

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290608 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.08.10

(22) Дата подачи заявки
2020.08.17

(51) Int. Cl. *G01N 33/68* (2006.01)
A61B 5/055 (2006.01)
A61B 5/00 (2006.01)
G01N 33/00 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
G01R 33/48 (2006.01)

(54) НЕЙРОМЕЛАНИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ МРТ ДЛЯ ОЦЕНКИ БОЛЕЗНИ
ПАРКИНСОНА

(31) 62/889,300

(32) 2019.08.20

(33) US

(86) PCT/US2020/046686

(87) WO 2021/034770 2021.02.25

(71) Заявитель:

ТЕРРАН БАЙОСАЙЕНСИЗ, ИНК.;
ДЗЕ ТРАСТИЗ ОФ КОЛАМБИЯ
ЮНИВЕРСИТИ ИН ДЗЕ СИТИ
ОФ НЬЮ ЙОРК; ДЗЕ РИСЕРЧ
ФАУНДЕЙШН ФОР МЕНТАЛ
ХАЙДЖИН, ИНК. (US)

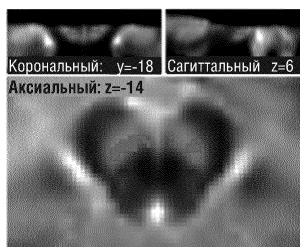
(72) Изобретатель:

Кларк Сэмьюэл, Орга Эрнандес
Гильермо (US), Кэссиди Клиффорд
Миллз (CA), Венглер Кеннет (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Методика нейромеланин-чувствительной магнитно-резонансной томографии ("МРТ"), способ и доступный компьютеру носитель для измерения степени постановки диагноза, мониторинга лечения, оценки новых лечений или определения прогноза, связанного с болезнью Паркинсона.



Воксели L-ДОФА
 $P_{\text{корр}} = 0,046$, тест перестановки

202290608

A1

A1

202290608

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-573272EA/019

НЕЙРОМЕЛАНИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ МРТ ДЛЯ ОЦЕНКИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка заявляет приоритет и преимущество предварительной заявки США № 62/889300, поданной 20 августа 2019 г., содержание которой в полном объеме включено здесь по ссылке.

ПОДДЕРЖКА ИССЛЕДОВАНИЙ ГОСУДАРСТВОМ

[0002] Работа, описанная здесь, полностью или частично поддержана грантами Национального института здоровья № R01MH114965, R01MH117323, R01DA020855 и UL1TR001873. Таким образом, правительство Соединенных Штатов имеет определенные права на изобретение.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Настоящее раскрытие в целом относится к магнитно-резонансной томографии («МРТ») и, более конкретно, к примерным вариантам осуществления примерной системы, способа и доступного компьютеру носителя для методики нейромеланин-чувствительной МРТ в качестве неинвазивной меры неврологических состояний с акцентом на болезнь Паркинсона.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] Болезнь Паркинсона, одно из двух тяжелых нейродегенеративных заболеваний у пожилых людей, представляет собой прогрессирующее неврологическое заболевание, поражающее до 1500000 американцев. Болезнь Паркинсона возникает, когда некоторые нервные клетки (нейроны) в части головного мозга, называемой черной субстанцией, погибают или повреждаются. Обычно эти клетки продуцируют жизненно важное химическое вещество, известное как дофамин. Дофамин обеспечивает плавную, скоординированную работу мышц тела и движения. Когда приблизительно 80% клеток, вырабатывающих дофамин, повреждены, то появляются симптомы болезни Паркинсона. Болезнью Паркинсона страдают как мужчины, так и женщины почти в равной степени. Заболевание не имеет социальных, этнических, экономических или географических границ. По оценкам в Соединенных Штатах ежегодно диагностируется 60000 новых случаев. Хотя данное заболевание обычно развивается в возрасте после 65 лет, 15% субъектов с установленным диагнозом моложе 50 лет. Идиопатический синдром Паркинсона является наиболее распространенным и включает редкие генетические формы, вызванные мутациями в генах альфа-синуклеина и паркина. Известные экологические причины включают очень редкие случаи отравления МРТР (1-метил-4-фенил-4-пропионоксипиперидином), окисью углерода и марганцем.

[0005] Частота болезни Паркинсона возрастает с возрастом. Средний возраст начала развития всех форм синдрома Паркинсона составляет 61,6 года, где средний возраст начала идиопатической болезни Паркинсона составляет 62,4 года. Начало в

возрасте до 30 лет редкое, но до 10% случаев идиопатической болезни Паркинсона начинается к 40 годам. В недавнем исследовании, проведенном в Соединенных Штатах, частота болезни Паркинсона составила 10,9 случаев на 100000 человеко-лет в общей популяции и 49,7 случаев на 100000 человеко-лет для лиц старше 50 лет. Частота заболевания возрастает по мере старения населения. Распространенность болезни оценивается на уровне приблизительно 300 на 100000 случаев в США и Канаде, но с важной оговоркой, что, возможно, 40% случаев могут оставаться недиагностированными на данный момент времени.

[0006] Такие симптомы, как брадикинезия, представляют собой замедление произвольных движений. Это создает трудности в начале движения, а также трудности в завершении движения, когда оно уже началось. Задержанная передача от головного мозга к скелетным мышцам за счет снижения уровня дофамина вызывает брадикинезию. Тремор кистей, пальцев, предплечья или ног обычно возникает, когда конечность находится в состоянии покоя, а не при выполнении задач. Тремор также может возникать в области рта и подбородка. Ригидность или скованность мышц могут вызывать мышечную боль и невыразительность лица, маскообразное лицо. Ригидность имеет тенденцию к усилению во время движения. Низкий баланс возникает за счет нарушения или потери рефлексов, которые регулируют положение тела для поддержания равновесия. Падения часто встречаются у людей с болезнью Паркинсона. Паркинсоническая походка представляет собой характерную неустойчивую походку, связанную с болезнью Паркинсона. Имеет место тенденция неестественно наклоняться вперед или назад и принимать сутулую позу с опущенной головой и опущенными плечами. Маховые движения рук снижаются или отсутствуют, и люди с болезнью Паркинсона склонны делать небольшие шаркающие шаги (называемые «дестинация»). У человека с болезнью Паркинсона могут возникнуть проблемы с началом ходьбы, может показаться, что он падает вперед во время ходьбы, замирает в середине шага и с трудом поворачивается.

[0007] Симптомы болезни Паркинсона также могут включать в себя микрографию (мелкий почерк), тремор в покое, эпизоды замирания, болезненные судороги ног, акинезию - трудности с началом движения, мышечную скованность, затруднения при вставании со стула, сгорбленную позу, маскообразное лицо, гипомимию - потерю выразительности лица, гипофонию - низкую громкость голоса, монотонную речь, невнятную, тихую речь, пристальный взгляд, сниженное моргание, апраксию век, мелкие шаркающие шаги, нарушение равновесия, ригидность мышц, ригидность по типу «зубчатого колеса» - остановку/начало движений, слюнотечение, себорею - необычно жирную кожу, быструю утомляемость, снижение маховых движений рук, снижение способности выполнять такие действия, как рукопожатие и постукивание пальцами, запор, затрудненное глотание (дисфагия) - слюны и пищи, которые собираются во рту или в задней части горла, могут вызвать удушье, кашель или слюнотечение, обильное слюноотделение (гиперсаливация), обильное потоотделение (гипергидроз), потерю контроля над мочевым пузырем и/или кишечником (недержание мочи), потерю

умственных способностей (слабоумие) - которые появляются позднее при прогрессировании заболевания, медленную реакцию на вопросы (брадифрения), а также психосоциальные расстройства, например, такие как тревожность, депрессия и замкнутость.

[0008] К настоящему времени отсутствует абсолютная диагностика болезни Паркинсона, и существует большая клиническая потребность в разработке чувствительной неинвазивной диагностики.

[0009] Диагностика и мониторинг пациентов с болезнью Паркинсона имеют решающее значение для оценки тяжести прогрессирования, чтобы ответить соответствующей профилактической помощью. В начале болезни Паркинсона своевременное вмешательство может спасти жизнь. Комплексный способ визуализации для оценки болезни Паркинсона остается серьезной неудовлетворенной клинической потребностью.

[0010] Анализ активности дофамина *в организме* используется для понимания роли этого ключевого нейромодулятора в когнитивной функции, развитии нервной системы, старении и развитии нервно-психических заболеваний у людей. В медицине такие измерения могут привести к разработке объективных биомаркеров, с помощью которых можно прогнозировать клинические исходы, включая болезнь Паркинсона, в идеале с использованием процедур, которые регистрируют лежащую в основе патофизиологию, и которые легко получить в клинических условиях.

[0011] Нейромеланин («НМ») представляет собой темный пигмент, который синтезируется посредством зависимого от железа окисления цитозольного дофамина и затем связывается с белками и липидами в дофаминовых нейронах среднего мозга. Пигмент НМ накапливается внутри специфических аутофагических органелл, содержащих комплексы НМ-железо, наряду с липидами и различными белками. Содержащие НМ органеллы постепенно накапливаются в течение жизни в some дофаминовых нейронах в черной субстанции («ЧС») ядра, которое обязано своим названием темному цвету в результате высокой концентрации НМ, и удаляются из ткани только после гибели клетки, например, в результате болезни Паркинсона, за счет действия микроглии. Учитывая, что комплексы НМ-железо являются парамагнитными, то их можно визуализировать с помощью МРТ. Семейство последовательностей МРТ, известное как НМ-МРТ, регистрирует группы нейронов с высоким содержанием НМ, например, в ЧС, в виде гиперинтенсивных областей. НМ-МРТ сигнал существенно снижен в ЧС у пациентов с болезнью Паркинсона, что согласуется с дегенерацией НМ-позитивных дофаминовых клеток в ЧС и снижением концентрации НМ в посмертных образцах ткани ЧС у пациентов с болезнью Паркинсона по сравнению с соответствующей контрольной возрастной группой субъектов. Хотя эти данные подтверждают использование НМ-МРТ для обнаружения *в организме* потери нейронов в ЧС при нейродегенеративных заболеваниях, прямые доказательства того, что эта МРТ процедура чувствительна к региональной вариабельности концентрации НМ даже при отсутствии

нейродегенеративной патологии ЧС, отсутствуют. Кроме того, хотя известно, что индукция синтеза дофамина посредством введения препарата L-ДОФА индуцирует накопление НМ в клетках ЧС грызунов, и хотя в работе уровня техники предполагалось, что НМ-МРТ сигнал в ЧС указывает на функцию дофаминовых нейронов у людей, прямые доказательства в поддержку этого предположения отсутствуют, что межличностные отличия могут привести к обнаруживаемым на МРТ различиям в накоплении НМ.

[0012] Таким образом, было бы полезно обеспечить систему, процесс, способ и доступный компьютеру носитель для нейромеланин-чувствительной МРТ, которые могут преодолеть недостатки, описанные выше.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0013] Настоящее изобретение относится, среди прочего, к способам определения наличия болезни Паркинсона у субъекта и определения изменения концентрации нейромеланина у субъекта во времени. Концентрация нейромеланина может изменяться в результате естественного течения болезни Паркинсона или в результате терапевтического вмешательства. В первом аспекте изобретение относится к способу определения того, происходит ли изменение концентрации нейромеланина во времени в головном мозге субъекта. В предпочтительном варианте субъектом является пациент с болезнью Паркинсона. Способ включает получение первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения субъекта в первой временной точке. Затем получают второе нейромеланин-магнитно-резонансное изображение во второй временной точке. Первое магнитно-резонансное изображение сравнивают со вторым магнитно-резонансным изображением, определяя посредством этого, произошло ли изменение концентрации нейромеланина между первой и второй временными точками.

[0014] В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на способ диагностики болезни Паркинсона у субъекта, включающий:

- (i) выполнение скана нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) с измерением уровня нейромеланина,
- (ii) сравнение уровня нейромеланина с предшествующими сканами и/или эталонными значениями, и
- (iii) постановку диагноза болезни Паркинсона.

[0015] В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на способ мониторинга прогрессирования болезни Паркинсона у субъекта, включающий:

- (i) выполнение скана нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) с измерением уровня нейромеланина,
- (ii) сравнение уровня нейромеланина с предшествующими сканами и/или эталонными значениями, и
- (iii) определение прогрессирования болезни Паркинсона.

[0016] В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на способ обеспечения прогноза болезни Паркинсона у субъекта, включающий:

(i) выполнение скана нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) с измерением уровня нейромеланина,

(ii) сравнение уровня нейромеланина с предшествующими сканами и/или эталонными значениями, и

(iii) необязательно выдачу прогноза болезни Паркинсона.

[0017] В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на способ мониторинга лечения болезни Паркинсона у субъекта, включающий:

(i) выполнение скана нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) с измерением уровня нейромеланина,

(ii) сравнение уровня нейромеланина с предшествующими сканами и/или эталонными значениями, и

(iii) оценку эффекта лечения болезни Паркинсона.

[0018] В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на определение интенсивности первого сигнала из первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения и определение интенсивности второго сигнала из второго нейромеланин-магнитно-резонансного изображения, и сравнение первого магнитно-резонансного изображения с упомянутым вторым магнитно-резонансным изображением, включающее сравнение интенсивности первого сигнала с интенсивностью второго сигнала.

[0019] В одном варианте осуществления контроль представляет собой уровень нейромеланина, присутствующий приблизительно на одинаковых уровнях в популяции субъектов, или упомянутый стандартный контроль представляет собой приблизительно средний уровень нейромеланина, присутствующий в популяции субъектов.

[0020] В одном варианте осуществления фантом градиента нейромеланина используют для измерения уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина.

[0021] В одном варианте осуществления фантом градиента концентрации нейромеланина сканируют примерно один раз на пациента, примерно раз в час, примерно раз в сутки, примерно раз в неделю или примерно раз в месяц.

[0022] В одном варианте осуществления фантом градиента нейромеланина сканируют ежедневно.

[0023] В одном варианте осуществления фантом градиента нейромеланина сканируют у каждого пациента.

[0024] В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на способ оценки нейромеланина у субъекта, включающий:

выполнение скана нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) субъекта;

получение набора данных по нейромеланину из скана НМ-МРТ;

необязательно кодирование набора данных по нейромеланину;

загрузку набора данных по нейромеланину на удаленный сервер;

необязательно декодирование набора данных;

выполнение анализа набора данных по нейромеланину, причем анализ включает одно или более из:

- (i) сравнения набора данных по нейромеланину с одним или более заранее полученными наборами данных по нейромеланину от упомянутого субъекта
 - (ii) сравнения набора данных по нейромеланину с контрольным набором данных;
 - (iii) сравнения набора данных по нейромеланину с одним или более заранее полученными наборами данных по нейромеланину от других субъектов;
- генерирование отчета, содержащего анализ нейромеланина;
 необязательное кодирование отчета;
 загрузку отчета на удаленный сервер;
 необязательно декодирование отчета.

[0025] В одном варианте осуществления изобретение относится к способу определения *в организме* прогрессирования болезни Паркинсона во времени у субъекта, включающий:

- (i) получение первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения в первой временной точке;
- (ii) после этапа (i) сравнение первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения с контролем в соответствующей возрастной группе;
- (iii) определение уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина, имеющего место между упомянутой первой временной точкой и упомянутой второй временной точкой.

[0026] В одном варианте осуществления изобретение направлено на способ диагностики болезни Паркинсона *в организме*, включающий:

- (i) получение первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения в первой временной точке;
- (ii) после этапа (i) получение второго нейромеланин-магнитно-резонансного изображения во второй временной точке;
- (iii) сравнение первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения с упомянутым вторым нейромеланин-магнитно-резонансным изображением, определяя посредством этого, произошло ли изменение одного или более из уровня, сигнала или концентрации нейромеланина между упомянутой первой временной точкой и упомянутой второй временной точкой.

[0027] В одном варианте осуществления изобретение направлено на способ обеспечения режима лечения пациента, включающий выполнение НМ-МРТ скана, получение НМ сигнала из НМ-МР скана в представляющей интерес области, сравнение НМ сигнала из НМ-МРТ скана в области представляющих интерес данных с номерами базы данных в соответствующей возрастной группе, если НМ сигнал ниже заранее определенного значения, назначение соответствующего режима лечения.

[0028] В одном варианте осуществления у субъекта проявляются симптомы

болезни Альцгеймера.

[0029] В одном варианте осуществления пациент страдает расстройством, которое обычно ошибочно диагностируется как болезнь Паркинсона. В одном варианте осуществления это расстройство представляет собой эссенциальный тремор. В одном варианте осуществления это расстройство представляет собой семейный тремор.

[0030] В одном варианте осуществления НМ-МРТ скан и анализ позволяет провести различие между болезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона. В одном варианте осуществления НМ-МРТ скан и анализ провести различие и может отдельно идентифицировать связанные расстройства (например, МСА, ПСП, симптомы Паркинсона, дискинезию, дистонию). В одном варианте осуществления НМ-МРТ скан и анализ могут отслеживать прогрессирование, отслеживать лечение и обеспечивать прогноз расстройств, связанных с болезнью Паркинсона (например, МСА, ПСП, симптомы Паркинсона, дискинезия, дистония).

[0031] В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на способ определения, имеет ли субъект или подвержен риску развития болезни Паркинсона, включающему анализ одного или более сканов нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) представляющей интерес области головного мозга субъекта, причем анализ включает:

прием информации о визуализации представляющей интерес области головного мозга; и

определение концентрации НМ в представляющей интерес области головного мозга с использованием воксельного анализа на основе информации о визуализации;

причем определение того, имеет ли субъект или подвержен риску развития болезни Паркинсона включает:

(1) если один или более НМ-МРТ сканов имеют сниженный НМ сигнал по сравнению с одним или более контрольными сканами без болезни Паркинсона, то субъект имеет или подвержен риску развития болезни Паркинсона; или

(2) если один или более НМ-МРТ сканов имеют НМ сигнал, сравнимый с сигналом одного или более контрольных сканов без болезни Паркинсона, то субъект не имеет или не подвержен риску развития болезни Паркинсона.

[0032] В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на способ лечения субъекта с болезнью Паркинсона, включающий анализ сканов нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) представляющей интерес области головного мозга субъекта, причем анализ включает:

прием информации о визуализации представляющей интерес области головного мозга в первой временной точке;

прием информации о визуализации представляющей интерес области головного мозга во второй временной точке;

определение концентрации НМ в первой и второй временных точках в представляющей интерес области головного мозга с использованием воксельного анализа

на основе информации о визуализации; и

сравнение концентрации НМ в первой временной точке со второй временной точкой,

причем способ лечения дополнительно включает:

(1) введение одного или более из леводопы и карбидопы, если НМ-МРТ скан во второй временной точке имеет сниженный НМ сигнал по сравнению с НМ сигналом в первой временной точке; или

(2) прекращение введения одного или более из леводопы и карбидопы, если НМ-МРТ скан во второй временной точке имеет повышенный НМ сигнал по сравнению с НМ сигналом в первой временной точке.

[0033] В одном варианте осуществления у субъекта проявляются один или более симптомов болезни Паркинсона.

[0034] В одном варианте осуществления способ обеспечивает диагностику болезни Паркинсона до того, как симптомы проявятся клинически.

[0035] В одном варианте осуществления НМ-МРТ способ позволяет провести различие между болезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона.

[0036] В одном варианте осуществления НМ-МРТ способ диагностирует пациента, как имеющего болезнь Паркинсона или как не имеющего болезнь Паркинсона; и указывает диагноз пользователю через пользовательский интерфейс.

[0037] В одном варианте осуществления анализ представляет собой воксельный анализ.

[0038] В одном варианте осуществления воксельный анализ включает определение по меньшей мере одного топографического рисунка в представляющей интерес области головного мозга.

[0039] В одном варианте осуществления способ дополнительно включает вычисление с использованием значения, которое представляет объем вокселя нейромеланина.

[0040] В одном варианте осуществления представляющей интерес областью воксельного анализа является черная субстанция.

[0041] В одном варианте осуществления представляющей интерес областью воксельного анализа является вентральный подобласть черной субстанции.

[0042] В одном варианте осуществления изобретение направлено на диагностическую систему для выдачи диагностической информации для болезни Паркинсона, включающую:

МРТ систему, выполненную с возможностью генерации и получения скана нейромеланин-чувствительной МРТ вместе с набором данных по нейромеланину для вокселя, находящегося в представляющей интерес области головного мозга субъекта;

сигнальный процессор, выполненный с возможностью обработки набора данных по нейромеланину для получения обработанного нейромеланин-МРТ спектра; и

диагностический процессор, выполненный с возможностью обработки

обработанного нейромеланин-MPT спектра, для:

извлечения измерения из представляющей интерес области, соответствующей нейромеланину во временной точке,

сравнения измерения с одним или более контрольными измерениями, полученными до временной точки;

постановки диагноза болезни Паркинсона, если измерение более чем на примерно 25% ниже, чем контрольное измерение.

[0043] В еще одном аспекте настоящее изобретение предусматривает способ определения того, содержит ли ткань головного мозга субъекта содержит аномальный уровень нейромеланина. Способ включает определение уровня нейромеланина в ткани. Уровень нейромеланина сравнивают со стандартным контролем. Если обнаруживается более низкий уровень нейромеланина относительно стандартного контроля, то это свидетельствует о наличии болезни Паркинсона.

