrol. U té je medián přibližně  $682 \text{ mm}^3$ . Rozestup mezi skupinami je  $22 \text{ mm}^3$  a  $42 \text{ mm}^3$ . Rovnoměrnější rozestup pozorujeme při použití neuronové sítě U-Net. Mezi BIO a RBD je přibližně  $24 \text{ mm}^3$ , mezi RBD a NORMA je pak přibližně  $23 \text{ mm}^3$ .

Ačkoliv se trend výsledků jevil z grafů na první pohled příznivě, po řádném statistickém zpracování se ukázalo, že ne ve všech případech tomu tak skutečně je. Jak je patrné z tabulky 5.1, zobrazující výsledky analýzy rozptylu dat pro objem NM vypočítaný pomocí anatomické a signálové segmentace, statisticky významný rozdíl mezi skupinami pacientů je pouze u prvního (kaudálního) řezu oblastí SN (ANOVA:  $p = 0,041$ ). I tento výsledek považujeme spíše za hraniční. Lepších výsledků bylo dosaženo při segmentaci dat pomocí neuronové sítě (tabulka 5.2). Zde byl statisticky významný rozdíl mezi skupinami pacientů prokázán v prvním i ve třetím řezu oblastí SN. Konkrétně se jedná o hodnoty ANOVA:  $p = 0,008$  pro první (kaudální) řez a  $p = 0,001$  pro třetí (kraniální) řez. Tyto hodnoty již považujeme za solidní a vypovídající.

Nastíněné hodnoty ukazují, že segmentace prováděná částečně manuálně je méně přesná a hůře si poradí ve snímcích s větším množstvím šumu. Neschopnost oddělit skupiny pacientů na základě kaudálního řezu přikládáme především skutečnosti, že spodní hranice SN se obtížně definuje a v některých případech byl signál v tomto řezu dokonce nulový, i když na základě pohledu odborníka byla SN viditelná. Naopak v kraniálním řezu oblastí SN je situace příznivá pro neuronovou síť. Snímky v tomto řezu

jsou ve valné většině případů zašuměné a pro lidské oko je těžší určit, zdali oblast označená jako SN touto oblastí skutečně je a je tak možné, že jsou do výpočtů zahrnuty i malé části, které již zcela nenáleží SN a mohou tak zkreslit výsledek. Neuronová síť svou povahou tento problém odstraňuje a je schopna na základě této oblasti odlišit jednotlivé skupiny pacientů s poměrně vysokou spolehlivostí.

Po zjištění schopnosti jednotlivých metod segmentace rozlišit skupiny pacientů jsme přistoupili k porovnání metod mezi sebou. Do srovnání jsme zahrnuli z každé metody pouze takový soubor dat, na němž byla prokázána schopnost odlišit skupiny pacientů. Jednalo se tak o vzájemné porovnání metod při segmentaci na kaudálním a kraniálním řezu oblasti SN. Z tohoto porovnání vyšla statisticky nevýznamná pouze hodnota při srovnání superiorního řezu u zdravých jedinců (NORMA) s hodnotou  $p = 0,145$ . Všechny ostatní porovnávané skupiny a řezy se statisticky liší s hodnotami od  $p = 0,00001$  až po  $p = 0,027$ . Z toho je zřejmé, že rozdíl mezi použitými metodami je skutečný a největšího rozdílu mezi metodami je dosaženo u kraniálního řezu skupiny RBD.

Rozsah mezi jednotlivými pacienty v rámci jedné skupiny je poměrně značný. Směrodatná odchylka se dle výsledků pohybuje v okolí hodnoty  $\pm 70$ . Tento fenomén může být způsoben faktem, že i v rámci jedné skupiny pacientů jsou přítomní jedinci s různým stádiem a závažností onemocnění. Rovněž by k takto velkému rozsahu mohla přispět delší doba, po kterou byla data shromažďována. I přes velkou snahu o zachování standardizace během snímání MRI na klinickém pracovišti bylo při prohlížení jednotlivých snímků zřejmé, že v některých ojedinělých případech nebylo zvolených standardů zcela dosaženo. Dalším faktorem, který by mohl tento fakt ovlivnit, je věk. Ve skupině trpící PD byl nejnížší věk 50,5 roku, nejvyšší 75,6 roku a průměr 63,1 roku. Pro skupinu RBD byl nejnížší věk 56,3, nejvyšší 78,7 a průměr 67,8 roku. U kontrolní skupiny byl nejnížší věk 50,8, nejvyšší 81,3 a průměr 64,5 roku. Pohlaví pacientů by dle studií nemělo mít na výsledný úbytek neuromelaninu vliv [4] [6]. Rovněž tak rasa by v našem souboru pacientů neměla hrát roli, neboť se ve skupině nevyskytovali zástupci jiné než europoidní rasy.

V následujících odstavcích se více zaměříme na námi vytvořený postup a podrobně jej srovnání s postupy vybraných vědeckých týmů, které se rovněž problematikou kvantifikace neuromelaninu v mozku v minulosti zabývaly. Jejich přístupy a rovněž tak výsledky se poměrně liší. Proto je každému z týmů věnována vlastní část.

Ioannis Ugo Isaias a jeho tým prováděl studii na souboru 18 pacientů s diagnostikovanou PD a 18 kontrolních pacientech. Pro objasnění změn v SN byla použita kombinace NM-MRI a SPECT. Jako ukazatel změny NM v SN byla určena změna objemu. K zpracování snímků byl využit 3D slicer software. Zpracování se týkalo snímků obsahujících SN, nejčastěji 4 po sobě následující řezy. [16]

Při zpracování byly nejprve ručně vytyčeny kruhové ROI o průměru 4 mm v oblasti crus cerebri na obou stranách. Pro každý snímek byla následně definována binární mapa



voxelů mesencephalonu se signální intenzitou větší, než součet střední intenzity a trojnásobku standardní odchylky pozadí. Následně proběhla identifikace SN v binární mapě. Proces vymezení ROI byl opakován 4x k minimalizaci možné chyby. Objem NM v SN byl vypočítán jako celkový počet voxelů ve vymezené oblasti vynásobený jejich objemem. Rozhodujícím faktorem pro vymezení oblasti zájmu byla v této studii intenzita signálu NM v SN vůči pozadí. [16]

Hlavní rozdíl mimo využití jiného software spočívá v celkovém přístupu ke kvantifikaci. Ve výše představené práci byly kroky prováděny ručně. Je zde dle našeho názoru větší prostor pro chybu a nepozornost vyhodnocujícího pracovníka. Proto jsme se v naší práci snažili o větší autonomii procesu zpracování. V naší práci jsme se při lokalizaci SN nespolehali pouze na hodnotu signálu, protože taková metoda může být zavádějící. Pro vyšší přesnost jsme ji doplnili o znalost alespoň přibližné anatomické lokalice SN na základě tkáňového atlasu a tuto lokalizaci pak upřesnili použitím prahové hodnoty signálu. Vzhledem k tomuto postupu nebylo nutné pro stanovení hodnoty signálu pozadí použít takové množství ROI. I když připouštíme, že použití většího množství by mohlo získanou hodnotu signálu pozadí lehce zpřesnit.

Stefan T. Schwarz a kolektiv provedli studii zahrnující 10 pacientů s diagnostikovanou PD (6 v raném stádiu, 4 v pozdním) a 12 kontrolních pacientů. Pro zpracování snímků byl využit Jim 3.0 Software. NM-MRI snímky byly individuálně vyrovnány podle anatomické pozice splenia a genus corpus callosum. Tloušťka řezu byla 2,5 mm. [17]

Oblasti zájmu (ROI) byly ve snímcích určeny ručně v oblasti mesencephalonu na dvou po sobě následujících řezech zobrazujících SN. Následně byla ručně vyznačena oblast okolí SN pro zjištění signálu pozadí a jeho průměrné odchylky. Oblast SN byla vybrána za základě počtu voxelů v mesencephalické ROI s intenzitou signálu vyšší než součet střední hodnoty pozadí a trojnásobku standardní odchylky. Tímto postupem byly odvozeny konečné oblasti s vysokou intenzitou signálu. Pro určení kontrastu SN byly vytyčeny malé kruhové ROI v oblasti s nejvyšším signálem NM v SN. Střední hodnoty byly normalizovány se středními hodnotami pozadí. Relativní odchylka signálu pozadí byla odvozena jako poměr standardní odchylky a průměru signálu pozadí. [17]

Oproti této práci se naše liší opět především v množství manuálních zásahů do procesu. Ve výše uvedeném postupu je většina kroků opět prováděna ručně, což může vést k rozdílným výsledkům. Vedle manuálního určení oblasti se pak stanovení signálu NM opírá opět pouze o prahovou hodnotu signálu, což je částečně ve shodě s naším postupem. V naší práci jsme se nezabývali kontrastem signálu v rámci SN.