[0044] В одном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает способ определения того, является ли терапия болезни Паркинсона, проводимая субъекту, эффективной. Способ включает этап обнаружения уровня эндогенного нейромеланина в ткани в первой временной точке. На следующем этапе субъекту проводят терапию. Затем во второй временной точке определяют уровень нейромеланина в ткани. После этого уровень нейромеланина в первой временной точке сравнивают с уровнем нейромеланина во второй временной точке. Более высокий уровень нейромеланина во второй временной точке по сравнению с первой временной точкой указывает на то, что терапия была эффективной. Альтернативно, более низкий уровень нейромеланина во второй временной точке по сравнению с первой временной точкой указывает на то, что терапия, проводимая субъекту, была неэффективной.

[0045] В одном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения пациента с болезнью Паркинсона. В одном варианте осуществления способ включает введение пациенту начальной дозы L-ДОФА. В одном варианте осуществления способ включает мониторинг концентрации нейромеланина в представляющей интерес области головного мозга пациента и оценку связанных с лечением неблагоприятных событий в течение начального периода лечения. В одном варианте осуществления, если в течение начального периода лечения у пациента проявляется одно или более из:

i) снижения концентрации нейромеланина в представляющей интерес области головного мозга пациента; и

ii) отсутствия неблагоприятных событий или побочных эффектов, связанных с L-ДОФА;

то затем повышение дозы L-ДОФА в последующем периоде лечения;

причем лечение L-ДОФА приводит к положительной динамике симптомов болезни Паркинсона у пациента.

[0046] В одном варианте осуществления способ лечения включает следующий

этап:

повторение этапов а)-с) до тех пор, пока у пациента не проявится одно или более из i)-ii) на этапе с).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[0047] Файл патента или заявки содержит по меньшей мере одну фигуру, выполненную в цвете. Копии публикации данного патента или патентной заявки с цветной(ыми) фигурой(ами) будут предоставлены Патентным ведомством по запросу и за уплату необходимой пошлины.

[0048] На **фиг. 1A-1B** приведены МРТ изображения. (A) Изображение среднего мозга в МРТ-пространстве, созданное усреднением пространственно нормализованных НМ-МРТ изображений от всех участников. Черная субстанция (ЧС) хорошо видна в виде гиперинтенсивной области. (B) Маска ЧС (желтая, маска с избыточным охватом для обеспечения полного охвата ЧС для всех участников) и эталонная область ножки мозга (голубой) в пространстве МРТ была прослежена на НМ-МРТ изображении и применена ко всем участникам для расчета отношения контраст/шум (Методы).

[0049] На **фиг. 2A-2D** показаны сравнения между потребителями кокаина и контрольной группой. (A) Диагностические групповые различия в НМ-МРТ сигнале между потребителями кокаина и контрольной группой. Диаграммы рассеяния, показывающие извлеченный НМ-МРТ сигнал (CNR), усредненный в пределах вокселей потребителей кокаина (верхняя панель, определено в C), вокселей потребителей кокаина, как определено с использованием метода проверки с исключением из множества по одному (LOO) (средняя панель), и всей ЧС (нижняя панель) у участников, разделенных на основе диагноза. В дополнение к результатам, показывающим влияние диагностической группы на НМ-МРТ сигнал после корректировки на ковариаты (B и статистические данные, представленные в тексте), эти диаграммы рассеяния показывают различия диагностических групп в исходном нескорректированном НМ-МРТ сигнале. (B) Кривые рабочих характеристик приемника, отображающие чувствительность и специфичность НМ-МРТ сигнала при разделении диагностических групп на основе сигнала, извлеченного из вокселей потребителей кокаина (верхняя панель), вокселей потребителей кокаина, определенных с использованием метода проверки с исключением из множества по одному (средняя панель) и всей ЧС (нижняя панель). Черная линия представляет НМ-МРТ сигнал отрегулированный с учетом ковариат возраста, головной катушки и употребления табака; серая линия представляет неотрегулированный НМ-МРТ сигнал. (B) Карта вокселей, где потребители кокаина проявляли более высокий НМ-МРТ сигнал, чем контрольная группа (показана красным цветом, надежная линейная регрессия, односторонняя $p < 0,05$). Данный набор вокселей был выше случайного уровня ($p_{\text{корр.}} = 0,025$, тест перестановки). (C) Непороговые результаты того же анализа, показывающие t-статистику для эффекта диагностической группы для всех вокселей ЧС. Воксели, где НМ-МРТ сигнал был выше у потребителей кокаина, показаны красным, и воксели, где сигнал был ниже у потребителей кокаина, показаны синим цветом.

[0050] На **фиг. 3** приведена схема, показывающая перенос дофамина между цитозольным, везикулярным и синаптическим пулами в полосатом теле и последующее накопление НМ в ЧС (изогнутая стрелка) у здоровых субъектов и при расстройстве, связанном с употреблением кокаина. В прямоугольниках с пунктирными линиями показана схематическая деталь синапса полосатого тела между серым пресинаптическим дофаминовым нейроном и зеленым постсинаптическим нейроном полосатого тела. Слева: цитозольный пул дофамина в норме превращается в НМ и постепенно накапливается в течение жизни в клеточных тельцах пресинаптических дофаминовых нейронов в ЧС среднего мозга. Справа: представлен теоретический сценарий для объяснения изменений, наблюдаемых при расстройствах, связанных с употреблением кокаина, включая снижение высвобождения дофамина, наблюдаемое с помощью ПЭТ по литературным данным предшествующего уровня, и усиление НМ-МРТ сигнала, о котором сообщается здесь. Снижение VMAT2, также согласующееся с ПЭТ и посмертными исследованиями, может объяснить оба эти явления: снижение экспрессии VMAT2 приводит к снижению везикулярного пула дофамина и повышению цитозольного пула дофамина, из которого синтезируется НМ. См. текст для альтернативной интерпретации данных.

[0051] На **фиг. 4** приведены клинические и демографические данные.

[0052] На **фиг. 5** приведены демографические и клинические характеристики для исследований, представленных в примере 4.

[0053] На **фиг. 6А-6В** показано, что исходный уровень CNR в НМ-МРТ коррелирует со скоростью ходьбы в исходном периоде. (а) Карта вокселей SN-VTA, где CNR НМ-МРТ положительно коррелирует (порог $P < 0,05$, уровень вокселей) с однозадачным измерением скорости ходьбы (зеленые воксели), наложенный на среднее изображение CNR НМ-МРТ от всех субъектов. (б) Диаграмма рассеяния, показывающая среднее значение CNR НМ-МРТ, извлеченное из значимых вокселей на графике, в зависимости от скорости ходьбы для целей визуализации. Эти нанесенные на график данные показывают коэффициент корреляции Пирсона, равный 0,49, хотя эта оценка размера эффекта, вероятно, завышена, учитывая выбор значимых вокселей для этого эффекта.

[0054] На **фиг. 7А-7В** показано, что вторичный анализ исходного CNR НМ-МРТ не позволяет прогнозировать изменения скорости ходьбы после 3 недель лечения L-ДОФА в представляющей интерес области или воксельном анализе. (а) Диаграмма рассеяния, показывающая среднее значение CNR НМ-МРТ, извлеченное из значимых (зеленых) вокселей с **фиг. 1а**, в зависимости от скорости ходьбы. Эти нанесенные на график данные имеют коэффициент корреляции Пирсона, равный 0,10. (б) Диаграмма рассеяния, показывающая среднее значение CNR НМ-МРТ, извлеченное из вокселей, где CNR НМ-МРТ положительно коррелирует с изменением скорости ходьбы после 3 недель лечения L-ДОФА ($N=64$; пороговое значение $P < 0,05$, уровень вокселей). Эти нанесенные на график данные имеют коэффициент корреляции Пирсона, равный 0,17.

[0055] На **фиг. 8А-8С** показано, что CNR НМ-МРТ существенно возрастает после 3

недель лечения L-ДОФА. (а) Карта вокселей SN-VTA, где CNR НМ-MPT существенно увеличился после 3 недель лечения L-ДОФА (пороговое значение $P < 0,05$, уровень вокселей; красные воксели), наложенный на среднее CNR НМ-MPT изображение от всех субъектов. (б) Гистограмма, показывающая среднее изменение CNR НМ-MPT у субъектов после лечения, включая все воксели SN-VTA, которое обычно смещено вправо от нуля (означая увеличение CNR НМ-MPT). В целях визуализации высоты пропорциональны либо числу вокселей L-ДОФА ($N=200$; красные столбцы, соответствующие вокселям на а, либо числу других вокселей SN-VTA (т. е. недостоверных вокселей; $N=1607$); например, полоса с пропорцией вокселей 0,2 для вокселей L-ДОФА соответствует 40 вокселям, в то время как полоса с пропорцией вокселей 0,2 для других вокселей SN-VTA соответствует 321 вокселю. (с) Лестничная диаграмма, показывающая среднее значение CNR НМ-MPT, извлеченное из достоверных (красных) вокселей на исходном уровне (до введения L-ДОФА) и после 3 недель лечения L-ДОФА (после введения L-ДОФА) для 6 субъектов (каждый показан другим цветом, чтобы подчеркнуть последовательное увеличение по каждому субъекту).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0056] Прежде чем настоящее раскрытие будет описано более подробно, следует понимать, что настоящее раскрытие не ограничивается конкретными описанными вариантами осуществления, поскольку они, конечно, могут варьироваться. Также следует понимать, что терминология, используемая здесь, предназначена только для целей описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничиваться только прилагаемой формулой изобретения.

Определения

[0057] Детальная информация, показанная здесь, приведена только в качестве примера и в целях примерного обсуждения вариантов осуществления настоящего изобретения и представлена в целях обеспечения того, что считается наиболее пригодным и понятным описанием принципов и концептуальных аспектов настоящего изобретения. В связи с этим не предпринимается никаких попыток показать конструктивные детали настоящего изобретения более подробно, чем это необходимо для общего понимания настоящего изобретения, описание приведено с фигурами, показывающими специалистам в данной области, как формы настоящего изобретения можно реализовать на практике.

[0058] В рамках настоящего изобретения, упоминание элемента в единственном числе не исключает множества таких элементов, если контекст явно не диктует иное.

[0059] Если не указано иное, то все числа, выражающие количества ингредиентов, условия реакции и т. д., используемые в описании и формуле изобретения, следует понимать как модифицированные во всех случаях термином «примерно». Соответственно, если не указано иное, то численные параметры, приведенные в следующем далее описании и в прилагаемой формуле изобретения, представляют собой аппроксимации, которые могут изменяться в зависимости от желаемых свойств, которые должны быть

получены. И наконец, и не в качестве попытки ограничить применение доктрины эквивалентов рамками формулы изобретения, каждый численный параметр должен рассматриваться в свете количества сообщаемых значащих цифр и с применением обычных методик округления.

[0060] Кроме того, раскрытие числовых диапазонов в настоящем описании считается раскрытием всех числовых значений и диапазонов в этом диапазоне. Например, если диапазон представляет примерно от 1 до примерно 50, то считается, что он включает, например, 1, 7, 34, 46,1, 23,7 или любое другое значение или диапазон в пределах диапазона. Кроме того, терминология по меньшей мере включает указанное число, например, «по меньшей мере 50» включает 50.

[0061] Термин «МР» относится к магнитному резонансу и представляет собой физический принцип, на котором основаны различные экспериментальные процедуры, известные в данной области техники и/или описанные здесь, включая МРТ («магнитно-резонансную томографию»), МРС («магнитно-резонансную спектроскопию») и тому подобное. Термин «нейромеланин-чувствительная МРТ» или «нейромеланин-МРТ» относится к использованию МРТ в исследовании нейромеланина в головном мозге. В данном документе общий термин магнитно-резонансная томография, магнитно-резонансное изображение или МРТ охватывает нейромеланин-чувствительные варианты.

[0062] В рамках настоящего изобретения термин «НМ-МРТ» и аналогичная номенклатура относятся к каждому МРТ-скану и соответствующему воксельному анализу независимо друг от друга, как по отдельности, так и вместе.

[0063] В рамках настоящего изобретения термины «T1» и «T2» относятся к общепринятым значениям, хорошо известным в области техники (т.е. «времени спин-решеточной релаксации» и «время спин-спиновой релаксации», соответственно).

[0064] Термин «T1-взвешенный» в контексте МРТ-изображений относится к изображению, полученному с помощью импульсного спин-эхо или инверсионной последовательности восстановления, с соответствующими укороченными TR и TE, которые, как известно в данной области техники, могут демонстрировать контраст между тканями, имеющими разные значения T1. Термин «TR» в данном контексте относится к времени повторения между импульсами возбуждения. Под термином «импульс возбуждения» понимают 90-градусный радиочастотный (РЧ) импульс возбуждения. Термин «TE» относится ко времени эхо между импульсом возбуждения и МР-сигналом.

[0065] Термин «субъект» может относиться к млекопитающим, таким как мышь, крыса, лошадь, крупный рогатый скот, овца, собака, кошка или человек. В некоторых вариантах осуществления способов, описанных здесь, субъектом является мышь, тогда как в других вариантах осуществления субъектом является человек. Термин «пациент» в данном контексте относится к субъекту-человеку.

[0066] В рамках настоящего документа термин «облегчать» предназначен для описания процесса, посредством которого снижается тяжесть признака или симптома расстройства. Важно отметить, что признак или симптом можно облегчить, не устраняя

его полностью. В предпочтительном варианте осуществления способы лечения, раскрытые здесь, приводят к устранению признака или симптома, однако устранение не является обязательным. Предполагается, что эффективные дозировки в соответствии с настоящим изобретением уменьшают тяжесть признака или симптома.

[0067] Дозировку и способ введения корректируют для обеспечения достаточных уровней активного(ых) агента(ов) или для поддержания желаемого эффекта. Факторы, которые следует учитывать, включают тяжесть болезненного состояния, общее состояние здоровья субъекта, возраст, массу тела и пол субъекта, рацион, время и частоту введения, взаимодействие(я) лекарственных препаратов, чувствительность реакции и переносимость/ответ на терапию. Эффективным количеством фармацевтического агента является такое количество, которое обеспечивает объективно определяемое улучшение.

[0068] В рамках настоящего изобретения термин «стабильный» относится к воспроизводимым измерениям. В одном варианте осуществления «стабильные уровни нейромеланина» относятся к серийным сканам, где уровни нейромеланина остаются относительно постоянными. В некоторых случаях «стабильные уровни нейромеланина» поддерживаются в течение одного или более часов, одного или более дней, одной или более недель или одного или более циклов лечения.

[0069] Термины «лечить», «лечение» и т.п. в контексте заболевания относятся к облегчению, подавлению, эрадикации и/или замедлению начала заболевания, подвергаемого лечению. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные здесь, применяются для субъектов, нуждающихся в лечении. В рамках настоящего изобретения, термины «нуждающийся в лечении» и т.п., относятся к субъекту с риском развития заболевания, имеющему состояние, которое специалисты в области медицины или ветеринарии понимают как вероятно ведущее к заболеванию, и/или действительно наличие заболевания. Лечение болезни Паркинсона включает в себя официально одобренные в настоящее время и экспериментальные способы лечения. НМ-MPT по настоящему изобретению может контролировать эффективность лечения болезни Паркинсона. С использованием НМ-MPT по настоящему изобретению можно определить эффективность экспериментального лечения. Неполный перечень методов лечения болезни Паркинсона, которые можно контролировать в соответствии с одним из вариантов осуществления настоящего изобретения, включает одно или более из следующего:

[0070] Лечение болезни Паркинсона включает терапию препаратами, модифицирующими болезнь. Данные способы лечения направлены на предупреждение, замедление или остановку общего прогрессирования болезни Паркинсона (БП). Они нацелены на различные белки и пути, которые, как считается, играют роль в заболевании.

[0071] Альфа-синуклеин; данный белок образует токсичные скопления в некоторых областях и клетках головного мозга людей с болезнью Паркинсона.

[0072] Anle138b; небольшая молекула MODAG направлена на ингибирование агрегации альфа-синуклеина. MJFF финансировал доклинические исследования и часть

первой фазы испытаний у людей с болезнью Паркинсона.

[0073] ВПВ054; антитело Biogen направлено на предупреждение распространения агрегатов альфа-синуклеина. MJFF финансирует разработку инструментов и сбор данных, которые поддерживают дизайн исследования.

[0074] NPT088; препарат-кандидат Proclara (ранее Neurophage) направлен на предупреждение образования агрегатов альфа-синуклеина. MJFF финансировал доклинические исследования.

[0075] PD01A; вакцина AFFiRiS направлена на стимуляцию выработки антител против альфа-синуклеина. MJFF финансировал доклинические исследования, часть испытаний фазы I и дополнительные исследования.

[0076] RO7046015; антитело Prothena/Roche направлено на предупреждение распространения агрегатов альфа-синуклеина. MJFF финансирует разработку инструментов и сбор данных, которые поддерживают дизайн исследования.

[0077] GBA; мутации в гене GBA связаны с болезнью Паркинсона и связаны с определенной клеточной дисфункцией.

[0078] GZ/SAR402671; препарат Sanofi Genzyme снижает продукцию липидов, которые образуются при мутациях GBA. MJFF финансирует разработку инструментов и сбор данных, которые поддерживают дизайн исследования.

[0079] LTI-291; препарат Lysosomal Therapeutics для перорального введения может компенсировать дисфункцию, связанную с мутацией GBA. MJFF финансировал доклинические исследования.

[0080] LRRK2; мутации в гене LRRK2 связаны с болезнью Паркинсона и связаны с более высокой активностью белка LRRK2.

[0081] DNL201; ингибитор LRRK2 от Denali направлен на снижение повышенной активности LRRK2. MJFF финансировал исследования по оценке безопасности, которые поддержали проведение испытания.

[0082] Эксенатид; противодиабетический лекарственный препарат, который проявил защитное действие для клеток мозга на доклинических моделях болезни Паркинсона. MJFF финансировал исследование фазы II, проводимое Университетским колледжем Лондона.

[0083] Инозин; пищевая добавка повышает уровень уратов (антиоксидантов). Популяционные исследования показывают, что инозин может оказывать защитное действие или замедлять прогрессирование болезни Паркинсона. MJFF финансировал доклинические исследования и испытание фазы II, и поддерживает сбор биомаркеров в исследовании фазы III под руководством Исследовательской группы болезни Паркинсона.

[0084] Исрадипин; гипотензивный препарат может помочь защитить клетки головного мозга.

[0085] Нилотиниб; данный препарат, предназначенный для лечения лейкоза (хронического миелоидного лейкоза), направлен на дисфункцию, наблюдаемую при болезни Паркинсона.

[0086] Лечение болезни Паркинсона включает нейротрофические факторы. Трофические факторы подобны естественному «удобрению» для головного мозга; они помогают восстанавливать и защищать нейроны. GDNF; трофический фактор MedGenesis может защищать дофаминовые клетки. MJFF финансировал доклинические исследования. CDNF; трофический фактор Herantis может защищать дофаминовые клетки. MJFF финансировал доклинические исследования.

[0087] Лечение болезни Паркинсона включает лечение, улучшающее моторные симптомы. Тремор, скованность и замедленность движений оказывают влияние на подвижность. Леводопа может помочь, но препарат не устраняет все симптомы, со временем может стать менее эффективным и может вызвать побочные эффекты, такие как дискинезия, при длительном применении.

[0088] Доставка леводопы; золотой стандарт лечения моторных симптомов может при длительном применении ослабляться и вызывать побочные эффекты, такие как дискинезия. Исследователи полагают, что некоторые побочные эффекты могут быть связаны с колебаниями уровня препарата леводопа. Аккордин в таблетках; слои леводопы/карбидопы медленно высвобождаются из желудка для лучшего всасывания. НДО612; помпа леводопы/карбидопы или пластырь-помпа Нейродерм могут поддерживать постоянный уровень леводопы.

[0089] Леводопа представляет собой пролекарство дофамина, которое вводят пациентам с болезнью Паркинсона, благодаря его способности преодолевать гематоэнцефалический барьер. Леводопа может метаболизироваться в дофамин по обе стороны гематоэнцефалического барьера, поэтому препарат обычно вводят с ингибитором ДОФА-декарбоксилазы, таким как карбидопа, для предотвращения метаболизма до тех пор, пока он не пересечет гематоэнцефалический барьер. Пройдя гематоэнцефалический барьер, леводопа метаболизируется до дофамина и пополняет низкие эндогенные уровни дофамина для лечения симптомов болезни Паркинсона. Первым разработанным лекарственным средством, одобренным FDA, был комбинированный продукт леводопы и карбидопы под названием Sinemet.

[0090] Лечение болезни Паркинсона включает подходы, не связанные с дофамином. Нацеливание на другие химические вещества для мозга с помощью дополнительной терапии может помочь контролировать колебания моторной функции, связанные с использованием леводопы. PXT002331; препарат для перорального введения Prexton Therapeutics (фолиглуракс) воздействует на глутамат и другие химические системы мозга, ослабляя двигательные симптомы и дискинезию.