Paula Trujillo a kolektiv zahrnuli do studie 16 pacientů s PD a 8 zdravých kontrolních pacientů. Studie byla zaměřena na měření změny makromolekulární hustoty (qMT) SN. Rozlišení pacientů s PD bylo provedeno na základě rozdílného pool size ratio (PSR). Snímky byly koregistrovány pomocí FLIRT package (FSL v5.0.2.1, FMRIB,

Oxford, UK) a oříznuty na oblast středního mozku. Všechny ostatní kroky byly provedeny v MATLAB. Intenzita signálu byla normalizována podle referenčních snímků. ROI byly určeny ručně, umístěním 3 kruhových ROI pozadí pro 3 po sobě následující řezy s viditelnými SN. Následně byly vybrány voxely ve středním mozku s intenzitou větší než střední + 3x standardní odchylka pozadí. Stejně jako u Schwarz a kol. [21]

Tato studie se od všech ostatních lišila v zaměření se na zcela jiné parametry získané z MRI. Nicméně následný postup použitý pro určení oblasti zájmu byl totožný s předešlými pracemi. I přes zaměření na jiné parametry, než je změna objemu NM u pacientů trpících PD oproti zdravým jedincům, je dle výsledků této studie možné skupiny odlišit. Jediným parametrem, který se u skupin lišil, byl pool size ratio (PSR).

Tým Gabriela Castellanose provedl studii na 36 pacientech s PD a 37 zdravých pacientech. Zjišťován byl úbytek neuromelaninu v SN i LC a k lokalizaci byl využit referenční atlas. NM-MRI sekvence byly nahrávány čtyřikrát po sobě z důvodu minimalizace pohybových artefaktů. Následně byly získané sady sekvencí NM-MRI vyrovnány podle příslušného T1 obrazu. [18]

Vymezení oblastí obsahujících neuromelanin bylo provedeno automaticky pomocí předem připraveného referenčního atlasu. Atlas byl sestaven ze 13 ručně vybraných NM-MRI snímků zdravé populace. Ve snímcích od zdravých jedinců byla ručně vyznačena oblast SN. Vyznačená oblast byla přenesena na snímky pacientů s PD. Na každý snímek pacienta byl referenční atlas aplikován nezávisle. Pro každého pacienta bylo vytvořeno přibližně 13 snímků, které se následně přepočítaly do jednoho na základě největší shody pro každý pixel ze všech 13 snímků. [18]

Registrace mezi snímkem atlasu a pacienta byla provedena pomocí open-source software Elastix ve 3 krocích. Nejprve proběhlo hrubé srovnání snímků podle lebky. Následně byl u snímků nalezen střed a byl proveden automatický ořez na rozměr 375x350 voxelů kolem mozkového kmene. V druhém kroku došlo k vyrovnání (rigid transformation) podle mozkového kmene. V posledním kroku došlo k dorovnání snímků (B-spline non-rigid transformation) pro zvýšení lokální přesnosti. Pro výpočet objemu NM v SN byly zahrnuty všechny voxely, které po normalizaci vykazovaly vyšší intenzitu než 12 % oproti pozadí. SN prokázala vyšší diagnostickou přesnost oproti LC. [18]

Poslední zde představená studie a její postup se nejvíce shoduje s naší prací. Je zde rovněž kladen důraz na odstranění manuálních kroků během zpracování snímků a tím eliminaci možných chyb. V našem případě byly NM-MRI senzitivní sekvence snímány sedmkrát pro ještě lepší minimalizaci pohybových artefaktů. Rovněž tak byly NM senzitivní snímky vyrovnány podle T1 obrazu a pro segmentaci SN byl použit tkáňový atlas. V našem případě byl tento atlas robustnější, protože nebyl tvořen pouze 13 pacienty, ale jednalo se o 96 zdravých jedinců. [34] Výhodou našeho zpracování je použití software MATLAB, který umožňuje jak práci s klinickými daty, tak i následné úpravy snímků

a početní úkony. Rovněž lze na získané snímky poté aplikovat neuronovou síť U-Net a získat ještě další a jak se prokázalo také přesnější variantu segmentace snímků.

Jako charakteristická veličina byl shodně použit objem NM a pro jeho výpočet opět brány v potaz voxely přesahující prahovou hodnotu pozadí. I vzhledem k zjištění této studie jsme při segmentaci přistoupili pouze k segmentování SN a vynechali jsme LC. Ve shodě s ostatními se totiž uvádí, že diagnostická přednost je lepší u SN než u LC.

Jak je patrné z výše uvedeného přehledu některých doposud provedených studií, metodologie není jednotná a rovněž se velmi liší počet pacientů zahrnutých do konkrétních studií. Zatím nebyl ustanoven optimální postup pro zpracování neuromelanin-senzitivních MRI snímků. Většina metod se spoléhá na plně ruční identifikaci oblastí neuromelaninu v substantia nigra. Vzniká tak poptávka po takovém procesu zpracování snímků, který by do jisté míry usnadnil zpracování dat, ale současně umožnil manuální vstup do tohoto procesu a případnou korekci hodnotícího lékaře. Výše uvedené studie se spoléhaly na manuální lokalizaci substantia nigra, popřípadě na lokalizaci na základě intenzity signálu. Ideálním řešením se jeví kombinace obou přístupů. Z důvodu drobných anatomických variací u konkrétních pacientů, a ne vždy zcela standardizované podobě snímků, získaných z klinického pracoviště, vyplývá potřeba pro zachování manuálního vstupu hodnotícího lékaře do celého procesu. Zcela automatizovaný proces může v některých případech zahrnout do oblasti odpovídající neuromelaninu v substantia nigra i části, které již odpovídají jiné struktuře a tím ovlivnit výsledek kvantifikace.