[0091] Лечение болезни Паркинсона включает лекарственные препараты «Off» Rescue. Когда уровни леводопы снижаются, то симптомы пациентов могут вновь вернуться; это называется «выключенным» эпизодом. APL-130277; тонкая пленка препарата апоморфина Sunovion (ранее Cynapsus), помещаемая под язык, может спасти пациентов от эпизодов «выключения». APL-301; ингаляционная форма леводопы компании Acorda (ранее Civitas) может быстро облегчить симптомы болезни.

[0092] Лечение болезни Паркинсона включает генную терапию. При хирургическом вмешательстве в мозг доставляется выбранный ген для повышения выработки дефицитного белка. AAV2-hAADC; подход Voyager направлен на замену фермента AADC в клетках головного мозга, чтобы усилить превращение леводопы в дофамин для лучшего контроля моторных симптомов и меньшего времени «выключения» при прогрессирующей болезни Паркинсона.

[0093] В традиционной МРТ отсутствуют пространственные и количественные данные, необходимые для прогнозирования клинических исходов нейротравмы. Однако с использованием способов, обсуждаемых здесь, определяют уровни нейромеланина в головном мозге, на основе которых можно прогнозировать клиническое прогрессирование, тяжесть и ответную реакцию при болезни Паркинсона с учетом вариабельности уровней нейромеланина в головном мозге или потери нейронов, содержащих нейромеланин.

[0094] В некоторых вариантах осуществления НМ-МРТ обеспечивает способ титрования дозы для лечения болезни Паркинсона, одновременно избегая неблагоприятных событий или побочных эффектов от официально одобренных в настоящее время или исследуемых терапевтических средств. В частности, введение препарата L-ДОФА при мониторинге НМ сигналов с использованием воксельного подхода, описанного здесь, для определения режима дозирования, позволяет повысить эффективность по сравнению с введением только L-ДОФА.

[0095] Кроме того, введение терапевтического средства в соответствии с конкретным вариabельным режимом дозирования под контролем НМ-МРТ позволяет снизить побочные эффекты, которые могут быть связаны с введением. Например, введение препарата L-ДОФА в соответствии со специфическим режимом дозирования, определяемым воксельным анализом НМ-МРТ по настоящему изобретению, может значительно уменьшить или даже полностью устранить побочные эффекты, связанные с лечением.

[0096] В некоторых вариантах осуществления дозы L-ДОФА увеличивают, уменьшают, вводят чаще или реже в зависимости от физиологических факторов, включая, не ограничиваясь этим, повышение или понижение уровня нейромеланина в представляющей интерес области головного мозга субъекта либо по сравнению с предыдущим сканом или по сравнению с исходным контролем. В одном варианте осуществления представляющей интерес областью являются воксели, связанные с симптомами болезни Паркинсона. Изменение дозы повышает соответствие пациента лечению, повышает эффективность терапии и уменьшает нежелательные и/или побочные эффекты. В некоторых вариантах осуществления терапевтический способ по изобретению обеспечивает более эффективную общую терапию по сравнению с введением терапевтических агентов самих по себе.

[0097] В некоторых вариантах осуществления дозы существующих агентов могут быть снижены или вводиться менее часто при использовании направленного

вмешательства по настоящему изобретению, тем самым повышая соответствие пациента режиму лечения, повышая эффективность терапии и уменьшая нежелательные или неблагоприятные эффекты. В одном варианте осуществления мониторинг лечения с использованием НМ-МРТ по настоящему изобретению позволяет пациентам получать положительный эффект от лечения в течение более длительного периода времени.

[0098] Данные нейромеланин-чувствительной МРТ можно использовать в качестве биомаркера болезни Паркинсона или риска развития болезни Паркинсона, тяжести, прогрессирования заболевания, ответа на лечение и/или клинического исхода. Нейромеланин-чувствительные способы МРТ удовлетворяют необходимость в объективных биомаркерах, отслеживающих болезнь Паркинсона, тяжесть или риск ее развития. Нейромеланин-чувствительную МРТ можно использовать в качестве безопасной альтернативы инвазивным/радиоактивным методам визуализации (например, ПЭТ). Нейромеланин-чувствительную МРТ также можно использовать для мониторинга прогрессирования, что в настоящее время невозможно сделать за счет риска неблагоприятных последствий повторного облучения. Нейромеланин-чувствительная МРТ является неинвазивной, более дешевой, безопасной и простой для применения в клинических условиях. Она значительно повышает (в 5-10 раз) анатомическое разрешение, что позволяет разрешать анатомические детали в соответствующих структурах мозга.

[0099] В некоторых вариантах осуществления нейромеланин-чувствительные магнитно-резонансные изображения получают периодически, например, каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток, каждые 1, 2, 3 или 4 недели, каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев или каждые 1, 2, 3, 4 или 5 лет. В некоторых вариантах осуществления первое магнитно-резонансное изображение получают до появления симптомов. В некоторых вариантах осуществления первое магнитно-резонансное изображение получают до появления симптомов, связанных с болезнью Паркинсона. Второе магнитно-резонансное изображение может быть получено либо до, либо после появления симптомов. В еще одних вариантах осуществления второе магнитно-резонансное изображение может быть получено через 1 год после получения первого магнитно-резонансного изображения.

[00100] В некоторых вариантах осуществления нейромеланин-чувствительная магнитно-резонансная томография («НМ-МРТ») эффективна для неинвазивной диагностики, оценки эффекта лечения и/или обеспечения прогноза болезни Паркинсона.

[00101] В некоторых вариантах осуществления способ НМ-МРТ используется в качестве инструмента для диагностики болезни Паркинсона до проявления симптомов. В некоторых вариантах осуществления способ НМ-МРТ эффективен для того, чтобы отличать болезнь Паркинсона от других неврологических состояний, включая, помимо прочего, болезнь Альцгеймера. В еще одних вариантах осуществления способ НМ-МРТ эффективен при выборе курса лечения, необязательно, такое лечение эффективно при лечении болезни Паркинсона.

[00102] В некоторых вариантах осуществления способ НМ-МРТ используется в

качестве инструмента для мониторинга прогрессирования болезни Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления способ НМ-МРТ эффективен для продленной оценки прогрессирования болезни Паркинсона.

[00103] В некоторых вариантах осуществления с использованием способа можно измерить нейромеланин прямо или опосредованно. В еще одних вариантах осуществления данный способ прямо или опосредованно измеряет функцию дофамина. В некоторых вариантах осуществления существует связь между нейромеланин-чувствительным сигналом МРТ (НМ-МРТ) и тяжестью болезни Паркинсона.

[00104] В некоторых вариантах осуществления способ НМ-МРТ позволяет определять концентрации нейромеланина во всех срезах ткани головного мозга. В других вариантах осуществления способ НМ-МРТ способен определять региональные концентрации нейромеланина. В еще одних вариантах осуществления способ НМ-МРТ позволяет определять региональные уровни нейромеланина. В еще одних вариантах осуществления способ НМ-МРТ позволяет определять региональную интенсивность сигнала нейромеланина.

[00105] В еще одних вариантах осуществления способ НМ-МРТ определяет концентрацию нейромеланина в подблестях черной субстанции. В дополнительных вариантах осуществления способ НМ-МРТ определяет высвобождение дофамина в дорсальном полосатом теле и кровотоке в состоянии покоя в черной субстанции прямо или опосредованно.

[00106] В некоторых вариантах осуществления НМ-МРТ сигнал и тяжесть болезни Паркинсона напрямую коррелируют. В некоторых вариантах осуществления НМ-МРТ сигнал и тяжесть болезни Паркинсона имеют отрицательную корреляцию. В еще одних вариантах осуществления НМ-МРТ демонстрирует более низкий сигнал на пути черной субстанции у людей с болезнью Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления НМ-МРТ регистрирует дисфункцию дофамина. В других вариантах осуществления НМ-МРТ можно использовать в качестве биомаркера болезни Паркинсона. В дополнительных вариантах осуществления НМ-МРТ можно использовать для определения тяжести болезни Паркинсона. В дополнительных вариантах осуществления НМ-МРТ можно использовать для диагностики и/или определения прогноза болезни Паркинсона.

[00107] В некоторых вариантах осуществления анализ проводят по сравнению с предшествующей НМ-МРТ. В еще одних вариантах осуществления анализ проводят по сравнению с эталонным значением и/или диапазоном. В некоторых вариантах осуществления эталонное значение и/или диапазон генерируют с использованием компиляции данных по нейромеланину у здоровых людей. В некоторых вариантах осуществления эталонное значение и/или диапазон генерируют с использованием компиляции данных по нейромеланину у людей, страдающих болезнью Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления эталонное значение и/или диапазон генерируют с использованием компиляции данных по нейромеланину от людей, у которых имеется болезнь Паркинсона, и людей, у которых отсутствует болезнь Паркинсона.

[00108] В некоторых вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из латеральной области черной субстанции. В других вариантах осуществления сигнал НМ-MPT получают из задней области черной субстанции. В дополнительных вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из вентральных областей черной субстанции. В некоторых вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из одной или более латеральных, задних и вентральных областей черной субстанции.

[00109] В некоторых вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из черной субстанции или голубого пятна. В некоторых вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из вентральной области черной субстанции. В некоторых вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из латеральной области черной субстанции. В некоторых вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из вентролатеральной области черной субстанции. В некоторых вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из компактной части черной субстанции (SNpc). В некоторых вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из сетчатой части черной субстанции (SNpr). В некоторых вариантах осуществления сигнал НМ-MPT получают из вентральной области покрышки (VTA). В некоторых вариантах осуществления сигнал НМ-MPT получают из голубого пятна. В некоторых вариантах осуществления НМ-MPT сигнал получают из одного или более из вентральной области черной субстанции, латеральной области черной субстанции, вентролатеральной области черной субстанции, компактной части черной субстанции (SNpc), сетчатой части черной субстанции (SNpr), вентральной области покрышки (VTA), и голубого пятна.

[00110] В некоторых вариантах осуществления способ НМ-MPT включает оценку нейромеланина у субъекта, включающую: выполнение MPT-скана; получение данных по нейромеланину; необязательно кодирование данных по нейромеланину; необязательно загрузку данных по нейромеланину на удаленный сервер; необязательно кодирование данных; выполнение анализа данных по нейромеланину, причем анализ необязательно включает сравнение данных по нейромеланину с заранее полученными данными, большой популяционной базой данных или и тем, и другим; генерирование отчета, содержащего анализ данных по нейромеланину; необязательно кодирование отчета; необязательно загрузку отчета на удаленный сервер; необязательно декодирование отчета.

[00111] В некоторых вариантах осуществления в отчете представлен диагноз болезни Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления отчет декодирует врач или специалист по визуализации. В дополнительных вариантах осуществления анализ выполняется удаленно. В еще одних вариантах удаленный анализ выполняется на облачной платформе. В других вариантах удаленный анализ выполняется на облачном сервере.

[00112] В одном варианте осуществления изобретение относится к анализу и классификации болезни Паркинсона у субъекта, такого как человек, представляющий собой объект исследования или изучения, или, например, пациента. Данные об испытуемом получают с использованием НМ-MPT измерения. Множество шаблонов,

классифицированных по степени тяжести болезни Паркинсона, хранится в массиве данных, таком как, например, база данных. Каждый из шаблонов представляет собой выбранные подмножества концентраций нейромеланина среди популяций, измеренных по меньшей мере у одного другого субъекта, у которого, как известно, имеет место болезнь Паркинсона. Набор данных обрабатывается для получения модели, которая представляет временные показатели концентрации нейромеланина у субъекта. По меньшей мере часть данных по нейромеланину сравнивают с множеством шаблонов для получения классификации болезни Паркинсона.

[00113] Варианты осуществления изобретения включают диагностические инструменты для применения в клинических условиях или инструменты для оценки субъектов в условиях испытаний. В более общем плане аспекты изобретения относятся к инструментам для получения оценки или диагностики болезни Паркинсона с использованием НМ-MPT. Системы и способы согласно различным аспектам изобретения пригодны для мониторинга потенциально изменяющихся состояний субъекта, например, таких как прогрессирование болезни Паркинсона. Кроме того, аспекты изобретения обеспечивают решения для мониторинга эффективности лечения пациентов.

[00114] Вторым аспектом изобретения является способ скрининга терапевтических агентов, которые предупреждают, задерживают или останавливают развитие или прогрессирование болезни Паркинсона или соответствующих симптомов у пациента, включающий: 1) подвергание упомянутого пациента воздействию по меньшей мере одного терапевтического агента-кандидата; 2) измерение концентрации нейромеланина и 3) оценку влияния упомянутого по меньшей мере одного терапевтического агента на развитие или прогрессирование болезни Паркинсона или соответствующих симптомов у пациента.

[00115] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения могут обеспечить объективный тест для повышения точности диагностики, продвижения распознавания болезни Паркинсона до предсимптомной стадии и служить в качестве монитора для терапии. В общем, варианты осуществления настоящего изобретения можно использовать для диагностики нейромеланина с использованием сохраненного изображения, дифференциации ряда различных патологических состояний или заболеваний, и наблюдения за субъектом в течение определенного периода времени.

[00116] В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем второй способ визуализации представляет собой позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ). В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем вторым способом визуализации является структурная МРТ. В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем второй способ визуализации представляет собой функциональную МРТ (фМРТ). В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем второй способ визуализации представляет собой фМРТ, зависящую от уровня кислорода в крови

(фМРТ). В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем второй способ визуализации представляет собой чувствительную к железу МРТ. В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем вторым способом визуализации является количественным картированием восприимчивости (QSM). В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем второй способ визуализации представляет собой диффузионно-тензорную визуализацию DTI. В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем второй способ визуализации представляет собой однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ). В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем вторым способом визуализации является DaTscan. В одном варианте осуществления изобретение используется со вторым способом визуализации, причем второй способ визуализации представляет собой DaTquant.

[00117] В некоторых вариантах осуществления изобретения концентрацию и/или уровень нейромеланина измеряют по сравнению с контролем, и если концентрация и/или уровень нейромеланина примерно на 5%, примерно на 10%, примерно на 15%, примерно на 20%, примерно на 25%, примерно на 30%, примерно на 35%, примерно на 40%, примерно на 50%, примерно на 60%, примерно на 70%, примерно на 80%, примерно на 90% ниже, чем в контроле, то диагноз болезни Паркинсона подтверждается. В некоторых вариантах осуществления изменение нейромеланина оценивают как суммарное изменение концентрации или уровня за год. В некоторых вариантах осуществления изменение нейромеланина оценивают как процентное изменение за год. В некоторых вариантах осуществления концентрацию и/или уровень нейромеланина измеряют по сравнению с контролем, и концентрация и/или уровень нейромеланина примерно на 1%, примерно на 2%, примерно на 3%, примерно на 4%, примерно на 5%, примерно на 6%, примерно на 7%, примерно на 8%, примерно на 9%, примерно на 10%, примерно на 11%, примерно на 12%, примерно на 13%, примерно на 14% или примерно на 15% ниже, чем в контроле. В некоторых вариантах осуществления концентрацию и/или уровень нейромеланина измеряют по сравнению с контролем, и концентрация и/или уровень нейромеланина примерно на 1%, примерно на 2%, примерно на 3%, примерно на 4%, примерно на 5%, примерно на 6%, примерно на 7%, примерно на 8%, примерно на 9%, примерно на 10%, примерно на 11%, примерно на 12%, примерно на 13%, примерно на 14% или примерно на 15% снижается в год по сравнению с контролем. В одном варианте осуществления контроль представляет собой предшествующий НМ-МРТ скан пациента и воксельный анализ. В одном варианте осуществления концентрацию и/или уровень нейромеланина измеряют по сравнению с контролем, и концентрацию и/или уровень нейромеланина измеряют ежегодно, каждые 2 года, каждые 3 года, каждые 4 года, каждые 5 лет, каждые 6 лет, каждые 7 лет, каждые 8 лет, каждые 9 лет, каждые 10 лет, каждые 20 лет. В одном варианте осуществления вторая временная точка представляет собой примерно 3 месяца,

примерно 6 месяцев, примерно 9 месяцев, примерно 12 месяцев, примерно 2 года, примерно 3 года, примерно 4 года, примерно 5 лет, примерно 6 лет, примерно 7 лет, примерно 8 лет, примерно 9 лет, примерно 10 лет, примерно 15 лет, примерно 20 лет, примерно 25 лет или примерно 30 лет после первой временной точки. В некоторых вариантах осуществления, когда измеренная концентрация и/или уровень нейромеланина ниже контрольного значения, то у пациента диагностируют болезнь Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления, когда измеренная концентрация и/или уровень нейромеланина на заранее определенную величину ниже, чем контрольный показатель либо за год, либо за суммарное общее изменение, то у пациента диагностируется болезнь Паркинсона. В еще одних вариантах осуществления измеренный уровень нейромеланина более чем примерно на примерно 20% ниже, чем в контроле. В дополнительных вариантах осуществления измеренный уровень нейромеланина более чем на примерно 25% ниже, чем в контроле. В еще одних вариантах осуществления измеренный уровень нейромеланина более чем на примерно 30% ниже, чем в контроле. В дополнительных вариантах осуществления измеренный уровень нейромеланина более чем примерно на 35% ниже, чем в контроле. В еще одних вариантах осуществления измеренный уровень нейромеланина более чем на примерно 45% ниже, чем в контроле. В еще одних вариантах осуществления измеренный уровень нейромеланина более чем на примерно 40% ниже, чем в контроле. В еще одних вариантах осуществления измеренный уровень нейромеланина более чем на примерно 50% ниже, чем в контроле. В некоторых вариантах осуществления контроль необязательно представляет собой предшествующий нейромеланин-MPT-скан того же пациента. В еще одних вариантах осуществления контроль включает контрольное значение, необязательно определенное из базы данных нейромеланин-MPT-сканов по меньшей мере одного другого человека с болезнью Паркинсона.

[00118] В одном варианте осуществления, если изменение уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина во второй временной точке более чем примерно на 5% ниже или более чем примерно на 10% ниже, чем уровень, сигнал и/или концентрация нейромеланина в первой временной точке, причем первая временная точка и вторая временная точка разделены интервалом примерно 1 год, примерно 2 года, примерно 3 года, примерно 4 года, примерно 5 лет, примерно 6 лет, примерно 7 лет, примерно 8 лет, примерно 9 лет или примерно 10 лет, то ставят диагноз болезни Паркинсона.

[00119] В одном варианте осуществления, если изменение уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина во второй временной точке ниже примерно на 35%, ниже примерно на 40%, ниже примерно на 45% или более чем примерно на 50% ниже сигнала и/или концентрации нейромеланина в первой временной точке, причем первая временная точка и вторая временная точка разделены интервалом примерно 1 год, примерно 2 года, примерно 3 года, примерно 4 года, примерно 5 лет, примерно 6 лет, примерно 7 лет, примерно 8 лет, примерно 9 лет или примерно 10 лет, то ставят диагноз болезни Паркинсона.

[00120] В одном варианте осуществления степень снижения объема, сигнала или концентрации нейромеланина у данного пациента по сравнению с контролем пропорциональна прогрессированию и/или тяжести болезни Паркинсона.

[00121] В одном варианте осуществления степень увеличения объема, сигнала или концентрации нейромеланина у данного пациента по сравнению с контролем пропорциональна снижению и/или эффективности прогрессирования болезни Паркинсона и/или лечения.

[00122] В одном варианте осуществления стандартный контроль представляет собой уровень нейромеланина, присутствующий приблизительно на тех же уровнях в популяции субъектов, или стандартный контроль представляет собой приблизительно средний уровень нейромеланина, присутствующий в популяции субъектов.

[00123] Для иллюстрации расширения использования НМ-MPT для таких применений, приведена серия исследований по валидации. Приведена первая процедура для демонстрации того, что НМ-MPT может быть достаточно чувствительной для обнаружения региональной вариабельности концентрации НМ в тканях, которая предположительно зависит от межличностных и межрегиональных различий в функции дофамина (например, включая синтез и накопительную емкость), а не только от потери НМ-содержащих нейронов. Для тестирования этого измерения MPT сравнивали с нейрохимическими измерениями концентрации НМ в посмертных тканях субъектов, не страдающих болезнью Паркинсона. Поскольку вариабельность функции дофамина может проявляться неравномерно на всех уровнях ЧС, то следующая процедура должна была показать, что НМ-MPT, имеющая высокое анатомическое разрешение по сравнению со стандартными процедурами молекулярной визуализации, обладает достаточной анатомической специфичностью. НМ-MPT используется для тестирования способности нового воксельного подхода регистрировать известный топографический рисунок потери клеток в ЧС при болезни Паркинсона. Следующая процедура заключается в предоставлении прямых доказательств взаимосвязи между НМ-MPT и болезнью Паркинсона с использованием воксельного подхода.

[00124] Как обсуждалось в WO 2020/077098, в полном объеме включенной в настоящий документ по ссылке, НМ-MPT сигнал коррелирует с хорошо валидированным показателем высвобождения дофамина, полученным позитронно-эмиссионной томографией («ПЭТ») в полосатом теле - основным местом проекции нейронов ЧС - и с функциональной MPT-оценкой регионарного кровотока в ЧС, косвенному показателю активности нейронов ЧС, в группе субъектов, не страдающих болезнью Паркинсона. Уровень нейромеланина повышается (концентрация SNc, объем НМ в SNc), как измерено посредством Terraп NM-101, что приводит к улучшению баллов по шкале UPDRS при терапии L-ДОФА.

[00125] Настоящее изобретение демонстрирует корреляцию вокселей болезни Паркинсона с симптомами Паркинсона, как измерено по Унифицированной шкале болезни Паркинсона (UPDRS); демонстрирует, что применение способа на основе

воксельного анализа в Terran NM-101 позволит найти специфические воксели (называемые вокселями БП), уникальные для каждого пациента, которые коррелируют с их специфическими симптомами по шкале UPDRS; определяет наличие корреляции между изменением показателей нейромеланина после начала терапии L-ДОФА и улучшением баллов по шкале UPDRS; определяет различия в показателях нейромеланина (например, общая концентрация НМ (микрограмм нейромеланина на микрограмм влажной ткани) в компактной части черной субстанции (SNc), концентрацию НМ в подобластях SNc, объем нейромеланина во всей SNc, объем в подобластях SNc) у больного БП от нормы в контрольной группе; определяет разницу в уровнях нейромеланина по сравнению с контрольной группой, которая подтверждает диагноз БП; определяет наличие корреляции между изменением показателей нейромеланина после начала терапии L-ДОФА и улучшением баллов по шкале UPDRS; определяет уровень повышения нейромеланина, который приводит к улучшению баллов по шкале UPDRS, подтверждая, что уровни НМ можно использовать для мониторинга ответа на лечение; определяет наличие корреляции между вокселями болезни Паркинсона с симптомами болезни Паркинсона, измеренными с использованием баллов UPDRS; применяет воксельный анализ для поиска специфических вокселей (называемых вокселями БП), уникальных для каждого пациента, которые коррелируют с их специфическими симптомами по шкале UPDRS; определяет наличие корреляции между НМ-MPT сканом и показателями DaTscan и UPDRS.

[00126] В одном варианте осуществления L-ДОФА является репрезентативным средством лечения любой формы болезни Паркинсона. В одном варианте осуществления L-ДОФА представляет собой карбидопу/леводопу. В одном варианте осуществления лечение представляет собой генную терапию. В одном варианте осуществления, если концентрация нейромеланина остается стабильной, неизменной или постоянной, то доза L-ДОФА остается постоянной. В одном варианте осуществления, если концентрация нейромеланина остается стабильной, то дозу L-ДОФА повышают. В одном варианте осуществления, если концентрация нейромеланина снижается более чем примерно на 1%, более чем примерно на 2%, более чем примерно на 3%, более чем примерно на 5%, более чем примерно на 10%, более чем примерно на 15%, более чем примерно на 20% или более чем примерно на 25%, то дозу леводопы увеличивают. В одном варианте осуществления уровень нейромеланина отслеживают посредством серийных сканов. В одном варианте осуществления уровень нейромеланина измеряют в соответствии со специфичными для симптома вокселями у одного пациента. В одном варианте осуществления специфичные для симптома воксели специфичны для болезни Паркинсона. В одном варианте осуществления специфичные для болезни Паркинсона воксели определяют у пациента сравнением данных НМ-MPT пациента с предварительно определенным набором контрольных данных от других пациентов. В одном варианте осуществления набор контрольных данных других пациентов находится в соответствующей возрастной группе. В одном варианте осуществления набор контрольных данных других пациентов находится

в соответствующей группе по полу.

[00127] В некоторых вариантах осуществления уровень нейромеланина измеряют по меньшей мере через день, раз в неделю, раз в 2 недели, раз в месяц, раз в два месяца, раз в 3 месяца, раз в 6 месяцев, раз в год, раз в 2 года, раз в 3 года, раз в 4 года, раз в 5 лет, раз в 6 лет, раз в 7 лет, раз в 8 лет, раз в 9 лет, раз в 10 лет, раз в 15 лет, раз в 20 лет, раз в 25 лет, раз в 30 лет. В некоторых вариантах осуществления вторую дозу терапевтического средства вводят каждую неделю или каждые 2 недели. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство вводят каждые 1 ч, 2 ч, 3 ч, 4 ч, 5 ч, 6 ч, 8 ч, 10 ч, 12 ч, 14 ч, 16 ч, 18 ч, 20 ч, 24 ч, 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней или по меньшей мере 14 дней.

[00128] В одном варианте осуществления период лечения (либо начальный, либо последующий) или период наблюдения, как обсуждается в этом документе, представляет собой каждый день, через день, каждые 28 дней, каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель, каждые 12 недель, каждые 13 недель, каждые 14 недель, каждые 15 недель, каждые 16 недель, каждые 17 недель, каждые 18 недель, каждые 19 недель или каждые 20 недель, примерно каждый месяц, примерно каждые два месяца, примерно каждые 3 месяца, примерно каждые 6 месяцев или примерно каждый год.

[00129] В одном варианте осуществления определяют представляющую интерес область и измеряют воксели, покрывающие эту область, для определения объема нейромеланина в этой области.

[00130] В одном варианте осуществления представляющую интерес область подразделяют, и измеряют воксели, которые охватывают подобласти, для определения объема нейромеланина в этой области.

[00131] В одном варианте осуществления эти воксели сравнивают с эталонным набором данных и используют для вычисления концентрации нейромеланина в представляющей области или подобластях внутри представляющей интерес области.

[00132] В одном варианте осуществления эти воксели сравнивают с эталонным набором данных и используют для вычисления общего количества нейромеланина в представляющей интерес области или подобластях внутри представляющей интерес области.

[00133] В одном варианте осуществления проводят множественные сравнения между всеми вокселями, идентифицированными в представляющей интерес области, и специфическими симптомами или шкалами оценки тяжести симптомов, или болезненными состояниями, или демографической информацией, или другой информацией, специфичной для пациента или заболевания, и находят связи между подгруппой индивидуальных вокселей и специфическим симптомом или уровнем тяжести симптома по шкале мониторинга заболевания. Они называются специфичными для симптомов вокселями.

[00134] В одном варианте осуществления проводят множественные сравнения между всеми вокселями, идентифицированными в представляющей интерес области, и диагнозами конкретного заболевания или демографической информацией, или другой информацией о конкретном пациенте или заболевании, и находят связи между подгруппой отдельных вокселей и состоянием, при котором диагностируется определенное заболевание. Их называют специфичными для заболевания вокселями, и в одном примере они могут включать специфичные для болезни Паркинсона воксели.

[00135] В одном варианте осуществления эти специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели имеют сходства у множества пациентов с одними и тем же симптомами в контексте одного и того же заболевания и могут использоваться для проведения сравнений между множеством пациентов с одним и тем же заболеванием (например, у двух пациентами с болезнью Паркинсона, которые оба имеют симптом психомоторной заторможенности). В этом случае можно сравнить сходства между пациентами, и специфичные для симптома воксели могут функционировать в качестве диагностического биомаркера.

[00136] В одном варианте осуществления эти специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели имеют различия между пациентами с одним и тем же симптомом, возникшим в контексте различных заболеваний. В этом случае различия между специфичными для симптома вокселями можно использовать для дифференциации двух разных расстройств, имеющих один и тот же симптом.

[00137] В одном варианте осуществления либо специфичные для симптома воксели, либо специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина в конкретных областях или подобластях можно использовать в качестве неинвазивного биомаркера для определения диагностической информации, для диагностики наличия конкретного заболевания (в данном случае болезни Паркинсона или близкого расстройства, такого как МСА, ПСП, симптомы Паркинсона, дискинезия, дистония или эссенциальный тремор).

[00138] В одном варианте осуществления это можно выполнить сравнением исходных измерений у конкретного пациента либо специфичных для симптома вокселей, либо специфичных для заболевания вокселей либо концентраций нейромеланина, либо объемов нейромеланина в конкретных областях или подобластях, с будущими измерениями этих значений у того же пациента.

[00139] В одном варианте осуществления это может быть достигнуто сравнением измерений у конкретного пациента либо специфичных для симптома вокселей, либо специфичных для заболевания вокселей либо концентраций нейромеланина, либо объемов нейромеланина в конкретных областях или подобластях и стандартного контроля.

[00140] В одном варианте осуществления либо специфичные для симптома воксели, либо специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина в конкретных областях или подобластях можно использовать в качестве неинвазивного биомаркера для определения диагностической информации,

чтобы исключить наличие близкого расстройства или дифференцировать близкие расстройства, такие как болезнь Паркинсона и MSA, ПСП, симптомы Паркинсона, дискинезию, дистонию или эссенциальный тремор.

[00141] В одном варианте осуществления это можно выполнить сравнением исходных измерений у конкретного пациента либо специфичных для симптома вокселей, либо специфичных для заболевания вокселей либо концентраций нейромеланина, либо объемов нейромеланина в конкретных областях или подобластях с будущими измерениями этих значений у того же пациента.

[00142] В одном варианте осуществления это может быть достигнуто сравнением измерений у конкретного пациента либо специфичных для симптома вокселей, либо специфичных для заболевания вокселей либо концентраций нейромеланина, либо объемов нейромеланина в конкретных областях или подобластях и стандартного контроля.

[00143] В одном варианте осуществления или специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина конкретных областей или подобластей можно использовать в качестве неинвазивного биомаркера для определения стадии или классификации конкретного заболевания или симптома, и дифференцировать или классифицировать эту информацию у пациента. Например, это можно использовать для определения стадии болезни Паркинсона или связанного с ней двигательного расстройства у конкретного пациента.

[00144] В одном варианте осуществления или специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина в конкретных областях или подобластях можно использовать в качестве неинвазивного биомаркера для определения текущей тяжести симптомов у пациента.

[00145] В одном варианте осуществления или специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина в конкретных областях или подобластях можно использовать в качестве неинвазивного биомаркера для прогнозирования развития новых симптомов, которые у пациента еще не развились.

[00146] В одном варианте осуществления или специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина в конкретных областях или подобластях можно использовать в качестве неинвазивного биомаркера для прогнозирования тяжести текущих симптомов, прогнозирования будущего развития течения болезни, или прогнозирования реакции либо на конкретный симптом, либо реакцию болезни в целом на лечение и функционировать в качестве неинвазивного прогностического биомаркера.

[00147] В одном варианте осуществления или специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина в конкретных областях или подобластях можно использовать в

качестве неинвазивного биомаркера для мониторинга ответа на лечение либо для конкретного симптома, либо для болезненного состояния в целом.

[00148] В одном варианте осуществления или специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина в конкретных областях или подобластях можно использовать в качестве неинвазивного биомаркера для направления выбора корректного лечения либо для конкретного симптома, либо для болезненного состояния в целом.

[00149] В одном варианте осуществления или специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина в конкретных областях или подобластях можно использовать в качестве неинвазивного биомаркера для определения статуса лечения и определения того, адекватен ли ответ на полученное лечение либо для конкретного симптома, либо для болезненного состояния в целом.

[00150] В одном варианте осуществления или специфичные для симптома воксели, или специфичные для заболевания воксели или концентрации нейромеланина, или объемы нейромеланина в конкретных областях или подобластях можно использовать в качестве неинвазивного биомаркера для прогнозирования будущего ответа на лечение либо для конкретного симптома, либо для болезненного состояния в целом.

[00151] В любом варианте осуществления сравнения могут быть сделаны между:

[00152] исходными измерениями у конкретного пациента либо специфичных для симптомов вокселей, либо специфичных для заболевания вокселей либо концентраций нейромеланина, либо объемов нейромеланина в конкретных областях или подобластях с будущими измерениями этих показателей у того же пациента;

[00153] измерениями у конкретного пациента либо специфичных для симптома вокселей, либо специфичных для заболевания вокселей либо концентраций нейромеланина, либо объемов нейромеланина в конкретных областях или подобластях и стандартным контролем.

Пример 1. Эксперименты по валидации НМ-МРТ воксельного анализа

Примерная связь с концентрацией НМ в посмертной ткани среднего мозга

[00154] Проводили анализ для определения того, может ли НМ-МРТ быть чувствительной к вариабельности концентрации НМ в тканях на уровнях, обнаруживаемых у субъектов без тяжелой нейродегенерации ЧС, что является необходимым условием для ее использования в качестве маркера межличностной вариабельности у здоровых субъектов и популяций субъектов, страдающих болезнью Паркинсона. С этой целью это проверяли на соответствие измерениям концентрации НМ золотого стандарта путем сканирования ЧС-содержащих срезов среднего мозга субъектов без гистопатологии, совместимой с болезнью Паркинсона, или синдромов, связанных с болезнью Паркинсона, с использованием последовательности НМ-МРТ. После сканирования каждый образец рассекали вдоль разметок линий сетки на 13-20 срезов сетки. В каждом срезе сетки концентрацию НМ в ткани измеряли с использованием

биохимического разделения и спектрофотометрического определения и также рассчитывали усредненное значение контраст/шум (CNR) НМ-MPT по вокселям в срезе сетки.

[00155] Во всех образцах среднего мозга срезы сетки с более высоким значением CNR НМ-MPT имели более высокую концентрацию НМ в ткани ($\beta_1=0,56$, $t_{114}=3,36$, $p=0,001$, модель смешанных эффектов; 116 срезов сетки, 7 образцов). Как и ожидалось, гиперинтенсивности были наиболее выраженными в срезах сетки, соответствующих НМ-богатой ЧС. Но, как и на НМ-MPT изображениях *в организме*, заднемедиальные области среднего мозга вокруг области периакведуктального серого вещества («PAG») имели тенденцию казаться гиперинтенсивными, несмотря на относительно низкую концентрацию НМ. Хотя источник этой гиперинтенсивности, контролирующей присутствие PAG в срезах сетки (например, PAG), улучшил соответствие CNR НМ-MPT для концентрации НМ в областях без PAG ($t_{112}=5,51$, $p=10^{-7}$), не мог быть учтен. В рамках этой модели увеличение CNR НМ-MPT на 10% соответствует расчетному увеличению 0,10 мкг НМ на мг ткани.

[00156] Взаимосвязь между CNR НМ-MPT и концентрацией НМ оставалась ($\beta_1=0,45$, $t_{111}=2,15$, $p=0,034$) в расширенной модели, контролирующей пропорцию вокселей ЧС в каждом срезе сетки (например, и вновь для содержания PAG). На основе данного последнего результата можно предположить, что CNR НМ-MPT объясняет вариабельность в концентрации НМ в ЧС и прилегающих областях помимо того, что объясняется просто увеличением обоих показателей в ЧС по сравнению с вокселями, не относящимися к ЧС, увеличение, которое можно было бы ожидать, даже если НМ-MPT могла только точно определить локализацию ЧС без измерения региональной концентрации НМ. Таким образом, полученные результаты показывают, что НМ-MPT сигнал соответствует региональной концентрации НМ в ткани, особенно в области среднего мозга, окружающей ЧС, представляющей собой область особого внимания.

[00157] Примерная валидация воксельного подхода

[00158] Показав, что НМ-MPT измеряет региональную концентрацию НМ внутри и вокруг ЧС, было определено, отражают ли региональные различия в регистрации НМ-MPT сигнала биологически значимые различия между анатомическими подобластями внутри ЧС. Это было необходимо для того, чтобы использовать данный инструмент для исследования функции дофамина, поскольку гетерогенность клеточных популяций в ЧС предполагает, что функция дофамина может существенно различаться между популяциями нейронов, выступающими в вентральной области полосатого тела, дорсальной области полосатого тела или участках коры. Было определено, что воксельный анализ в ЧС может быть чувствительным к процессам, влияющим на конкретные подобласти или, вероятно, несмежные популяции нейронов в ЧС для получения информации, касающейся пространственной нормализации и анатомических масок, используемых в воксельном анализе. Подтверждая осуществимость данного подхода, большинство отдельных вокселей ЧС демонстрировали хорошую и отличную

надежность при повторном тестировании, расширяя аналогичные демонстрации на региональном уровне.

[00159] Для анализа анатомической специфичности воксельного подхода НМ-МРТ использовали способность НМ-МРТ выявлять заболевание и известную топографию потери клеток при заболевании.

[00160] Используя данные НМ-МРТ, полученные у 28 пациентов и 12 контрольных субъектов в соответствующей возрастной группе, анализировали способен ли воксельный анализ регистрировать этот топографический рисунок. Примерный подход способен регистрировать известную анатомическую топографию потери дофаминовых нейронов в ЧС: большее снижение CNR имело тенденцию преобладать в более латеральных ($\beta_{\text{L}}=-0,13$, $t_{1803}=-14,2$, $p=10^{-43}$), задних ($\beta_{\text{Y}}=-0,05$, $t_{1803}=-6,6$, $p=10^{-10}$) и вентральных вокселях ЧС ($\beta_{\text{Z}}=0,17$, $t_{1803}=16,3$, $p=10^{-55}$; множественный линейный регрессионный анализ, прогнозирующий t-статистику групповой разницы по вокселям ЧС в зависимости от их координат в направлениях x [абсолютное расстояние от средней линии], y и z: омнибус $F_{3,1803}=111$, $p=10^{-65}$).

[00161] Примерная взаимосвязь НМ-МРТ сигнала с функцией дофамина

[00162] Подтвердив анатомическую чувствительность примерного воксельного подхода, анализировали, коррелирует ли сигнал НМ-МРТ в ЧС с функцией дофамина в организме. С этой целью использовали визуализацию позитронно-эмиссионной томографией («ПЭТ») для измерения способности к высвобождению дофамина ($\Delta\text{BP}_{\text{ND}}$) в виде изменения потенциала связывания радиофармпрепарата D2/D3 [^{11}C]раклоприда между исходным уровнем и после введения декстро-амфетамина (0,5 мг/кг, перорально). С помощью данного метода можно измерить высвобождение дофамина из пресинаптических участков аксонов дофаминовых нейронов, включая его везикулярный и цитозольный пулы, в синапсы полосатого тела, это может иметь значение, поскольку характерные межличностные различия в величине этих пулов дофамина могут быть ключевым фактором накопления НМ. Собирали данные в группе из 18 субъектов без нейродегенеративного заболевания, в которую входили 9 здоровых субъектов из контрольной группы и 9 пациентов без лечения с нейродегенерацией. Высвобождение дофамина в ассоциативном полосатом теле, части дорсального полосатого тела, было сосредоточено на обеспечении достаточной вариабельности, поскольку у пациентов с болезнью Паркинсона, как правило, наблюдаются различия в высвобождении дофамина в данной подобласти. Кроме того, дорсальная область полосатого тела принимает проекции из ЧС (например, через путь черной субстанции), в то время как вентральная область полосатого тела принимает проекции преимущественно из вентральной области покрышки среднего мозга (например, через мезолимбический путь), который труднее визуализировать в НМ-МРТ сканах за счет меньшей концентрации НМ и меньшего размера. Был выполнен воксельный анализ, в котором для каждого субъекта измеряли $\Delta\text{BP}_{\text{ND}}$ и определяли корреляцию с CNR НМ-МРТ в маске ЧС в каждом вокселе. С использованием такого подхода выявили ряд вокселей ЧС, в которых CNR НМ-МРТ

положительно коррелировал со способностью высвобождать дофамин в ассоциативном полосатом теле (например, 225 из 1341 вокселей ЧС при $p < 0,05$, частичная корреляция Спирмена с поправкой на диагноз, возраст и головную катушку; $r_{\text{корр}} = 0,042$, тест перестановки, пиковые координаты МРТ вокселя $[x, y, z]$: -1, -18, -16 мм). Данный эффект демонстрировал топографическое распределение так, что воксели, связанные с высвобождением дофамина, имели тенденцию преобладать в переднем и латеральном участках ЧС. Данный анализ был выполнен в меньшей маске ЧС (например, 1341 вокселей), поскольку относительно небольшое число субъектов имело пригодные для использования данные в самой дорсальной ЧС. Взаимосвязи с диагнозом не было обнаружено (например, $p = 0,31$). Результаты воксельного анализа отражали результаты по представляющей интерес области («ROI»), показывающие, что среднее значение CNR НМ-МРТ по всей ЧС коррелирует со средним значением ΔBP_{ND} во всему полосатому телу (например, $p = 0,64$, $p = 0,013$; частичная корреляция с теми же ковариатами, что и в воксельном анализе, и дополнительной ковариатой для неполного покрытия ЧС).

[00163] Примерная взаимосвязь НМ-МРТ сигнала с нейрональной активностью в ЧС

[00164] Поскольку последние результаты показали, что субъекты с более высоким высвобождением дофамина из нейронов черной субстанции ЧС имели более высокое накопление НМ, измеренное с использованием НМ-МРТ, было определено, что накопление НМ также может коррелировать с тенденцией, подобной локальной черте, с повышенной активностью в нейронах ЧС. Для проверки этого, использовали функциональную магнитно-резонансную томографию в варианте маркировки артериального спина («ASL-фМРТ») для измерения регионарного мозгового кровотока («CBF»), хорошо зарекомендовавшей себя (например, опосредованный) в качестве функционального показателя активности нейронов, который регистрирует характерные признаки межличностных различий в активности в состоянии покоя. У субъектов без нейродегенеративных заболеваний (например, 12 здоровых субъектов, 19 больных шизофренией) был обнаружен более высокий CBF в ЧС, коррелирующий с более высоким значением CNR НМ-МРТ в ЧС. Это было верно при анализе ROI, усредняющем значения в вокселях ЧС, связанных со способностью к высвобождению дофамина (например, «воксели дофамина», $r = 0,40$, $p = 0,030$; частичная корреляция с учетом возраста и диагноза) и в целом ЧС (например, $r = 0,48$, $p = 0,008$; частичные корреляции с учетом возраста, диагноза и неполный охват ЧС). Вновь, не было обнаружено какой-либо взаимосвязи с диагнозом (например, все $p > 0,7$).