Ideální kombinací se s z našeho pohledu jeví spojení obou námi použitých přístupů k segmentaci. Částečně manuálně prováděný postup je sice méně přesný, ale lze ho velice dobře využít jako základ pro učení neuronové sítě. Ta po správném nastavení parametrů dokáže z připravených snímků oblasti SN segmentovat přesněji a s lepšími výsledky, než jakých dosahuje částečně manuální segmentace. Rovněž je tato segmentace prováděna automaticky a bez dalšího zásahu hodnotícího lékaře a dokáže tak poměrně značně uspořit čas. Jako jedinou nevýhodou z praktického hlediska se jeví lehce vyšší výpočetní nároky na provoz neuronové sítě. Tento faktor však lze dle našeho názoru v současné době považovat za marginální.

Přehled provedených prací, které slouží pro porovnání s naší prací a jejich parametry, nabízí tabulka 6.1.

**Tabulka 6.1:** Přehled užívaných metod zpracování obrazu.

Vedoucí pracovník	Počet pacientů	Výběr ROI	Určení oblasti NM	Hodnocení NM	Software
Isaias	18+18	Ručně	Práh intenzity	Objem NM	3D slicer
Schwarz	10+12	Ručně	Práh intenzity	Velikost SN	Jim 3.0
Trujillo	16+8	Ručně	Práh intenzity	Změna PSR	FLIRT package, MATLAB
Castellanos	36+37	Automaticky atlas	Automaticky atlas	Objem NM	MATLAB, Elastix
	36+47+39	Automaticky atlas	Automaticky atlas + intenzita, U-Net	Objem NM	MATLAB

V tabulce 6.1 je uveden počet PD a zdravých pacientů zahrnutých do studie, metoda určení oblasti zájmu, způsob charakterizace oblastí signálu neuromelaninu, veličina hodnotící množství neuromelaninu a použitý software. Jednotlivé týmy jsou v pořadí odpovídajícím výše popsaným postupům. Naše práce je zahrnuta jako poslední, počty pacientů vyjadřují počet pacientů s PD, RBD a zdravých kontrol.

Limity této práce spatřujeme především v manuální selekci řezů obsahujících SN a při manuální korekci hodnot jasně nepatřících do oblasti SN a nereprezentujících neuromelanin. I přes přesnost kombinace tkáňového atlasu jako anatomické lokalizace s prahem intenzity signálu není výsledná lokalizace zcela stoprocentní. Pro konečné doladění těchto kroků je stále zapotřebí zkušeného lékaře, který má s danou problematikou zkušenosti. Na druhou stranu je dle našeho názoru v zájmu věci, aby byl do procesu umožněn stále lidský zásah, neboť variabilita lidského těla může být mezi jednotlivými pacienty poměrně výrazná. I tato ne zcela dokonalá lokalizace je pro hodnotícího lékaře značným přínosem. Díky ní je ušetřeno provádění mnoha rutinních kroků náročných na pozornost při manuální segmentaci. Dalším přínosem spíše pro klinický význam této práce by bylo zahrnutí vyššího počtu pacientů do zkoumaného souboru. Rovněž by vyšší počet pacientů představoval silnější základ a více dat pro trénink neuronové sítě. I přes to považujeme tento soubor v součtu 122 pacientů za velice solidní.

Další směřování práce by jistě bylo možné zaměřit na zpřesnění automatické lokalizace signálu NM v oblasti SN a pokusit se odstranit zbývající manuální zásahy hodnotícího lékaře. Zde je však dle našeho názoru nutná jistá obezřetnost a dostatečná verifikace případného automatického postupu na velkém množství dat, neboť z nám dostupných dat pacientů je variace mezi jednotlivými případy poměrně značná. Tento nedostatek do jisté míry odstraňuje použití neuronové sítě U-Net, která výsledky částečně manuální segmentace využívá jako základ pro své učení. Přesnější výstupy částečně manuální segmentace by tak v konečném důsledku mohly vést k ještě přesnější práci neuronové sítě a dokonalejší segmentaci. I tak ale považujeme námi dosažené výsledky

segmentace za velmi solidní a dobře použitelné v klinické praxi pro hodnocení objemu neuromelaninu v SN.