[00165] Взаимосвязь НМ-МРТ с болезнью Паркинсона

[00166] НМ-МРТ в виде показателя концентрации НМ в ЧС можно использовать в качестве маркера потери нейронов у субъектов, страдающих болезнью Паркинсона или страдающих симптомом, указывающим на болезнь Паркинсона.

[00167] Демонстрация того, что НМ-МРТ может регистрировать изменения концентрации нейромеланина, связанные с болезнью Паркинсона, подтверждает

потенциальную ценность НМ-MPT в качестве инструмента исследования и концентрацию нейромеланина в качестве биомаркера-кандидата для болезни Паркинсона. Данный феномен был выявлен у пациентов с болезнью Паркинсона в анамнезе - в некоторых вариантах осуществления феномен пропорционален тяжести симптомов у них. В некоторых вариантах осуществления болезнь Паркинсона характеризуется одним или более симптомами. Примерная процедура предполагает, что данный фенотип, связанный с болезнью Паркинсона, состоящий из избытка дофамина в черной субстанции, приводит к уменьшению накопления НМ в ЧС, что можно регистрировать с использованием НМ-MPT. В частности, был обнаружен в основном вентральная подобласть ЧС, где CNR НМ-MPT может быть снижен пропорционально тяжести болезни Паркинсона. Примерные результаты еще раз подчеркивают перспективность НМ-MPT для применения в качестве клинически пригодного биомаркера патологических состояний, связанных с концентрацией нейромеланина. Она имеет очевидные преимущества: она практична (например, недорогая и неинвазивная), особенно для продолжительной визуализации, и обеспечивает высокое анатомическое разрешение по сравнению со стандартными методами визуализации, что облегчает определение функционально различных регионов ЧС с различными патофизиологическими ролями. Предполагаемая способность НМ-MPT определять НМ в долгосрочной перспективе, учитывая медленное накопление НМ в ЧС в течение жизни и высокую воспроизводимость этой процедуры, позволяет предположить, что НМ-MPT может представлять собой стабильный маркер, нечувствительный к острым состояниям (например, недавняя бессонница или употребление психоактивных веществ). Это может быть особенно привлекательной характеристикой биомаркера-кандидата, который может дополнить другие маркеры. Размерный маркер связанных с болезнью Паркинсона изменений в уровне НМ был бы чрезвычайно полезен в качестве продолжительного биомаркера для болезни Паркинсона. Такой биомаркер может дополнительно помочь выбрать подгруппу субъектов из группы риска, которые в большей степени, чем субъекты с CNR в целом, могут получить пользу от лекарственных средств, тем самым усиливая имеющиеся в настоящее время процедуры прогнозирования риска, основанные исключительно на небиологических показателях.

[00168] Возможны некоторые ограничения для потенциальных применений НМ-MPT. Подобно другим показателям нейровизуализации примерные данные показывают, что НМ-MPT сигнал может быть чувствительным, но не полностью специфичным для концентрации НМ. Другие свойства тканей, включая плотность протонов, могут влиять на сигнал. Таким образом, может быть оправдана осторожность при интерпретации всех изменений НМ-MPT сигнала, используемого в качестве показателя изменения концентрации НМ, особенно в регионах с низкой концентрацией НМ.

[00169] Примерный продолжительный мониторинг болезни Паркинсона

[00170] МР-изображения получают примерно каждый год, примерно каждые два года, примерно каждые три года, примерно каждые четыре года, примерно каждые пять лет, и измеряют уровень, сигнал и/или концентрацию нейромеланина. Уровень, сигнал

и/или концентрацию нейромеланина сравнивают с предшествующими сканами. После сравнения уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина снижение во времени указывает на прогрессирование состояния. В некоторых вариантах осуществления снижение пропорционально прогрессированию или тяжести болезни Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство вводят после первого МРТ-скана и МРТ-скана во второй временной точке после введения лекарственного средства. Сравнение двух сканов может указывать на эффективность схемы лечения.

[00170] Примерное получение НМ-МРТ

[00171] МРТ-изображения были получены для всех участников исследования на сканере GE Healthcare 3T MR750 с использованием 32-канальной головной катушки Nova с фазированной решеткой. По логистическим причинам несколько сканов (например, 17% от всех сканов, 24 из 139) проводили с использованием вместо этого 8-канальной головной катушки *в организме*. Во время пилотного исследования различные последовательности НМ-МРТ сравнивались для достижения оптимального CNR в ЧС с использованием 2D последовательности градиентного эхо-отклика с контрастом переноса намагниченности (например, 2D GRE-MT) с параметрами: время повторения (TR)=260 мс, время эхо (TE)=2,68 мс, угол переворота=40°, планарное разрешение=0,39×0,39 мм², частичное покрытие головного мозга полем зрения (FoV)=162×200, матрица=416×512, число срезов=10, толщина среза=3 мм, зазор среза=0 мм, смещение частоты переноса намагниченности=1200 Гц, число возбуждений [NEX]=8, время сбора данных=8,04 мин. Протокол отнесения срезов состоял из ориентации стека изображений вдоль линии передней-комиссуры-задней-комиссуры («АСРС») и помещения верхнего среза на 3 мм ниже дна третьего желудочка, если смотреть в сагиттальной плоскости в середине головного мозга. Данный протокол обеспечивал покрытие ЧС-содержащих участков среднего мозга (например, корковых и подкорковых структур, окружающих ствол головного мозга) с высоким пространственным планарным разрешением с использованием короткого скана, легко переносимого популяциями субъектов с клиникой заболевания. Структурные МРТ-сканы всего мозга с высоким разрешением также были получены для предварительной обработки данных 2D GRE-MT (например, НМ-МРТ): последовательность T1-взвешенных изображений 3D BRAVO (например, время инверсии=450 мс, TR≈7,85 мс, TE≈3,10 мс, угол переворота=12°, поле обзора=240×240, матрица=300×300, число срезов=220, изотропный размер вокселя=0,8 мм³) и последовательность T2-взвешенных изображений CUBE (например, TR=2,50 мс, TE≈мс, длина эхо-трейна=120, поле обзора=256×256, число срезов=1, размер изотропного вокселя=8 мм³). Качество НМ-МРТ изображений визуально проверяли на наличие артефактов сразу после получения, и при необходимости сканы повторяли, если позволяло время. Десять участников были исключены за счет четко видимых, размазанных или полосатых артефактов, влияющих на средний мозг (например, в результате движения участника, n=4), или за счет неправильного размещения стека изображений (например, n=6).

[00172] Примерная предварительная обработка НМ-MPT

[00173] НМ-MPT сканы предварительно обрабатывали с использованием SPM12 для облегчения воксельного анализа в стандартизированном MPT-пространстве. Например, НМ-MPT сканы и T2-взвешенные сканы были зарегистрированы вместе с T1-взвешенными сканами. Сегментацию ткани выполняли с использованием T1- и T2-взвешенных сканов в виде отдельных каналов. Сканы всех участников исследования нормализовали в MPT-пространстве с использованием процедур DARTEL с шаблоном серого и белого вещества, созданным из исходной выборки субъектов. Размер вокселей после повторной выборки несглаженных, нормализованных НМ-MPT сканов составлял 1 мм, изотропный. Все изображения визуально проверяли после каждой процедуры предварительной обработки. Затем выполняли нормализацию интенсивности и пространственное сглаживание с использованием пользовательских скриптов Matlab. CNR для каждого субъекта и вокселя v рассчитывали как относительное изменение интенсивности I сигнала НМ-MPT по сравнению с эталонной областью RR трактов белого вещества, о которых известно, что они имеют минимальное содержание НМ, ножки большого мозга, как $CNR_v = (I_v - \text{режим}(I_{RR})) / \text{режим}(I_{RR})$. Маску шаблона эталонной области в MPT-пространстве создавали посредством ручной трассировки на шаблоне НМ-MPT изображения (например, среднее значение нормализованных НМ-MPT сканов от субъектов исходной выборки). Режим (I_{RR}) рассчитывали для каждого участника на основе функции сглаживания ядра гистограммы всех вокселей в маске. Был использован режим, а не среднее или медианное значение, поскольку было обнаружено, что он более устойчив к исключению вокселей (например, за счет краевых артефактов), и это исключало необходимость в дальнейшей модификации маски эталонной области. Затем изображения подвергали пространственному сглаживанию с помощью гауссова ядра размером 1 мм по всей ширине на половине максимума.

[00174] Кроме того, была создана маска с избыточным охватом вокселей ЧС путем ручной трассировки на шаблонном НМ-MPT изображении. Затем маску уменьшали исключением краевых вокселей с экстремальными значениями: вокселей, показывающих экстремальные относительные значения для данного участника (например, за пределами 1° или 99° процентиля распределения CNR по вокселям ЧС у более чем 2 испытуемых) или вокселей, имеющих постоянно низкий уровень сигнала среди участников (например, CNR ниже 5% у более чем 90% субъектов). С использованием этих процедур удаляли 9% вокселей в маске, трассированной вручную, оставив окончательный шаблон маски ЧС, содержащей 1807 вторично отобранных вокселей.

[00175] Примерный НМ-MPT анализ

[00176] Все анализы проводили в Matlab (Mathworks, Natick, MA) с использованием пользовательских скриптов. В общем, надежный линейный регрессионный анализ выполняли среди субъектов для каждого вокселя v в маске ЧС в виде: $CNR_v = \beta_0 + \beta_1 \text{представляющее интерес измерение} + \sum_{i=2}^n \beta_i \text{мешающая ковариата} + \epsilon$. Представляющее интерес измерение состояло либо из данных визуализации (например,

способность высвобождать дофамин), либо клинических данных (например, тяжесть болезни Паркинсона), в зависимости от анализа. Мешающие ковариаты, включающие диагноз, головную катушку и возраст, различались для разных анализов; в то время как все анализы включали ковариаты возраста, ковариаты головной катушки и диагноза только в анализы, где эти переменные различались у разных субъектов. Надежная линейная регрессия использовалась, чтобы свести к минимуму необходимость в регрессионной диагностике в контексте массового одномерного воксельного анализа. Частичная (например, непараметрическая) корреляция Спирмена использовалась вместо линейной регрессии, если переменные не имели нормального распределения в соответствии с критерием Лиллифорса при $p < 0,05$ (например, как в случае способности к высвобождению дофамина). Воксельный анализ проводили в шаблонной маске ЧС после цензурирования точек данных субъекта с отсутствующими значениями (например, за счет неполного охвата дорсальной области ЧС у меньшинства субъектов в результате межличностной анатомической вариабельности) или экстремальных значений (например, значения более экстремальные, чем 1^й или 99^й процентиль распределения CNR по всем вокселям ЧС и субъектам [значения CNR ниже -9% или выше 40% соответственно]). Для всех воксельных анализов пространственная протяженность эффекта определялась как число вокселей k (например, смежных или несмежных), демонстрирующих значительную взаимосвязь между представляющим интерес показателем и CNR (например, максимальное пороговое значение вокселя для t -критерия коэффициента регрессии β_1 $p < 0,05$, односторонний [β_1^+]).

[00177] Проверка гипотезы основывалась на тесте перестановки, в котором представляющее интерес измерение случайным образом перемешивалось по отношению к CNR. В данном тесте были внесены поправки на множественные сравнения посредством определения того, была ли пространственная протяженность эффекта k больше, чем можно было бы ожидать случайно (например, $p_{\text{корр}} < 0,05$, 10000 перестановок; эквивалентно p -значению с исправлением ошибок на уровне кластера, хотя в этом случае не требовалось, чтобы воксели образовывали кластер с соседними вокселями, учитывая небольшой размер ЧС и свидетельство того, что уровни ЧС, определяемые конкретными проекционными участками, не обязательно включают анатомически сгруппированные нейроны). В каждой итерации порядок значений представляющей интерес переменной (например, способность к высвобождению дофамина) случайным образом переставлялся среди испытуемых субъектов (например, и сохранялся для анализа каждого вокселя в маске ЧС для данной итерации теста перестановки с учетом для пространственных зависимостей). Это давало показатель пространственной протяженности для каждого из

10000 переставленных рядов данных, сформировав нулевое распределение, по которому можно рассчитать вероятность случайного наблюдения пространственной протяженности k эффекта в истинных данных ($p_{\text{корр}}$). Для проверки гипотез, связанных с эффектами соединения, анализ перестановок определил, является ли степень перекрытия k для обоих эффектов ($\beta_{1\text{эффект1}}^+ \cap \beta_{1\text{эффект2}}^+$) выше, чем можно было бы ожидать случайно (например, $p < 0,05$, 10000 перестановок) на основе нулевого распределения, подсчитывающего перекрытие значимых вокселей после того, как расположение истинно значимых вокселей для каждого эффекта было случайно перемешано в маске SN.

[00178] **Примеры топографических анализов.** Множественный линейный регрессионный анализ вокселей ЧС использовали для прогнозирования силы эффекта (например, или наличия значительного эффекта соединения) в зависимости от координат вокселя МРТ в направлениях x (например, абсолютное расстояние от средней линии), y , и z .

[00179] **Примерные ROI анализы.** Апостериорный анализ представляющей интерес области, исследующий средний сигнал НМ-МРТ по вокселям во всей маске ЧС, включал те же ковариаты, которые использовались в соответствующих воксельных анализах, плюс дополнительная ложная ковариата, индексирующую субъектов с неполным охватом дорсального слоя ЧС, поскольку дорсально-вентральный градиент интенсивности сигнала в ЧС искажал средние значения CNR у этих субъектов. Данную ковариату «неполное покрытие ЧС» не использовали для анализа НМ-МРТ сигнала, извлеченного из вокселей «дофамина» или вокселей «болезни Паркинсона, перекрывающихся», поскольку эти ограниченные наборы вокселей имели относительно небольшой вклад от дорсального SN.

[00180] **Примерный эксперимент с посмертными образцами тканей**

[00181] Посмертные образцы ткани среднего мозга человека получали из The New York Brain Bank в Колумбийском университете. Было получено семь образцов, каждый из которых был отобран у субъекта, страдающего болезнью Паркинсона. Образцы представляли собой срезы свежзамороженной ткани ростральной половины среднего мозга толщиной ~ 3 мм, содержащие пигментированную ЧС. Эти образцы сканировали с использованием протокола НМ-МРТ, аналогичного протоколу, используемому в естественных условиях, после чего они были вскрыты для анализа концентрации в ткани ЧС. Чашка, содержащая образец, включала сетчатую вставку, используемую для совмещения рассечений с МРТ-изображениями.

[00182] **Примерное нейрохимическое измерение концентрации НМ в посмертных образцах ткани.** Образцы, полученные из каждого среза сетки, гомогенизировали с использованием титановых инструментов. Концентрацию НМ в каждом срезе сетки затем измеряли в соответствии с ранее описанным типовым спектрофотометрическим методом с небольшими модификациями для улучшения удаления мешающих компонентов ткани из областей среднего мозга с более высоким

содержанием волокон и меньшим числом нейронов, содержащих НМ, по сравнению со срезами собственно рассеченной ЧС по анатомическим границам. Дополнительные тесты подтвердили, что примерные методы очистки Fomblin® были эффективными и что ни это вещество, ни краситель метиленовый синий не могли повлиять на спектрофотометрические измерения НМ.

[00183] Примерное МРТ-измерение НМ сигнала в посмертных образцах ткани.

НМ-МРТ сигнал измеряли в соответствующих срезах сетки с использованием пользовательского скрипта Matlab. Обработка НМ-МРТ изображений включала автоматическое удаление вокселей, показывающих краевые артефакты и выпадение сигнала, усреднение по срезам для создания 2D-изображения и совмещение с сеткой размеров, соответствующих вставке сетки. Регистрация сетки была отрегулирована вручную на основе маркеров углублений и артефактов краев в форме сетки, присутствующих в самом верхнем срезе, где находилась вставка сетки. Сигнал в остальных вокселях усреднялся в пределах каждого среза сетки. Для нормализации интенсивность сигнала по образцам, CNR для каждого среза сетки рассчитывали, как и в воксельном анализе *в организме*. Эталонная область для каждого образца определялась тремя срезами сетки, которые лучше всего соответствовали расположению эталонной области ножки головного мозга, используемой для сканирования *в организме*.

[00184] Примерный статистический анализ посмертных данных. Модель обобщенных линейных смешанных эффектов («GLME»), включающая данные по всем срезам сетки g и образцам s , использовали для прогнозирования концентрации ткани НМ в каждом срезе сетки на основе среднего CNR НМ-МРТ в том же срезе сетки. Анализы GLME использовали изотропную ковариационную матрицу и аппроксимировали с помощью оценки максимального псевдоправдоподобия, реализованной с помощью функции Matlab `fitglme`. Тесты отношения правдоподобия при $p < 0,05$ отдавали предпочтение редуцированным моделям без случайных наклонов. Таким образом, все модели включали случайные точки пересечения, но не случайные наклоны, как: $[NM]_{gs} = \beta_0 + \beta_1 \cdot \overline{CNR}_{gs} + \sum_{i=2}^n \beta_i \cdot \text{мешающая ковариата}_{gs} + b_{0s} + \varepsilon_{gs}$. Базовая модель включала только среднее значение CNR НМ-МРТ в данном срезе сетки $\overline{CNR}_{gs}$ в качестве прогноза фиксированных эффектов. Срезы рядом с PAG, как правило, имеют относительно высокую интенсивность сигнала, но низкую концентрацию НМ в ткани. Таким образом, расширенная модель включала бинарную переменную для присутствия PAG в срезах сетки (например, PAG+, PAG-) и член взаимодействия НМ-МРТ CNR x PAG в качестве дополнительных ковариат фиксированных эффектов (например, взаимодействие было существенным при $p = 0,040$, что подтверждает, что НМ-МРТ менее сильно связана с концентрацией НМ в PAG+ по сравнению с PAG- областями). PAG+ секции сетки (например, от 1 до 5 на образец) определяли как расположенные в заднемедиальной части

образца и соответствующие анатомическому расположению PAG. Наконец, контрольный анализ дополнительно включал ковариату фиксированных эффектов, указывающую долю вокселей, содержащих ЧС, для каждого среза сетки, определяемую как долю вокселей с CNR выше 10% в срезах сетки, которые считаются содержащими ЧС при визуальном осмотре. Этот последний контрольный анализ был направлен на проверку того, будет ли региональная вариабельность CNR в НМ-MPT прогнозировать региональную изменчивость концентрации НМ в ткани даже после учета изменений обоих показателей как простой функции присутствия или отсутствия нейронов ЧС в данной области (например, в сочетании с частично-объемными эффектами).

[00185] Примерное исследование ПЭТ-визуализации

[00186] Субъекты (например, здоровые контрольные субъекты, пациенты с болезнью Паркинсона) подвергались ПЭТ-сканированию с использованием радиофармпрепарата [^{11}C]раклоприда и стимуляции амфетамином для количественного определения способности к высвобождению дофамина. Исходный ПЭТ-скан проводили в один день, и ПЭТ-скан после введения амфетамина проводили на следующий день, через 5-7 ч после введения декстроамфетамина (например, 0,5 мг/кг, перорально). Для каждого ПЭТ-скана данные в режиме списка были получены на ПЭТ-КТ сканере Biograph mCT (Siemens/CTI, Knoxville, TN) в течение 60 мин после однократной болюсной инъекции [^{11}C]раклоприда, объединяли в последовательность кадров возрастающей продолжительности и реконструировали с помощью фильтрованной обратной проекции с использованием программного обеспечения, предоставленного производителем. Данные ПЭТ корректировали с поправкой на движение и регистрировали в T1-взвешенном MPT-скане с использованием SPM2. ROI были нарисованы на T1-взвешенном MPT-скане для каждого субъекта, и переносили в совместно зарегистрированные данные ПЭТ. Строили кривые время-активность в виде средней активности в каждом ROI в каждом кадре. Примерной априорной ROI было ассоциативное полосатое тело, определяемое как полное хвостатое ядро и прекомиссуральная часть скорлупы, часть дорсального полосатого тела, которая получает нигростриальные аксональные проекции от нейронов ЧС и которая постоянно вовлекается в состояния, связанные с болезнью Паркинсона. Данные анализировали с использованием модели упрощенного справочника тканей («SRTM») с мозжечком в качестве эталонной ткани для определения потенциала связывания относительно несмещаемого компартмента (например, BP_{ND}). Первичным показателем результата было относительное снижение BP_{ND} ($\Delta\text{BP}_{\text{ND}}$), отражающее вызванное амфетамином высвобождение дофамина, показатель способности высвободить дофамин. Амфетамин индуцирует синаптическое высвобождение дофамина, происходящего как из цитозольных, так и из везикулярных запасов. Это приводит к чрезмерной конкуренции с радиофармпрепаратом за рецептор D2 и, одновременно, к интернализации D2-рецептора, вызванной агонистами, что приводит к замещению радиофармпрепарата и снижению BP_{ND} . Таким образом, $\Delta\text{BP}_{\text{ND}}$ объединяет оба эффекта и отражает величину запасов

дофамина. Поскольку эти запасы зависят от синтеза дофамина, то ПЭТ-показатель способности к высвобождению дофамина может быть связан с функцией дофамина. Это также может иметь отношение к НМ, учитывая, что накопление НМ может быть вызвано цитозольным дофамином (например, или везикулярным дофамином, когда он может транспортироваться в цитозоль).

[00187] Примерное исследование перфузионной визуализации с маркировкой артериального спина («ASL»)

[00188] Субъекты (например, здоровые контрольные субъекты, пациенты с болезнью Паркинсона) подвергались функциональному MPT сканированию ASL в состоянии покоя для количественного определения регионарного CBF. Все эти субъекты также участвовали в вышеуказанном исследовании и описаны ниже. Визуализацию псевдонепрерывной ASL-перфузии (например, 3D-pCASL) выполняли с использованием модуля 3D быстрого считывания спинного эхо стопки-спирали с подавлением фона с восемью спиральными пластинами в плоскости (например, TR=4463 мс, TE=10,2 мс), продолжительность маркировки=1500 мс, задержка после маркировки=2500 мс, отсутствие градиентов дробления потока, поле обзора=240×240, NEX=3, толщина среза=4 мм) и длина сигналов эхо-трейна 23 для получения 23 последовательных аксиальных срезов. Маркировочную плоскость толщиной 10 мм располагали на 20 мм ниже нижнего края мозжечка. Общее время скана составило 259 с. Данные ASL-перфузии анализировали для создания изображений CBF с использованием программного обеспечения Functool (версия 9.4, GE Medical Systems). CBF рассчитывали, как описано в предшествующей работе.

[00189] Для предварительной обработки изображения CBF были совместно зарегистрированы с изображениями ASL-локализатора, которые затем были совместно зарегистрированы с изображениями T1, с параметрами совместной регистрации, примененными к изображениям CBF. Затем изображения CBF нормализовали в MPT-пространстве с использованием тех же процедур, описанных выше для НМ-MPT сканов. Среднее значение CBF рассчитывали в пределах всей маски ЧС и в пределах маски вокселей ЧС, значимо связанной со способностью высвобождения дофамина в ассоциативном полосатом теле. Частичный корреляционный анализ на основе ROI использовали для анализа взаимосвязи между средним значением CBF и средним значением CNR НМ-MPT в одной и той же маске с учетом возраста и диагноза.

[00190] Дополнительный эксперимент с посмертными образцами тканей

[00191] Посмертные образцы ткани среднего мозга человека получали из The New York Brain Bank в Колумбийском университете. Было получено семь образцов, каждый от субъекта, который на момент смерти страдал болезнью Альцгеймера или другой деменцией, не связанной с болезнью Паркинсона (например, в возрасте от 44 до 90 лет; дополнительную клиническую и демографическую информацию см. в таблице 1 ниже). Никто не страдал болезнью Паркинсона, симптомами болезни Паркинсона или любым другим моторным расстройством или нейродегенеративным заболеванием, поражающим

ЧС, по данным невропатологического обследования на предмет накопления аномальных белков, таких как альфа-синуклеин, бета-амилоид или тау. В одном случае было показано заметное снижение плотности нейронов в ЧС, несмотря на четко идентифицируемый НМ. Анализы, за исключением этого одного случая, не изменили наблюдаемую взаимосвязь между CNR НМ-MPT и концентрацией НМ. Следовательно, представленные данные включают данный случай для повышения статистической мощности. Образцы представляли собой срезы свежемороженой ткани ростральной половины среднего мозга правого полушария толщиной ~3 мм, содержащие пигментированную ЧС. Они хранились при температуре -80°C. Эти образцы сканировали с использованием протокола НМ-MPT, после чего они были вскрыты для анализа концентрации НМ в ткани. Для сеанса MPT-сканирования образцы постепенно оттаивали до 20°C, что подтверждали лазерным термометром. Образцы помещали в изготовленную на заказ чашку, напечатанную на 3D-принтере из нейлонового полимера, совместимого с MPT (NW Rapid Mfg., McMinnville, OR), а сверху на образец помещали соответствующую крышку с сетчатой вставкой и прикрепляли, чтобы удерживать образец на месте. Закрепленные в чашке образцы полностью погружали в невидимое при постановке MPT масло (перфторполиэфир Fomblin® Y25; Solvay, Thorofare, NJ) и помещали в эксикатор на 30 мин для удаления воздуха из ткани. Углубления в четырех кардинальных точках края чашки заполняли водой, чтобы отметить ее положение и ориентацию на MPT-изображениях. Затем чашки помещали на специальную подставку внутри 32-канальной катушки Nova с фазированной решеткой и сканировали с использованием вышеописанной последовательности 2D GRE-MT НМ-MPT для визуализации в организме. Единственными изменениями в протоколе сканирования посмертных образцов тканей были увеличение разрешения (например, планарное разрешение=0,3125×0,3125 мм², толщина среза 0,60 мм) и уменьшение поля зрения FoV (например, 160×80).

[00192] После сеанса сканирования образцы повторно замораживали на месте и маркировали линиями сетки, нанося на ткань краситель метиленовый синий (например, 0,05% водный раствор [5 мг/10 мл]; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), используя сетчатую вставку в качестве штампа. Встроенные идентификаторы в стенках чаши, обеспечивали постоянную фиксацию ориентации сетки относительно образца. В течение 4 суток после сканирования частично размороженные образцы рассекали вдоль линий сетки после тщательного удаления Fomblin® посредством стекания со срезов ткани с последующим осторожным прокатом поверхности срезов на сверхчистой фильтровальной бумаге. Рассечение и манипуляции с тканевыми срезами выполняли керамическими лезвиями и щипцами из титана и пластика, чтобы избежать контаминации железом. Каждый срез сетки (например, 3,5 мм × 3,5 мм × ~3 мм, в зависимости от толщины среза) вместе с любыми соседними частичными срезами сетки взвешивали, хранили по отдельности в пробирках Эппендорфа и замораживали. Таким образом, образцы были разделены на 13-20 срезов сетки; кодировали столбец сетки и номер ряда каждого рассеченного среза сетки.

[00193] Примерный НМ-MPT анализ: исключение вокселей с несколькими наблюдениями

[00194] Для снижения риска ошибки типа II, воксели исключали из анализа, если после цензурирования точек данных по субъекту с отсутствующими или экстремальными значениями t-критерий коэффициента регрессии β_1 для конкретного анализа имел менее 10 степеней свободы (например, следует отметить, что степени свободы учитывают размер выборки с пригодными для использования данными в данном вокселе, а также число модельных прогностических факторов). Такое исключение вокселей применяли только к анализу взаимосвязи НМ-MPT сигнала со способностью к высвобождению дофамина, учитывая меньший размер выборки ряда данных ПЭТ, и, таким образом, данный анализ выполняли для 1341 в повторной выборке вокселей ЧС (например, а не для полной маски из 1807 повторных выборок вокселей). Выбор порогов исключения где-то между 8-11 степенями свободы давал очень схожие результаты. См. вставку для распределения степеней свободы для всех вокселей в этом анализе.

[00195] Примерный НМ-MPT анализ: нециклический выбор вокселей для оценки объективного размера эффекта

[00196] Для воксельного анализа был получен объективный показатель размера эффекта с использованием метода проверки с исключением из множества по одному: для данного субъекта воксели, в которых представляющая интерес переменная была связана с сигналом НМ-MPT, были сначала идентифицированы в анализе, включающего всех кроме этого субъекта (например, удержанного). Затем из этого ряда вокселей рассчитывали средний сигнал у удержанного субъекта. Данную процедуру повторяли для всех субъектов, так что каждый субъект имел извлеченное среднее значение сигнала НМ-MPT, полученное в результате анализа, который их исключил. Таким образом, этот объективный выбор вокселей и извлечение данных позволили избежать статистической цикличности. Затем определяли объективные оценки размера эффекта (например, коэффициент Коэна d или коэффициент корреляции) сопоставлением этих извлеченных значений НМ-MPT сигнала с представляющими интерес переменными для удержанных субъектов и включением тех же ковариат, что и в воксельном анализе, и дополнительную ковариату, индексирующую субъектов, у которых отсутствует полное покрытие дорсальной ЧС (например, за счет дорсально-вентрального градиента интенсивности НМ-MPT сигнала).

[00197] Примерное нейрохимическое измерение концентрации НМ в посмертных образцах тканей: исследование химических агентов, нанесенных на посмертный образец ткани

[00198] Для тестирования того, влияет ли Fomblin® на измерение НМ, у одного здорового субъекта иссекали небольшие кусочки компактной области ЧС с аналогичными уровнями пигментации. Некоторые кусочки (например, $n=3$) погружали в Fomblin®, затем очищали от Fomblin® (например, осушали и прокатывали на фильтровальной бумаге); остальные кусочки (например, $n=5$) не погружали в Fomblin® и использовали в качестве

контрольных образцов. Концентрация НМ была сопоставима в этих двух наборах кусочков (например, среднее значение + стандартное отклонение: $0,82 \pm 0,08$ в сравнении с $0,86 \pm 0,09$ мкг НМ/мг влажной ткани соответственно; $t_6 = -0,62$, $p = 0,56$). Водорастворимый краситель метиленовый синий эффективно удалялся во время процедур промывания в примерном стандартном протоколе измерения концентрации НМ; кроме того, было подтверждено, что длина волны поглощения этого соединения (например, с пиком примерно при 680 нм) может находиться далеко от используемой при определении концентрации НМ (например, 350 нм).

[00199] Примерное МРТ измерение НМ-сигнала в посмертных образцах ткани: автоматическое удаление вокселей, показывающих краевые артефакты и выпадение сигнала

[00200] Обработка НМ-МРТ изображений включала автоматическое удаление вокселей с низким уровнем сигнала, включая все воксели за пределами образца или воксели внутри образца, показывающие выпадение сигнала. Порог для исключения вокселей с низким уровнем сигнала определялся для каждого образца на основе гистограммы всех вокселей на изображении, которая была подобрана с использованием сглаживающей функции ядра. Порог был определен как сигнал, соответствующий минимуму, лежащему между крайним левым пиком на аппроксимированной гистограмме, соответствующим вокселям с низким уровнем сигнала вне образца, и крайним правым пиком, соответствующим вокселям с более высоким сигналом внутри образца (например, последовательным с бимодальным распределением).

[00201] Для устранения краевых артефактов первая процедура заключалась в определении границ между образцом и окружающим пространством за пределами образца, а также между образцом и областями выпадения сигнала. Данные границы были определены в 3D и 2D. Для этого пограничные воксели образца, лежащие непосредственно рядом с вокселями с низким уровнем сигнала (определенные выше, помечали с помощью функции `bwperim` в Matlab, эти пограничные воксели были определены для всего объема, а также для 2D сплюснутого изображения, созданного усреднением всех срезов. Данные пограничные воксели удаляли из образца (например, сначала 3D пограничные воксели удаляли из 3D изображения, затем 2D пограничные воксели, расширенные 2 вокселями, удаляли из полученного уплощенного изображения). Наконец, воксели с экстремальными значениями сигналов (например, расстояние Кука $> 4/n$ на модели линейной регрессии только с константами) по отношению к другим вокселям в том же 2D срезе сетки удаляли. Полученное 2D-изображение, очищенное от краевых артефактов, выпадения сигнала и других выбросов вокселей, переносили на процедуры финального анализа.

[00202] Примерное исследование с ПЭТ-визуализацией: время ПЭТ-скана после введения амфетамина

[00203] Каждому субъекту проводили 2 ПЭТ-скана после введения амфетамина для целей отдельного эксперимента, который был опубликован ранее. Данное предыдущее

исследование было направлено на оценку временной динамики интернализации рецепторов после введения агонистов, измеренной по пролонгированному замещению радиофармпрепарата D2 [^{11}C]раклоприда. ПЭТ-сканы получали за четыре сеанса: исходный уровень, через 3 ч после введения амфетамина, через 5-7 ч после введения амфетамина и через 10 ч после введения амфетамина. Однако не все временные точки после введения амфетамина были доступны для всех испытуемых субъектов. Однако замещение было очень стабильным и не различалось между 3-часовой и 5-7-часовой временными точками и ($\Delta\text{BP}_{\text{ND}}$ действительно сильно коррелировала между субъектами между этими двумя временными точками; $r=0,75$). Использовали только один из этих сканов после введения амфетамина: соответствующий 5-7 ч после введения амфетамина. Была выбрана 5-7-часовая временная точка, потому что это была временная точка с наиболее доступными данными (например, отсутствующими только для 3/18 участников, для которых она была заменена данными в 3-часовой временной точке). Замещение через 5-7 ч после введения амфетамина, подобное замещению через 3 ч после введения амфетамина, отражает величину высвобождения дофамина за счет воздействия амфетамина, что может быть комбинацией конкуренции между дофамином и радиофармпрепаратом за связывание с рецептором и агонистом, индуцированная интернализация рецептора, которые обе зависят от величины доступности агониста. Таким образом, 5-7-часовая временная точка может быть оптимальной временной точкой для данного исследования за счет большего числа испытуемых субъектов с доступными данными и с учетом наблюдаемой стабильности смещения между 3-часовыми и 5-7-часовыми временными точками. В 10- часовой временной точке BP_{ND} , как правило, был выше, вероятно, в результате снижения интернализации рецепторов после повторного использования рецепторов. Исследование 11 субъектов с данными ПЭТ через 3 ч показало, что размер эффекта корреляции между $\text{CNR}_{\text{NM-MPT}}$ и $\Delta\text{BP}_{\text{ND}}$ в данной 3 часовой временной точке был аналогичен таковому в 5-7-часовой временной точке.

[00204] Примерное исследование, связанное с болезнью Паркинсона, с использованием нейромеланин(НМ)-МРТ

[00205] Предпосылки

[00206] Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание с моторными симптомами, которое является вторым наиболее распространенным нейродегенеративным заболеванием после болезни Альцгеймера среди пожилых людей. Болезнь Паркинсона с такими характерными симптомами, как тремор покоя, брадикинезия, ригидность и постуральная неустойчивость, определяется в первую очередь как двигательное расстройство и патологически характеризуется дегенерацией дофаминергических нейронов черной субстанции и наличием телец Леви (а-синуклеин с неправильной укладкой) в оставшихся выживших нейронах. Немоторные проявления могут включать депрессию, вегетативную дисфункцию, катаракту и когнитивные нарушения, такие как легкие когнитивные нарушения и деменцию Паркинсона.

[00207] Нейромеланин (НМ)-МРТ сигнал существенно снижается в ЧС у пациентов с БП, что согласуется с дегенерацией НМ-позитивных дофаминовых клеток в ЧС и снижением концентрации НМ в посмертной ткани ЧС пациентов с БП по сравнению с контрольными субъектами в соответствующей возрастной группе. С тех пор, как в 2002 году впервые была использована НМ-МРТ, было проведено не менее 35 клинических исследований изменений НМ в черной субстанции, которые показали, что данный биомаркер дегенерации при болезни Паркинсона обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Результаты недавнего метаанализа результатов 16 клинических испытаний, включающих 364 пациента с болезнью Паркинсона и 231 контрольных здоровых субъектов, показал, что НМ-МРТ имеет чувствительность на уровне 97,7% и специфичность на уровне 94,4% для выявления изменений в ЧС.

[00208] Авторы изобретения полагают, что способ по изобретению повысит точность диагностики с использованием НМ-МРТ. НМ-МРТ без сравнения с контрольной базой данных, может иметь более низкую диагностическую точность в качестве биомаркера на очень ранних стадиях БП за счет вариабельности уровней НМ в ЧС у этих пациентов, а также в группе контрольных субъектов. Точность НМ-МРТ значительно повышается за счет продолжительных оценок во времени, показывающих снижение НМ в ЧС во времени. Этот результат будет отсутствовать у пациентов без БП.

[0002] **Задачи**

[00209] Показать, что уровни НМ в ЧС будут снижаться во времени у субъектов с вероятностью наличия БП и БП на ранних стадиях с использованием НМ-МРТ.

[00210] Повысить точность чувствительности/специфичности НМ-МРТ в качестве диагностического биомаркера, а также прогнозирования прогрессирования БП.

[00211] **Обоснование**

[00212] Обоснование заключается в том, что НМ-МРТ можно использовать в качестве косвенного показателя функции дофамина в ЧС, и что более низкие значения НМ в ЧС наблюдаются у пациентов с БП, и что эти значения будут продолжать снижаться во времени.

[00213] **Дизайн исследования**

[00214] Многоцентровое исследование НМ-МРТ проводится для оценки уровней НМ ЧС и LC во времени примерно у 200 субъектов с БП на ранних стадиях и 100 контрольных субъектов. Оценки НМ-МРТ проводятся раз в 6 месяцев в течение до 2 лет. Субъекты также оцениваются раз в 6 месяцев, где оценка включает Унифицированную шкалу оценки болезни Паркинсона (UPDRS) и сопутствующие лекарственные средства.

[00215] Общий размер выборки: приблизительно 300 субъектов.

[00216] Продолжительность исследования: 2 года.

[00217] Период включения пациентов в исследование: 1,5 года.

[00218] Число центров: приблизительно 40 центров.

[00219] Первичная конечная точка:

[00220] Изменение абсолютных уровней НМ между субъектами с вероятностью

наличия болезни Паркинсона и контрольными субъектами на исходном уровне и в конечной точке (в целом 2 года).

[00221] Степень снижения НМ между субъектами с вероятностью наличия болезни Паркинсона и контрольными субъектами в исходном периоде и в конечной точке (в целом 2 года)

[00222] Варианты осуществления, относящиеся к НМ-MPT и болезни Паркинсона

[00223] Не у всех пациентов уровни нейромеланина снижаются в одинаковой степени при БП. Фактически, как показано в публикации Cassidy et al., 2019, у некоторых пациентов с БП уровень нейромеланина выше, чем у здоровых людей, и наоборот, а также у некоторых здоровых пациентов уровень нейромеланина ниже, чем у пациентов с БП. Программное обеспечение, обсуждаемое здесь, представляет собой медицинское устройство, которое может помочь в диагностике болезни Паркинсона без наличия у пациента известного исходного уровня и при отсутствии симптомов посредством сравнения уровней нейромеланина у пациента с уровнями из большой популяционной базы данных. Если уровень нейромеланина у пациента ниже, чем уровень, который был определен как пороговый (более чем на 30-50% ниже), то диагноз БП подтверждается.

[00224] Во втором варианте осуществления пациент проходит серийные нейромеланин-сканы каждые 5 лет. Если степень снижения нейромеланина у пациента превышает определенный процент (%), то потери нейромеланина в год (более 10-15%), подтверждают диагноз БП.

[00225] В третьем способе, если общее количество нейромеланина на серийных сканах уменьшилось до ниже чем примерно 30% от исходного уровня нейромеланина у пациента, то определяется, что у пациента болезнь Паркинсона.

Пример 2А. Диагностика и продолжительная оценка болезни Паркинсона, где нейромеланин-MPT продолжительная оценка НМ-MPT помогает в диагностике болезни Паркинсона на ранней стадии

[00226] Первичные задачи

[00227] Определить абсолютные изменения и процентные изменение концентрации НМ относительно исходного уровня, которые необходимы для диагностики болезни Паркинсона (БП), с использованием продолжительных оценок Tegra нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа.

[00228] Показать снижение концентрации НМ от исходного уровня до конечной точки с использованием Tegra нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа у субъектов с болезнью Паркинсона на ранних стадиях (стадия 1 или 2) или с гаплотипом LRRK2 по сравнению с контрольными субъектами.

[00229] Определить разницу (абсолютное и процентное изменение) уровней нейромеланина (концентрация в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) по сравнению с контрольной группой, что позволяет диагностировать БП.

[00230] Показать, что общая концентрация НМ в компактной части черной

субстанции (ЧС), концентрация НМ в подобластях ЧС, объем НМ в общей ЧС и объем подобластей ЧС ниже у субъектов с БП по сравнению с нормальным диапазоном в контрольной группе.

[00231] Вторичные задачи

[00232] Продemonстрировать наличие корреляции между оценками НМ-MPT (концентрация в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) и баллами по Унифицированной шкале оценки болезни Паркинсона Международного общества расстройств движений (MDS-UPDRS).

[00233] Продemonстрировать корреляцию между оценками НМ-MPT (концентрация в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) с визуализацией DaTscan в течение 5 лет.

[00234] Продemonстрировать корреляцию между оценками НМ-MPT (концентрация в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) со шкалой определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра.

[00235] Продemonстрировать, что применение Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа находит специфические воксели (называемые вокселями БП), уникальные для каждого пациента, которые коррелируют с их конкретными симптомами по шкале MDS-UPDRS.

[00236] Продemonстрировать корреляцию вокселей болезни Паркинсона с симптомами Паркинсона, оцененными по шкале MDS-UPDRS.

[00237] **Конечные точки**

[00238] НМ-MPT визуализация с использованием Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа

[00239] Процентное изменение от исходного уровня до конечной точки в Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа у субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2) или гаплотипом LRRK2 по сравнению с контрольными субъектами.