Klinický význam práce spatřujeme především ve snížení zátěže pro hodnotícího lékaře. Systém vyžaduje pouze několik zákroků z jeho strany a většinu rutinní práce odstraňuje. Jak i naznačují výsledky po aplikaci na skupině pacientů, popsáný systém zpracování snímků dokáže odlišit pacienty z jednotlivých skupin trpících Parkinsonovou chorobou, poruchou REM spánku a zdravé kontrolní pacienty. Je tak možné ho využít pro zpracování dat získaných v budoucnu a díky povaze námi vytvořených skriptů je vhodný pro práci s větším množstvím dat najednou. Zásadním přínosem v klinické praxi je pak pro pacienty trpící RBD. Tato skupina pacientů je v silném ohrožení rozvoje PD nebo jiné neurodegenerativní nemoci [7] a v současné době pro ně v praxi neexistuje alespoň částečně spolehlivý hodnotící systém stavu tohoto onemocnění. Klinická diagnostika PD se mimo jiné spoléhá na fyzické příznaky, které však mohou být způsobeny i jiným onemocněním nebo syndromem. Jako další je využíváno sledování úbytku dopaminu v mozku pomocí radiofarmak. Tato vyšetření však sebou nesou radiační zátěž pro pacienta. Existuje předpoklad, že úbytek neuromelaninu předchází úbytku dopaminu v mozku. [35] Zobrazení mozku pomocí MRI a následná kvantifikace množství neuromelaninu tak nabízí poměrně jednoduchý a neinvazivní způsob jakým lze toto onemocnění, když ne přímo odhalit alespoň sledovat jeho vývoj a přispět tak k lepší diagnostice a v budoucnosti snad i léčbě pacientů trpících jak RBD, tak i PD.

## 7 Závěr

Hlavním cílem této diplomové práce bylo vytvoření postupu, který bude schopný z klinických dat kvantifikovat množství neuromelaninu v substantia nigra. Tento hlavní cíl jsem si během práce rozdělil na několik podcílů. Prvním z nich bylo provést předzpracování, registraci a normalizaci NM-MRI senzitivních snímků. Tento cíl byl splněn a po provedení postupu popsaného v části 4.1.1 a 4.1.2 jsem upravil klinická obrazová data do podoby, která umožňovala další práci na kvantifikaci.

Druhým cílem bylo lokalizovat SN dle jejich anatomické polohy a současně dle intenzity signálu na NM-MRI senzitivních snímcích. I tento cíl jsem úspěšně splnil a postup, kterým bylo docíleno lokalizace a segmentace, je popsán v částech 4.1.3 až 4.1.6. Díky splnění tohoto cíle jsem získal jasný obrys oblasti SN obsahující neuromelanin a bylo možné přikročit k vlastnímu výpočtu množství NM. Tento problém byl třetím cílem práce. Jako parametr popisující množství NM byl zvolen objem NM v oblasti SN. Postup kvantifikace popisuje část 4.2.

Čtvrtým cílem práce byla aplikace neuronové sítě pro segmentaci oblastí NM. Pro její učení byla využita data získaná z předchozího postupu a následně byla tato síť aplikována na klinická data. Provedená segmentace byla úspěšná, a i tento cíl byl splněn. Výsledkem byla oblast NM, na které byla rovněž provedena kvantifikace množství NM. Postup práce s neuronovou sítí popisuje část 4.3. Posledním vytyčeným cílem bylo porovnání množství NM u jednotlivých skupin pacientů. Mnou provedená kvantifikace dosahuje trendů výsledků odpovídajících studované literatuře.

Všechny cíle vytyčené na začátku práce jsem splnil. Výsledky provedené kvantifikace sledují trendy studované literatury, a považuji proto představený postup za úspěšný. Ať už se jedná o kvantifikaci na základě segmentace pomocí anatomické lokalizace a intenzity signálu nebo o segmentaci pomocí neuronové sítě, která se ukázala jako přesnější. Postup by bylo vhodné ověřit na větším množství pacientů. Nicméně se domnívám, že tento postup je možné po drobných úpravách aplikovat v praxi pro hodnocení množství neuromelaninu v mozku člověka.