[00240] Общая концентрация НМ в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc.

[00241] Изменение результатов от исходного уровня до конечной точки Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа у субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2) или гаплотипом LRRK2 по сравнению с контрольными субъектами.

[00242] Общая концентрация НМ в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc.

[00243] Различие (абсолютное и процентное изменение) уровней нейромеланина (концентрация в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) по сравнению с контрольной группой (в связи с диагностикой БП).

[00244] Общая концентрация НМ в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc у субъектов с БП по сравнению с контрольной группой.

[00245] Корреляция между оценками НМ-MPT (концентрация в SNc и подобластях

SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) со шкалой определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра.

[00246] Воксели БП у субъектов с БП по сравнению с контрольными субъектами, поскольку они коррелируют со шкалой MDS-UPDRS и специфическими симптомами по шкале MDS-UPDRS.

[00247] Визуализация DaTscan: 1) диагностика БП; 2) корреляция с данными Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа на исходном уровне и в течение 5 лет.

[00248] Унифицированной шкала оценки болезни Паркинсона Международного общества расстройств движений (MDS-UPDRS): 1) корреляция с результатами Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа на исходном уровне и в течение 5 лет; 2) корреляция с вокселями БП.

[00249] Дизайн исследования

[00250] Исследование представляет собой 6-летнее исследование (1 год для набора и 5 лет наблюдения) для демонстрации диагностической ценности Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа у субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2), которые не получали лечения L-ДОФА или в возрасте > 55 лет с гаплотипом LRRK2, у которых отсутствуют симптомы. В исследовании принимают участие приблизительно 300 субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2), которые не получали лечение леводопой, или субъекты без симптомов с гаплотипом LRRK2 (возраст > 55 лет) и 200 человек соответствующей по полу и возрасту контрольной группы. Субъекты включаются в исследование после подписания формы информированного согласия (ICF) и соответствия всем критериям включения/исключения. В течение периода скрининга у них будет проведено НМ-MPT сканирование, DaTscan и MDS-UPDRS. Каждый субъект будет оцениваться с использованием шкалы определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра. Субъект будет проходить ту же серию тестов через 12, 24, 36, 48 и 60 месяцев после включения в исследование.

[00251] Популяция субъектов

[00252] По завершении процедур скрининга пациенты должны соответствовать следующим критериям включения и не соответствовать критериям исключения для включения в исследование.

[00253] Критерии включения

[00254] Женщины и мужчины в возрасте старше 40 лет с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2), которые не получали лечение препаратом L-ДОФА. Клинический диагноз БП подтверждается с использованием DaTscan.

[00255] Женщины и мужчины в возрасте >55 лет с гаплотипом LRRK2, которые не имеют симптомов и у которых не диагностирована БП.

[00256] Согласие на участие в исследовании и возможность дать информированное согласие.

[00257] Критерии исключения

[00258] История лечения L-ДОФА

[00259] История расстройства, связанного с употреблением психоактивных веществ, определенного по DSM-V (за исключением табака), в течение по меньшей мере 6 месяцев до скрининга или положительного результата скрининга мочи на наркотики (на амфетамины, кокаин, опиоиды и фенциклидин). Субъекты с легким расстройством, связанным с употреблением каннабиса или алкоголя, могут быть зачислены с разрешения медицинского монитора.

[00260] Клаустрофобия или металлические имплантаты или парамагнитные объекты, находящиеся в теле субъекта, которые могут мешать МРТ-сканированию, как определено в соответствии с рекомендациями, изложенными в следующем справочнике: «Руководство по процедурам МРТ и металлическим объектам» Шеллок, доктор философии, Липпикотт-Рафен Пресс, Нью-Йорк, 1998.

[00261] Заболевание почек умеренной или тяжелой степени

[00262] Аллергия или гиперчувствительность к йоду или DaTscan или история расстройства, связанного с употреблением психоактивных веществ согласно DSM-V (за исключением табака) в течение по меньшей мере 6 месяцев до скрининга или положительный результат скрининга мочи на наркотики (на амфетамины, кокаин, опиоиды и фенциклидин). Субъекты с легким расстройством, связанным с употреблением каннабиса или алкоголя, могут быть зачислены с разрешения медицинского монитора.

[00263] Клаустрофобия или металлические имплантаты или парамагнитные объекты, содержащиеся в теле, которые могут мешать МРТ-сканированию, как определено в соответствии с рекомендациями, изложенными в следующем справочнике: «Руководство по процедурам МРТ и металлическим объектам» Шеллок, доктор философии, Липпикотт-Равен Пресс, Нью-Йорк, 1998.

[00264] Заболевание почек умеренной или тяжелой степени

[00265] Аллергия или гиперчувствительность к йоду или DaTscan

[00266] **Оценки - Скрининг:**

- Подписанное ICF
- Краткий международный нейропсихиатрический опросник (MINI)
- Психиатрическая и медицинская история
- Демография
- Физическое обследование, включая рост и массу тела без обуви
- Анализ мочи на наркотики
- Сопутствующие лекарственные препараты
- Критерии приемлемости
- НМ-МРТ изображения
- DaTscan
- Шкала определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра
- MDS-UPDRS

[00267] **Фаза исследования (визиты на 12, 24, 36, 48 и 60 месяц)**

[00268] Планируется проведение следующих оценок:

- НМ-MPT изображения
- DaTscan
- MDS-UPDRS

[00269] **Статистический анализ:**

[00270] В исследование включают приблизительно 300 субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1) без лечения L-ДОФА в анамнезе или субъекты без симптомов с гаплотипом LRRK2 (возраст > 55 лет) и 200 контрольных субъектов в соответствующей по полу и возрасту группе. Размер выборки основан на снижении концентрации нейромеланина SNc на 20% в конечной точке (через 5 лет) у субъектов со стадией 1 БП или гаплотипом LRRK2 по сравнению с контрольными субъектами. Анализ первичных и вторичных конечных точек выполняется с использованием анализа ковариации (ANCOVA), линейной регрессии или корреляции Пирсона.

[00271] **Первичные конечные точки:**

[00272] Процентное изменение от исходного уровня до конечной точки на НМ-MPT у субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2), которые не получали лечение L-ДОФА или с гаплотипом LRRK2, по сравнению с контрольными субъектами.

[00273] Общая концентрация НМ (микрограмм нейромеланина на микрограмм влажной ткани) в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc.

[00274] Изменение от исходного уровня до конечной точки на НМ-MPT у субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2), которые не получали лечение L-ДОФА или с гаплотипом LRRK2, по сравнению с контрольными субъектами.

[00275] Общая концентрация НМ в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc.

[00276] Общая концентрация НМ в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc ниже у субъектов с ранней стадией БП по сравнению с нормальным диапазоном контрольная группа.

[00277] Определить разницу (абсолютное и процентное изменение) уровней нейромеланина (концентрация в SNc, объем НМ в SNc) у субъектов с LRRK2 по сравнению с контрольной группой, что позволит поставить диагноз БП, подтвержденный с использованием DaTscan.

[00278] **Вторичные конечные точки**

[00279] Корреляции между оценками НМ-MPT и баллами по Унифицированной шкале оценки болезни Паркинсона Международного общества расстройств движений (MDS-UPDRS) и визуализацией DaTscan в течение 5 лет.

[00280] Корреляция между оценками НМ-MPT (концентрация в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) со шкалой определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра.

[00281] Корреляция вокселей болезни Паркинсона (идентифицированных с

использованием Tetraп нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа) с симптомами болезни Паркинсона, оцененными по шкале UPDRS.

[00282] Идентификация вокселей болезни Паркинсона (идентифицированных с использованием Tetraп нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа), которые коррелируют с конкретными симптомами болезни Паркинсона, оцененными по шкале UPDRS.

[00283] Примерная процедура воксельного анализа, основанная на дофаминовом биомаркере нейромеланине может быть использованы для обнаружения болезни Паркинсона у пациентов. В настоящее время отсутствуют утвержденные визуализирующие тесты, способные диагностировать болезнь Паркинсона, дифференцировать различные стадии болезни Паркинсона, прогнозировать течение и/или прогрессирование симптомов болезни Паркинсона, прогнозировать будущую ответную реакцию на лечение или прогнозировать будущие симптомы у субъектов с высоким риском развития болезни. Примерная система, способ и доступный компьютеру носитель могут быть реализованы на стандартном аппарате MPT в клинических условиях. Примерную процедуру на основе вокселей, когда способ применяется к НМ-MPT, можно использовать в качестве биомаркера у пациентов с болезнью Паркинсона в клинических условиях. Примерная система, способ и доступный компьютеру носитель также могут быть использованы для прогнозирования конверсии симптомов у людей с высоким риском развития болезни. Кроме того, примерную систему, способ и доступный компьютеру носитель можно использовать для диагностики или прогнозирования развития болезни Паркинсона.

[00284] Нейромеланин-чувствительная MPT (НМ-MPT) может обнаруживать содержание нейромеланина (НМ), продукта метаболизма дофамина, который с возрастом накапливается в дофаминовых нейронах черной субстанции (ЧС). Поскольку НМ-MPT может измерить дегенерацию дофаминовых клеток в ЧС, то данный способ может быть пригодным маркером для диагностики болезни Паркинсона (БП) и может быть пригоден для других нейропсихиатрических состояний.

[00285] Болезнь Паркинсона представляет собой изнурительное нейродегенеративное заболевание, которое нарушает моторный контроль, и не поддается адекватному лечению современными способами. Хотя известно, что биологические изменения, лежащие в основе болезни, связаны с дегенерацией катехоламинергических нейронов (дофаминовых и норадреналиновых нейронов), данную дегенерацию невозможно точно оценить с помощью современных инструментов, применяемых в клинике. Предположительно последовательности НМ-MPT способны обнаруживать нейрохимический нейромеланин, который находится в определенных структурах среднего мозга, а именно в компактной части черной субстанции (SNc; содержит дофаминовые нейроны) и голубом пятне (LC; содержит норадреналиновые нейроны).

[00286] Недавно полученные сведения о БП позволяют предположить, что дисфункция метаболизма дофамина и его побочного продукта нейромеланина может

способствовать дегенерации дофаминовых клеток, в частности, нейромеланин-позитивных клетках, в ЧС. Как следствие, поврежденные содержащие нейромеланин дофаминовые клетки дегенерируют и удаляются микроглией вместе с находящимися в них нейромеланиновыми гранулами (единственный известный биологический процесс, удаляющий НМ из ткани). Следовательно, нейромеланин-чувствительный МРТ-скан будет способен обнаружить дегенерацию катехоламинергических нейронов при БП. Процедура НМ-МРТ представляет собой быстрое (8 мин) и неинвазивное структурное МРТ-сканирование. В отличие от большинства структурных МРТ сканов, данный тип скана чувствителен к определенному нейрохимическому веществу, нейромеланину, за счет способности этого нейрохимического соединения связываться с металлами.

[00287] Таким образом, нейромеланин влияет на время T1 и T2 релаксации и может наблюдаться без подвергания субъектов воздействию каких-либо экзогенных контрастных агентов. НМ-МРТ сканирование показывает SNc и LC как гиперинтенсивные области в среднем мозге. Заметное снижение интенсивности и площади этого сигнала наблюдается при БП как для SNc, так и для LC, что ясно указывает на то, что данный сигнал способен обнаруживать нейрональную дегенерацию, происходящую при БП. Уже было показано, что НМ-МРТ превосходит существующие биомаркеры БП. Также было показано, что эти показатели в значительной степени коррелируют с тяжестью БП и обеспечивают высокую чувствительность и специфичность (80-95%) при выявлении болезни Паркинсона на ранних стадиях. Недавний метаанализ 16 клинических испытаний, включающих 364 пациентов с болезнью Паркинсона и 231 здоровых контрольных субъектов, показал, что НМ-МРТ имеет чувствительность на уровне 97,7% и специфичность на уровне 94,4%.

[00288] Визуализацию на основе нейромеланина сравнивали с DaTscan, одобренным FDA (ОФЭКТ визуализация с использованием радиофармпрепарата йодфлурана 123I) у пациентов с болезнью Паркинсона, где исследования показали статистически значимую корреляцию с DaTscan. В частности, объем нейромеланин-позитивной области компактной части черной субстанции (SNc), а также индекс асимметрии нейромеланин-позитивного объема SNc показали наличие высокой корреляции с коэффициентом специфического связывания (SBR) в DaTscan.

[00289] Большинство случаев болезни Паркинсона, вероятно, являются результатом сложного взаимодействия экологических и генетических факторов. Эти случаи классифицируются как спорадические и возникают у людей, у которых в семье не было очевидного наличия заболевания в анамнезе. Причина этих спорадических случаев остается неясной. Примерно 15 процентов людей с болезнью Паркинсона имеют семейную историю этого расстройства. Одной из мутаций, связанных с болезнью Паркинсона, является LRRK2, которая наследуется по аутосомно-доминантному типу. Мутации в LRRK2 являются наиболее распространенной генетической причиной болезни Паркинсона (БП) с поздним началом, выявленной на сегодняшний день. Пенетрантность мутаций LRRK2 четко зависит от возраста, увеличиваясь с 17% в возрасте 50 лет до 85% в возрасте 70 лет.

[00290] Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа была валидирована в качестве косвенного показателя функции дофамина в исследовании, в котором была установлена корреляция НМ-MPT сканирования с концентрацией НМ в посмертной ткани среднего мозга субъектов. НМ-MPT сканирование срезов среднего мозга, содержащих ЧС, было выполнено у семи людей после смерти без гистопатологии, характерной для БП или связанными с БП синдромами (включая отсутствие телец Леви, состоящих из аномальных белковых агрегатов). После сканирования каждый образец разрезали вдоль линий сетки и измеряли концентрацию НМ с использованием биохимического разделения и спектрофотометрического определения. Также рассчитывали усредненное отношение контраст/шум (CNR) НМ-MPT для вокселей в срезе сетки. Во всех образцах среднего мозга срезы сетки с более высоким CNR НМ-MPT имели более высокую концентрацию НМ в ткани ($\beta_1=0,56$, $t_{114}=3,36$, $P=0,001$, модель смешанных эффектов). Как и предполагалось, гиперинтенсивность была наиболее заметна в срезах сетки, соответствующих ЧС, богатого НМ, отношения CNR НМ-MPT к концентрации НМ в областях, отличных от области периаквадуктального серого вещества (PAG) ($\beta_1=1,03$, $t_{112}=5,51$, $P=10^{-7}$). В соответствии с этой моделью 10%-ное увеличение CNR НМ-MPT соответствует расчетному увеличению 0,10 мкг НМ на мг ткани.

[00291] Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа разрабатывается как отдельное программное обеспечение в виде медицинского устройства (SaMD), с использованием которого измеряют уровни нейромеланина, полученные с использованием НМ-MPT. Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа можно использовать для точного измерения концентраций и объемов нейромеланина в черной субстанции. Концентрация нейромеланина является косвенным показателем активности дофаминергических нейронов, которую можно использовать в качестве вспомогательного средства для врачей, оценивающих пациентов с заболеваниями, влияющими на уровень дофамина в среднем мозге. В данном исследовании проводится продолжительная оценка субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2) без лечения L-ДОФА в анамнезе или субъектов без симптомов с гаплотипом LRRK2 в течение 5-летнего периода.

[00292] Определить абсолютное изменение и процентное изменение концентрации НМ относительно исходного уровня, что необходимо для диагностики болезни Паркинсона (БП), с использованием продолжительных оценок Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа.

[00293] Продемонстрировать снижение концентрации НМ от исходного уровня до конечной точки с использованием Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа у субъектов с болезнью Паркинсона на ранних стадиях (стадия 1 или 2) или с гаплотипом LRRK2 по сравнению с контрольными субъектами.

[00294] Определить разницу (абсолютное и процентное изменение) в уровнях нейромеланина (концентрация в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) по сравнению с контрольной группой, что позволяет диагностировать БП.

[00295] Продemonстрировать, что общая концентрация НМ в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в подобластях SNc, объем НМ во всей SNc и подобластях SNc ниже у субъектов с БП по сравнению с нормальным диапазоном в контрольной группе.

[00296] Вторичные задачи:

[00297] Продemonстрировать корреляцию между оценками НМ-MPT (концентрация в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) и баллами по Унифицированной шкале оценки болезни Паркинсона Международного общества расстройств движений (MDS-UPDRS) и визуализацией DaTscan в течение 5 лет.

[00298] Продemonстрировать корреляцию между оценками НМ-MPT (концентрация в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) со шкалой определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра.

[00299] Продemonстрировать, что применение Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа позволит найти специфические воксели (называемые вокселями БП), уникальные для каждого пациента, которые коррелируют с их конкретными симптомами согласно шкале MDS-UPDRS.

[00300] Продemonстрировать корреляцию вокселей болезни Паркинсона с симптомами Паркинсона, оцененными по шкале MDS-UPDRS.

[00301] Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа представляет собой эффективный способ диагностики БП, дифференциации субъектов с БП от контрольной группы и отслеживания прогрессирования БП во времени.

[00302] Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа идентифицирует воксели болезни Паркинсона, которые соответствуют симптомам Паркинсона, оцененным по шкале MDS-UPDRS.

[00303] Дизайн исследования

[00304] Исследование представляет собой 6-летнее исследование (1 год для набора и 5 лет последующего наблюдения) для оценки диагностической ценности НМ-MPT у субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2) без истории лечения L-ДОФА или субъектов старше 55 лет с гаплотипом LRRK2, у которых отсутствуют симптомы болезни. В исследовании принимают участие приблизительно 300 субъектов с болезнью Паркинсона на стадии 1 или субъекты с гаплотипом LRRK2 без симптомов болезни (возраст > 55 лет) и 200 контрольных субъектов в соответствующей по полу и возрасту группе. Субъекты включаются в исследование после подписания формы информированного согласия (ICF) и соответствия всем критериям включения/исключения. В течение периода скрининга они будут проходить НМ-MPT сканирование, визуализацию DaTscan ОФЭКТ и MDS-UPDRS на 3 визитах. Каждый субъект оценивается с использованием шкалы определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра. Субъекты проходящие одинаковый ряд тестов через 12, 24, 36, 48 и 60 месяцев после включения в исследование. На каждом визите проводится оценка по шкале MDS-UPDRS и шкале определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра.

[00305] Субъекты, которые в анамнезе употребляют наркотики, исключаются из исследования. Наконец, субъекты с нестабильными заболеваниями или противопоказаниями к МРТ-исследованиям также исключаются.

[00306] **Схема оценок**

[00307] Оценки выполняются в соответствии со схемой исследования, представленной в таблице 1.

[00308] Таблица 1

[00309] **Таблица 1 Схема оценок**

	Визиты					
	Скрининг	Визиты во время исследования (ежегодно)				
Визит	1-3	4	5	6	7	8
Форма информированного согласия	x					
MINI	x					
История болезни	x					
Шкала определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра	x	x	x	x	x	x
Опросник для скрининга металлов для МРТ	x	x	x	x	x	x
Основные показатели жизнедеятельности (кровяное давление и частота сердечных сокращений)	x	x	x	x	x	x
Скрининг на наркотики по анализу мочи	x	x	x	x	x	x
НМ-МРТ скан	x	x	x	x	x	x
DaTscan	x	x	x	x	x	x
MDS-UPDRS	x	x	x	x	x	x
Сопутствующие виды лечения	x	x	x	x	x	x
Неблагоприятные события	x	x	x	x	x	x

[00310] **Скрининг - визит 1**

[00311] Фаза скрининга может продолжаться до 30 суток, в течение которых получают демографическую информацию, историю болезни и информированное согласие. Субъекты, отвечающие критериям включения и исключения, могут быть приняты для зачисления в исследование. Характер и задача исследования должны быть объяснены субъекту до начала процедур по скринингу.

[00312] После подписания формы информированного согласия (ICF) должны быть собраны и зарегистрированы следующие демографические данные: дата рождения, возраст пациента на время подписания информированного согласия, пол, этническая принадлежность и раса. Персонал исследовательского центра должен получить полную историю болезни пациента во время скрининга и обновлять ее по мере необходимости на визите 1. Будет собрана история болезни, а также определяют основные показатели жизнедеятельности (артериальное давление и пульс). Собирают мочу для анализа на наркотики. Будет получена текущая и недавняя история применения лекарственных средств. Исследователь или назначенное им лицо будет определять, соответствует ли субъект всем критериям приемлемости для исследования.