## Seznam použité literatury

- [1] GOLDMAN, J.G. a S. HOLDEN. Parkinson's Disease. *Encyclopedia of Mental Health* [online]. Elsevier, 2016, s. 242-248 [cit. 2019-03-03]. DOI: 10.1016/B978-0-12-397045-9.00271-8. ISBN 9780123977533. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123970459002718>
- [2] ZECCA, Luigi, D. TAMPELLINI, M. GERLACH, P. RIEDERER, R. FARIELLO a D. SULZER. Substantia nigra neuromelanin: structure, synthesis, and molecular behaviour. *Journal of Clinical Pathology*. 2001, **54**(6).
- [3] HAINING, RobertL a Cindy ACHAT-MENDES. Neuromelanin, one of the most overlooked molecules in modern medicine, is not a spectator. *Neural Regeneration Research*. 2017, **12**(3). DOI: 10.4103/1673-5374.202928. ISSN 1673-5374. Dostupné také z: <http://www.nrronline.org/text.asp?2017/12/3/372/202928>
- [4] KALIA, Lorraine a Anthony LANG. Parkinson's disease. *The Lancet* [online]. 2015, **386**(9996), 896-912 [cit. 2019-03-03]. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61393-3. ISSN 01406736. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673614613933>
- [5] Dopamine. In: *The Science of Parkinson's* [online]. USA, 2018 [cit. 2019-04-04]. Dostupné z: <https://scienceofparkinsons.com/dopamine/>
- [6] MONTPLAISIR, Jacques. Abnormal motor behavior during sleep. *Sleep Medicine*. 2004, **5**(1), 34-34. ISSN 1389-9457.
- [7] ST LOUIS, Erik a Bradley BOEVE. REM Sleep Behavior Disorder: Diagnosis, Clinical Implications, and Future Directions. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. 2017, **92**(11), 1723-1736 [cit. 2019-03-09]. DOI: 10.1016/j.mayocp.2017.09.007. ISSN 00256196. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619617306882>
- [8] MONTPLAISIR, Jacques. Abnormal motor behavior during sleep. *SLEEP MEDICINE* [online]. 2004, **5**(1), 31-34 [cit. 2019-03-09]. DOI: 10.1016/j.sleep.2004.04.000. ISSN 1389-9457.
- [9] KIM, Yoon, Young KIM, Eun PARK, Chae SHIN, Han-Joon KIM a Beomseok JEON. REM sleep behavior disorder portends poor prognosis in Parkinson's disease: A systematic review. *Journal of Clinical Neuroscience*.

2017. DOI: 10.1016/j.jocn.2017.09.019. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0967586817316946>
- [10] ST LOUIS, Erik a Bradley BOEVE. REM Sleep Behavior Disorder: Diagnosis, Clinical Implications, and Future Directions. *Symposium on Neurosciences*. Mayo Clin Proc., 2017, **92**(11). DOI: 10.1016/j.mayocp.2017.09.007. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619617306882>
- [11] SMITH, Y. a J.G. MASILAMONI. The Substantia Nigra ☆. *Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology* [online]. Elsevier, 2017, s. 189-192 [cit. 2019-03-09]. DOI: 10.1016/B978-0-12-809324-5.00825-7. ISBN 9780128093245. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128093245008257>
- [12] NAOI, M., W. MARUYAMA a P. RIEDERER. Melanins☆. *Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology* [online]. Elsevier, 2017, s. 169-171 [cit. 2019-03-09]. DOI: 10.1016/B978-0-12-809324-5.00667-2. ISBN 9780128093245. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128093245006672>
- [13] POLITIS, Marios. Neuroimaging in Parkinson disease: from research setting to clinical practice. *Nature Reviews Neurology* [online]. 2014, **10**(12), 708-722 [cit. 2019-03-09]. DOI: 10.1038/nrneurol.2014.205. ISSN 1759-4758. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nrneurol.2014.205>
- [14] BARBER, Thomas, Johannes KLEIN, Clare MACKAY a Michele HU. Neuroimaging in pre-motor Parkinson's disease. *NeuroImage: Clinical* [online]. 2017, **15**, 215-227 [cit. 2019-03-09]. DOI: 10.1016/j.nicl.2017.04.011. ISSN 22131582. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221315821730089X>
- [15] OHTSUKA, Chigumi, Makoto SASAKI, Kanako KONNO, Kanako KATO, Junko TAKAHASHI, Fumio YAMASHITA a Yasuo TERAYAMA. Differentiation of early-stage parkinsonisms using neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging. *Parkinsonism and Related Disorders*. 2014. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2014.04.005. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1353802014001461>
- [16] ISAIAS, Ioannis, Paula TRUJILLO, Paul SUMMERS, Giorgio MAROTTA, Luca MAINARDI, Gianni PEZZOLI, Luigi ZECCA a Antonella COSTA. Neuromelanin Imaging and Dopaminergic Loss in Parkinson's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2016, **8**, -. DOI: 10.3389/fnagi.2016.00196. ISSN 1663-



4365. Dostupné také z:  
<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fnagi.2016.00196/abstract>

- [17] SCHWARZ, Stefan, Timothy RITTMAN, Vamsi GONTU, Paul MORGAN, Nin BAJAJ a Dorothee AUER. T1-Weighted MRI shows stage-dependent substantia nigra signal loss in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2011, **26**(9), 1633-1638. DOI: 10.1002/mds.23722. ISSN 08853185. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mds.23722>
- [18] CASTELLANOS, Gabriel, María FERNÁNDEZ-SEARA, Oswaldo LORENZO-BETANCOR et al. Automated Neuromelanin Imaging as a Diagnostic Biomarker for Parkinson's Disease. *Movement Disorders*. 2015, **30**(7), 945-952. DOI: 10.1002/mds.26201. ISSN 08853185. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mds.26201>
- [19] MATLAB. *MathWorks* [online]. United States, 2019 [cit. 2019-03-14]. Dostupné z: <https://www.mathworks.com/products/matlab.html>
- [20] Introduction. *SPM* [online]. London, 2018 [cit. 2019-03-14]. Dostupné z: <https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>
- [21] TRUJILLO, Paula, Paul SUMMERS, Alex SMITH, Seth SMITH, Luca MAINARDI, Sergio CERUTTI, Daniel CLAASSEN a Antonella COSTA. Pool size ratio of the substantia nigra in Parkinson's disease derived from two different quantitative magnetization transfer approaches. *Neuroradiology*. 2017, **59**(12), 1251-1263. DOI: 10.1007/s00234-017-1911-2. ISSN 0028-3940. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00234-017-1911-2>
- [22] FOSTER, Brent, Ulas BAGCI, Awais MANSOOR, Ziyue XU a Daniel MOLLURA. A review on segmentation of positron emission tomography images. *Computers in Biology and Medicine* [online]. 2014, **50**, 76-96 [cit. 2019-04-02]. DOI: 10.1016/j.compbiomed.2014.04.014. ISSN 00104825. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010482514001000>
- [23] GONZÁLEZ-VILLÀ, Sandra, Arnau OLIVER, Sergi VALVERDE, Liping WANG, Reyer ZWIGGELAAR a Xavier LLADÓ. A review on brain structures segmentation in magnetic resonance imaging. *Artificial Intelligence in Medicine* [online]. 2016, **73**, 45-69 [cit. 2019-04-02]. DOI: 10.1016/j.artmed.2016.09.001. ISSN 09333657. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0933365716301154>
- [24] ALJABAR, Paul, R. HECKEMANN, Alexander HAMMERS, Joseph HAJNAL a Daniel RUECKERT. Classifier Selection Strategies for Label Fusion Using Large Atlas Databases. AYACHE, Nicholas, ed., Sébastien OURSELIN,

- ed. a Anthony MAEDER, ed., Nicholas AYACHE, Sébastien OURSELIN, Anthony MAEDER. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2007* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007, s. 523-531 [cit. 2019-04-02]. Lecture Notes in Computer Science. DOI: 10.1007/978-3-540-75757-3\_64. ISBN 978-3-540-75756-6. Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-75757-3\\_64](http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-75757-3_64)
- [25] Neuronové sítě. *Elektronické studijní materiály* [online]. Brno, 2019 [cit. 2019-04-27]. Dostupné z: [https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz\\_cast.pl?cast=21471](https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz_cast.pl?cast=21471)
- [26] SCHMIDHUBER, Jürgen. Deep learning in neural networks: An overview. *Neural Networks* [online]. 2015, **61**, 85-117 [cit. 2019-03-19]. DOI: 10.1016/j.neunet.2014.09.003. ISSN 08936080. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0893608014002135>
- [27] VÁZQUEZ, Favio. Deep Learning made easy with Deep Cognition. In: *Medium* [online]. USA, 2017 [cit. 2019-04-04]. Dostupné z: [https://cdn-images-1.medium.com/max/1600/1\\*dnvGC-PORSoCo7VXT3PV\\_A.png](https://cdn-images-1.medium.com/max/1600/1*dnvGC-PORSoCo7VXT3PV_A.png)
- [28] SELVIKVÅG LUNDERVOLD, Alexander a Arvid LUNDERVOLD. An overview of deep learning in medical imaging focusing on MRI. *Zeitschrift für Medizinische Physik* [online]. 2018 [cit. 2019-04-02]. DOI: 10.1016/j.zemedi.2018.11.002. ISSN 09393889. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939388918301181>
- [29] KARN, Ujjwal. An Intuitive Explanation of Convolutional Neural Networks. In: *The data science blog* [online]. 2016 [cit. 2019-04-09]. Dostupné z: <https://ujjwalkarn.me/2016/08/11/intuitive-explanation-convnets/>
- [30] GRONDMAN, Ivo, Lucian BUSONIU, Gabriel LOPES a Robert BABUSKA. A Survey of Actor-Critic Reinforcement Learning: Standard and Natural Policy Gradients. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, Part C (Applications and Reviews)* [online]. 2012, **42**(6), 1291-1307 [cit. 2019-03-19]. DOI: 10.1109/TSMCC.2012.2218595. ISSN 1094-6977. Dostupné z: <http://ieeexplore.ieee.org/document/6392457/>
- [31] Úvod do neuronových sítí. *StatSoft* [online]. Praha, 2013 [cit. 2019-04-30]. Dostupné z: [http://www.statsoft.cz/file1/PDF/newsletter/2013\\_02\\_05\\_StatSoft\\_Neuronove\\_site\\_linky.pdf](http://www.statsoft.cz/file1/PDF/newsletter/2013_02_05_StatSoft_Neuronove_site_linky.pdf)
- [32] RONNEBERGER, Olaf, Philipp FISCHER a Thomas BROX. U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation. NAVAB, Nassir,

ed., Joachim HORNEGGER, ed., William M. WELLS, ed. a Alejandro F. FRANGI, ed., Nassir NAVAB, Joachim HORNEGGER, William WELLS, Alejandro FRANGI. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2015* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2015, s. 234-241 [cit. 2019-03-28]. Lecture Notes in Computer Science. DOI: 10.1007/978-3-319-24574-4\_28. ISBN 978-3-319-24573-7. Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-24574-4\\_28](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-24574-4_28)

- [33] TSANG, Sik-Ho. Review: U-Net (Biomedical Image Segmentation). In: *Medium* [online]. USA, 2018 [cit. 2019-04-04]. Dostupné z: [https://cdn-images-1.medium.com/max/1000/1\\*O2NbipwBOdTMtj7ThBNTpq.png](https://cdn-images-1.medium.com/max/1000/1*O2NbipwBOdTMtj7ThBNTpq.png)
- [34] LORIO, S., S. FRESARD, S. ADASZEWSKI et al. New tissue priors for improved automated classification of subcortical brain structures on MRI. *NeuroImage* [online]. 2016, **130**, 157-166 [cit. 2019-04-11]. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2016.01.062. ISSN 10538119. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811916000926>
- [35] ZUCCA, Fabio A., Juan SEGURA-AGUILAR, Emanuele FERRARI et al. Interactions of iron, dopamine and neuromelanin pathways in brain aging and Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology* [online]. 2017, **155**, 96-119 [cit. 2019-05-07]. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2015.09.012. ISSN 03010082. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030100821500101X>

## Příloha A: Obsah přiloženého DVD

DVD přiložené k této diplomové práci obsahuje následující soubory:

- klíčová slova
- abstrakt
- zadání diplomové práce
- kompletní diplomovou práci
- skripty umožňující kvantifikaci neuromelaninu z obrazových dat
- vzorek anonymizovaných dat pacientů ve formátu NIfTI (.nii)
- kompletní výsledné hodnoty objemu neuromelaninu všech pacientů

Přiložené skripty jsou očíslované podle pořadí, v jakém je nutné je spustit pro úspěšné zpracování snímků. Jedná se o skripty začínající zkratkou RBD pro zpracování pomocí anatomického atlasu a intenzity signálu a skripty začínající zkratkou NS pro zpracování pomocí neuronové sítě. Nejprve je data nutné zpracovat pomocí skriptů RBD, neboť jejich výsledek slouží jako vstup pro neuronovou síť. Přiložená data jsou již ve formátu NIfTI z důvodu zachování anonymity pacientů. Pro zpracování těchto přiložených dat postačuje začít proces zpracování skriptem RBD04aRealign. Množství přiložených dat pacientů je redukováno z důvodu kapacity datového nosiče. Z každé skupiny je vybráno 16 pacientů.

Ve všech skriptech je zapotřebí zkontrolovat, zdali na začátku obsahují adresářovou cestu. Pokud ano, je nezbytné tuto konkrétní cestu upravit dle aktuálního umístění zpracovávaných souborů. Ve všech skriptech, kde je to zapotřebí, jsou tyto adresářové cesty vyplněny ilustrační cestou, kterou je nutné nahradit. Před spuštěním skriptu RBD06Segmentace je nezbytné upravit mimo adresářové cesty ve skriptu samotném také adresářovou cestu ve skriptu „segmentation“, umístěném ve složce SPMbatches. Adresářová cesta musí odkazovat na složku Templates a soubor „TPM\_Lorio\_Draganski.nii“. Skripty jsou koncipované pro práci s daty jednotlivých skupin pacientů. Z toho důvodu jsou v některých skriptech v prvních řádcích specifikovány adresáře pacientů začínající zkratkou RBD, BIO nebo NORMA. Tyto zkratky je zapotřebí také upravit podle příslušné skupiny pacientů, kterou chceme zpracovávat.