[00313] Проводятся следующие оценки:

- Подписанное ICF
- MINI
- Демографические данные
- История болезни
- Шкала определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра
- UPDRS
- Опросник для скрининга металлов для MPT
- Основные показатели жизнедеятельности (артериальное давление и частота сердечных сокращений)
- Анализ мочи на наркотики
- Сопутствующие лекарственные препараты
- Неблагоприятные события
- Критерии приемлемости

[00314] **Скрининг - визиты 2 и 3**

[00315] Во время скрининговых визитов 2 и 3 выполняют следующие тесты:

- НМ-MPT визуализация
- визуализация DaTscan
- Основные показатели жизнедеятельности (артериальное давление и частота сердечных сокращений)
- Анализ мочи на наркотики
- Сопутствующие лекарственные препараты
- Неблагоприятные события

[00316] Период исследования (визиты 4-8, на 12, 24, 36, 48 и 60 месяцы)

- НМ-MPT визуализация
- DaTscan
- Шкала определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра
- MDS-UPDRS
- Опросник для скрининга металлов для MPT
- Основные показатели жизнедеятельности (артериальное давление и частота

сердечных сокращений)

- Анализ мочи на наркотики
- Сопутствующие лекарственные препараты
- Неблагоприятные события

[00316] Оценки исследования - МРТ-скрининг

[00317] Перед включением в МРТ исследование все субъекты проходят скрининг для гарантии их пригодности для МРТ-сканирования. Анкета для скрининга включает вопросы, касающиеся критериев включения/исключения, в том числе, наличие ферромагнитных имплантатов. Если у субъекта имеются какие-либо металлические имплантаты (например, металлический сердечный клапан, аортальные зажимы и т. д.), которые не подходят для сканера, то субъект не включается в настоящее исследование. Включение и исключение в настоящем исследовании будет определяться главным исследователем и соисполнителями главного исследователя в этом исследовании.

[00318] Оценки исследования - процедуры МРТ

[00319] Субъекты будут подвергаться структурному 3-Tesla МРТ-сканированию и нейромеланин-чувствительному (структурному) сканированию. Ни в одном сканировании не предполагается применение экзогенных контрастов. Общее время сканирования обычно составит примерно 30 мин и не превысит 1 ч. Субъектов могут попросить вернуться для дополнительного сканирования, если первоначальные данные окажутся непригодными для использования. Во время МРТ испытуемого субъекта поместят в положение лежа на спине на столе камеры. Голова будет позиционирована, и для уменьшения движения головы во время сканирования будет использоваться пластиковый держатель головы. Участникам выдадут сжимающийся мяч, и их проинструктируют сжать его, если они почувствуют себя плохо или возникнут какие-либо проблемы во время сканирования, чтобы персонал, проводящий МРТ, мог остановить сканирование. Участникам выдадут полноразмерные наушники для уменьшения шума при проведении МРТ. Все испытуемые субъекты будут проходить структурную МРТ в начале сеанса для обеспечения совместной анатомической регистрации. Все участники проходят опросник на скрининг металлов перед каждым сеансом сканирования.

[00320] Процедуры DaTscan

[00321] DatScan (инъекции иодфлупана 123I) представляет собой одобренный FDA радиофармацевтический препарат, предназначенный для визуализации транспортеров дофамина в полосатом теле с использованием однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) для помощи в оценке взрослых с подозрением на синдромы (СП) Паркинсона. Синдромы Паркинсона связаны с потерей транспортера дофамина (DAT) в полосатом теле. Иофлупан 123I является радиофармацевтическим препаратом, предназначенным для визуализации DAT полосатого тела с использованием ОФЭКТ-визуализации головного мозга, чтобы помочь в оценке взрослых пациентов с подозрением на БП. Иофлупан 123I связывается с белком DaT на дофаминергических нейронах черной субстанции, пучке нервных волокон в головном мозге. При обычном сканировании

иофлупан ^{123}I распределяется в полосатом теле и проявляется в виде зеркальной «запятой» или полумесяца. Снижение активности иофлупана ^{123}I приводит к круглой «точке» или овальной форме (формам) и снижению интенсивности изображения с одной или обеих сторон.

[00322] Процедуры

- Перед сканированием каждого испытуемого субъекта опрашивают на предмет наличия у него аллергии на йод, наличия в анамнезе заболевания почек или печени, и употребление в настоящее время или в прошлом кокаина.

- Персонал вводит блокаторы щитовидной железы (например, пероральный раствор йодида калия, эквивалентный 100 мг йодида, или перхлорат калия 400 мг), по меньшей мере, за 1 ч до введения дозы.

- Центр, в котором проводится визуализация, определяет дозу для пациента с помощью подходящей системы калибровки радиоактивности непосредственно перед введением.

- Рекомендуемая доза составляет 111-185 МБк (3-5 мКи), которую вводят внутривенно (в/в) в руку.

- ОФЭКТ визуализацию начинают с использованием гамма-камеры через 3-6 ч после инъекции.

- После запуска процедура DaTscan занимает примерно 30-45 мин.

[00323] Во время ОФЭКТ сканирования субъект находится в лежачем положении на столе, и лаборант помещает его голову на подголовник. Полоску ленты или гибкий фиксатор можно наложить вокруг головы субъекта, чтобы предотвратить движение головы во время сканирования. Камера располагается над головой субъекта, и он должен оставаться неподвижным в течение примерно 30 мин, пока делаются снимки.

[00324] DaTscan выводится почками, и тяжелая почечная недостаточность может увеличить радиоактивное воздействие на пациента и изменить изображения.

[00325] Безопасность DaTscan

[00326] Противопоказания

[00327] Повышенная чувствительность к активному веществу, эксципиентам или йоду.

[00328] Унифицированная шкала оценки болезни Паркинсона Международного общества расстройств движений

[00329] MDS-UPDRS состоит из четырех частей:

[00330] Часть I (немоторные аспекты повседневной жизни)

[00331] Часть II (моторные аспекты повседневной жизни)

[00332] Часть III (моторное обследование)

[00333] Часть IV (моторные осложнения)

[00334] Часть I состоит из двух компонентов и 13 вопросов: IA касается ряда форм поведения, которые оцениваются исследователем со всей соответствующей информацией от пациентов и лиц, осуществляющих уход, и IB заполняется пациентом с помощью лица,

осуществляющего уход, или без него, но независимо от исследователя. Однако исследователь может просмотреть эти разделы, чтобы убедиться, что на все вопросы были даны четкие ответы, и исследователь может помочь объяснить любые возникающие неясности. Часть II состоит из 13 вопросов и предназначена для самостоятельного заполнения, как и часть IV, но исследователь может просмотреть ее для обеспечения полноты и ясности ответов. Часть III представляет собой моторное обследование и включает 18 оценок. Часть I посвящена моторным осложнениям и содержит 6 вопросов.

[00335] Шкала определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра

[00336] Шкала Хена-Яра используется для оценки прогрессирования симптомов болезни Паркинсона и уровня инвалидности. Исходная шкала имеет стадии от 1 до 5. В исследовании использоваться модифицированная шкала, в которую добавлена стадия 0.

[00337] Стадия 0 - Отсутствие признаков заболевания

[00338] Стадия 1 - Симптомы только с одной стороны (односторонние)

[00339] Стадия 2 - Симптомы с обеих сторон, но без нарушения равновесия

[00340] Стадия 3 - Нарушение равновесия, заболевание от легкой до средней степени тяжести, физически независимое

[00341] Стадия 4 - Тяжелая инвалидность, но способность ходить или стоять без посторонней помощи сохраняется.

[00342] Стадия 5 - Нуждается в инвалидной коляске или прикован к постели в отсутствии посторонней помощи

[00343] Статистический анализ

[00344] Число субъектов и расчет размера выборки

[00345] В исследовании принимают участие приблизительно 300 субъектов со стадией 1 БП или субъекты без симптомов с гаплотипом LRRK2 (возраст > 55 лет) и 200 контрольных субъектов в соответствующей по полу и возрасту группе. Размер выборки основан на снижении уровня нейромеланина в черной субстанции на 20% в конечной точке (через 5 лет) у субъектов с БП на стадии 1 или гаплотипом LRRK2 по сравнению с контрольными субъектами.

[00346] Вторичными конечными точками является корреляция между НМ-MPT сканами и сканами DaTscan и показателями UPDRS.

[00347] Анализ популяций

[00348] Следующие популяции пациентов используются для статистического анализа:

[00349] Субъекты, у которых было один НМ-MPT скан после скрининга

[00350] Статистические методы

[00351] В исследование включается приблизительно 300 субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2) без лечения L-ДОФА в анамнезе или субъекты без симптомов с гаплотипом LRRK2 (возраст > 55 лет) и 200 контрольных субъектов в соответствующей по полу и возрасту группе. Размер выборки основан на снижении уровня нейромеланина в черной субстанции на 20% в конечной точке (через 5 лет) у субъектов с БП на ранних

стадиях (стадия 1 или 2) или гаплотипом LRRK2 по сравнению с контрольными субъектами.

[00352] Распределение субъектов

[00353] Число субъектов, включенных в исследование, завершивших или выбывших из исследования, и причина прекращения исследования сводится в таблицу по группам лечения в зависимости от обстоятельств.

[00354] Первичная конечная точка

[00355] В исследовании принимают участие приблизительно 300 субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2), которые не получали лечение L-ДОФА, или субъекты без симптомов с гаплотипом LRRK2 (возраст > 55 лет) и 200 контрольных субъектов в соответствующей по полу и возрасту группе. Размер выборки основан на снижении уровня концентрации нейромеланина SNc на 20% в конечной точке (через 5 лет) у субъектов со стадией 1 БП или с гаплотипом LRRK2 по сравнению с контрольными субъектами. Анализ первичных и вторичных конечных точек выполняется с использованием анализа ковариации (ANCOVA), линейной регрессии или корреляции Пирсона.

[00356] Процентное изменение от исходного уровня до конечной точки на HM-MPT у субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2), которые не получали лечение L-ДОФА или с гаплотипом LRRK2, по сравнению с контрольными субъектами

[00357] Общая концентрация НМ (микрограмм нейромеланина на микрограмм влажной ткани) в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc

[00358] Изменение от исходного уровня до конечной точки на HM-MPT у субъектов с БП на ранних стадиях (стадия 1 или 2), которые не получали лечение L-ДОФА или с гаплотипом LRRK2, по сравнению с контрольными субъектами

[00359] Общая концентрация НМ в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в SNc, объем НМ во все SNc и объем в подобластях SNc

[00360] Общая концентрация НМ в компактной части черной субстанции (SNc), концентрация НМ в SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc ниже у субъектов с БП на ранних стадиях по сравнению с нормальным диапазоном в контрольной группе.

[00361] Определить разницу (абсолютное и процентное изменение) уровней нейромеланина (концентрация НМ в SNc, объем НМ в SNc) у субъектов с LRRK2 по сравнению с контрольной группой, что позволяет поставить диагноз БП, подтвержденный с использованием DaTscan.

[00362] Вторичные конечные точки

[00363] Корреляция между оценками HM-MPT и баллами по Унифицированной шкале оценки болезни Паркинсона Международного общества расстройств движений (MDS-UPDRS) и DaTscan визуализацией в течение 5 лет.

[00364] Корреляция между вокселями болезни Паркинсона

(идентифицированными с использованием Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа) и симптомами болезни Паркинсона, оцененными по шкале MDS-UPDRS.

[00365] Корреляция между оценками НМ-MPT (концентрация НМ в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc) и шкалой определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра.

[00366] Идентификация вокселей болезни Паркинсона (идентифицированных с использованием Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа), которые коррелируют с конкретными симптомами болезни Паркинсона, оцененными по шкале MDS-UPDRS.

[00367] Продemonстрировать корреляцию между изменением показателей нейромеланина после начала терапии L-ДОФА и улучшением показателей по шкале MDS-UPDRS.

[00368] Повышение уровня нейромеланина (концентрация НМ в SNc, объем НМ в SNc), измеренного с использованием Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа, что приводит к улучшению показателей по шкале MDS-UPDRS при терапии L-ДОФА.

Пример 2В. Оценка лечения карбидопой/леводопой при болезни Паркинсона с использованием Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа

[00369] Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа разрабатывается как отдельное программное обеспечение в виде медицинского устройства (SaMD), которое измеряет уровни нейромеланина, полученные с использованием НМ-MPT. Terran НМ-MPT можно использовать для обеспечения точного измерения концентраций и объемов нейромеланина в черной субстанции. Нейромеланин является косвенным показателем активности дофаминергических нейронов, который можно использовать в качестве вспомогательного средства для врачей, оценивающих пациентов с заболеваниями, влияющими на уровень дофамина в среднем мозге. В данном исследовании оценивается эффективность лечения карбидопой/леводопой при лечении болезни Паркинсона с использованием Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа.

[00370] Первичные цели

[00371] Продemonстрировать корреляцию между показателями нейромеланина (компактная часть черной субстанции (SNc), концентрацию НМ в подобластях SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc) и улучшением баллов по шкале Унифицированной шкалы оценки болезни Паркинсона Международного общества расстройств движений (MDS-UPDRS) после начала лечения карбидопой/леводопой.

[00372] Определить степень повышения уровня нейромеланина (концентрация НМ в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc), измеренного с использованием Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа, что приводит к улучшению баллов по шкале MDS-UPDRS для подтверждения того, что уровни НМ

можно использовать для мониторинга ответа на лечение

[00373] Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа представляет собой эффективный способ определения наличия у пациента оптимального ответа на лечение карбидопой/леводопой.

[00374] Дизайн исследования

[00375] Исследование представляет собой 12-недельное исследование субъектов с симптомами БП без истории лечения карбидопой/леводопой. Исследование демонстрирует ценность Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа для наблюдения за пациентами с болезнью Паркинсона, которые начинают лечение карбидопой/леводопой. В исследовании принимает участие приблизительно 100 субъектов с симптомами БП, которые не получали лечение карбидопой/леводопой. Субъекты включаются в исследование после подписания формы информированного согласия (ICF) и соответствия всем критериям включения/исключения. В течение периода скрининга им проводится НМ-MPT сканирование с использованием Terran нейромеланин-MPT на основе воксельного анализа и оценку по шкале MDS-UPDRS. Каждый субъект оценивается с использованием шкалы определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра. Субъекту проводятся повторные НМ-MPT сканы и оценка по шкале MDS-UPDRS через 4 недели, 8 недель и 12 недель. После завершения скрининга субъекты переходят к периоду лечения, и начинается лечение карбидопой/леводопой. Доза карбидопы/леводопы подбирается индивидуально врачом-исследователем на основе клинического ответа и проявления неблагоприятных событий. Дозировку лучше всего начинать с одной таблетки карбидопы/леводопы 25-100 мг три раза в сутки. Данная схема дозирования обеспечивает 75 мг карбидопы в сутки. Доза может быть увеличена на одну таблетку каждый день или через день, по мере необходимости, пока не будет достигнута дозировка 8 таблеток по 25-100 мг в день. Составы карбидопы/леводопы с пролонгированным высвобождением разрешены с аналогичными дозировками. Увеличение и уменьшение дозы определяется сравнениями НМ-MPT сигналов.

[00376] Субъекты, которые в анамнезе злоупотребляют наркотиками, исключаются из исследования. Наконец, субъекты с нестабильными заболеваниями или противопоказаниями к МРТ-исследованиям также исключаются.

[00377] Схема оценок

Оценки проводятся в соответствии со схемой исследования, представленной в таблице 2.

Таблица 2 - Схема оценок

	Визиты			
	Скрининг		Визиты во время исследования	
			4	5
Визит	1 & 2	3 (неделя 4)	(неделя 8)	(неделя 12)

Форма информированного согласия	x			
MINI	x			
История болезни	x			
Шкала определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра	x			
Опросник для скрининга металлов для MPT	x	x	x	x
Основные показатели жизнедеятельности (кровяное давление и частота сердечных сокращений)	x	x	x	x
Скрининг на наркотики по анализу в моче	x	x	x	x
НМ-MPT скан	x	x	x	x
DaTscan	x	x	x	x
MDS-UPDRS	x	x	x	x
Сопутствующие виды лечения	x	x	x	x
Неблагоприятные события	x	x	x	x

[00378] Скрининг - визит 1

[00379] Фаза скрининга может продолжаться до 30 суток, в течение которых получают демографическую информацию, историю болезни и информированное согласие. Субъекты, отвечающие критериям включения и исключения, могут быть приняты для зачисления в исследование. Характер и задача исследования должны быть объяснены субъекту до начала процедур по скринингу.

[00380] После подписания формы информированного согласия (ICF) должны быть собраны и зарегистрированы следующие демографические данные: дата рождения, возраст пациента время подписания информированного согласия, пол, этническая принадлежность и раса. Персонал исследовательского центра должен получить полную историю болезни пациента во время скрининга и обновлять ее по мере необходимости на визите 1. Будет собрана история болезни, а также определяют основные показатели жизнедеятельности (артериальное давление и пульс). Собирают мочу для анализа на наркотики. Будет получена текущая и недавняя история применения лекарственных средств. Исследователь или назначенное им лицо будет определять, соответствует ли субъект всем критериям приемлемости для исследования.

[00381] Проводятся следующие оценки:

- Подписанное ICF
- MINI
- Демографические данные

- История болезни
- Шкала определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра
- UPDRS
- Опросник для скрининга металлов для МРТ
- Основные показатели жизнедеятельности (артериальное давление и частота сердечных сокращений)

- Анализ мочи на наркотики
- Сопутствующие лекарственные препараты
- Неблагоприятные события
- Критерии приемлемости

[00382] **Скрининг - визиты 2**

[00383] Во время скрининговых визитов 2 выполняют следующие тесты:

- НМ-МРТ визуализация

[00384] **Оценки исследования**

[00385] **Процедуры МРТ**

[00386] **МРТ-скрининг**

[00387] Перед включением в МРТ исследование все субъекты проходят скрининг для гарантии их пригодности для МРТ-сканирования. Анкета для скрининга включает вопросы, касающиеся критериев включения/исключения, в том числе, наличие ферромагнитных имплантатов. Если у субъекта имеются какие-либо металлические имплантаты (например, металлический сердечный клапан, аортальные зажимы и т. д.), которые не подходят для сканера, то субъект не включается в настоящее исследование. Включение и исключение в настоящем исследовании будет определяться главным исследователем и соисполнителями главного исследователя в этом исследовании.

[00388] **Процедуры МРТ**

[00389] Субъекты будут подвергаться структурному 3-Tesla МРТ-сканированию и нейромеланин-чувствительному (структурному) сканированию. Ни в одном сканировании не предполагается применение экзогенных контрастов. Общее время сканирования обычно составит примерно 30 мин и не превысит 1 ч. Субъектов могут попросить вернуться для дополнительного сканирования, если первоначальные данные окажутся непригодными для использования. Во время МРТ испытуемого субъекта поместят в положение лежа на спине на столе камеры. Голова будет позиционирована, и для уменьшения движения головы во время сканирования будет использоваться пластиковый держатель головы. Участникам выдадут сжимающийся мяч, и их проинструктируют сжать его, если они почувствуют себя плохо или возникнут какие-либо проблемы во время сканирования, чтобы персонал, проводящий МРТ, мог остановить сканирование. Участникам выдадут полноразмерные наушники для уменьшения шума при проведении МРТ. Все испытуемые субъекты будут проходить структурную МРТ в начале сеанса для обеспечения совместной анатомической регистрации. Все участники проходят опросник на скрининг металлов перед каждым сеансом сканирования.

[00390] **Унифицированная шкала оценки болезни Паркинсона
Международного общества расстройств движений**

[00391] MDS-UPDRS состоит из четырех частей:

- Часть I (немоторные аспекты повседневной жизни)
- Часть II (моторные аспекты повседневной жизни)
- Часть III (моторное обследование)
- Часть IV (моторные осложнения)

[00392] Часть I состоит из двух компонентов и 13 вопросов: IA касается ряда форм поведения, которые оцениваются исследователем со всей соответствующей информацией от пациентов и лиц, осуществляющих уход, и IB заполняется пациентом с помощью лица, осуществляющего уход, или без него, но независимо от исследователя. Однако исследователь может просмотреть эти разделы, чтобы убедиться, что на все вопросы даны четкие ответы, и исследователь может помочь объяснить любые возникающие неясности. Часть II состоит из 13 вопросов и предназначена для самостоятельного заполнения, как и часть IV, но исследователь может просмотреть ее для обеспечения полноты и ясности ответов. Часть III представляет собой моторное обследование и включает 18 оценок. Часть I посвящена моторным осложнениям и содержит 6 вопросов.

[00393] **Шкала определения стадии болезни Паркинсона Хена-Яра**

[00394] Шкала Хена-Яра используется для оценки прогрессирования симптомов болезни Паркинсона и уровня инвалидности. Исходная шкала имеет стадии от 1 до 5. В исследовании использоваться модифицированная шкала, в которую добавлена стадия 0.

- Стадия 0 - Отсутствие признаков заболевания
- Стадия 1 - Симптомы только с одной стороны (односторонние)
- Стадия 2 - Симптомы с обеих сторон, но без нарушения равновесия
- Стадия 3 - Нарушение равновесия, заболевание от легкой до средней степени тяжести, физически независимое
- Стадия 4 - Тяжелая инвалидность, но способность ходить или стоять без посторонней помощи сохраняется.
- Стадия 5 - Нуждается в инвалидной коляске или прикован к постели в отсутствии посторонней помощи

[00395] **Включение и исключение субъекта**

[00396] **Критерии включения**

[00397] Для того, чтобы иметь право на участие в данном исследовании, субъект должен соответствовать всем следующим критериям включения:

[00398] Женщины и мужчины старше 40 лет с симптомами БП без лечения карбидопой/леводопой или леводопой в анамнезе.

[00399] Согласие на участие в исследовании и возможность дать информированное согласие.

[00400] **Критерии исключения**

[00401] Субъекты будут исключаться из исследования, если они соответствуют

любому из следующих критериев исключения:

[00402] История лечения карбидопой/леводопой или леводопой

[00403] История расстройства, связанного с употреблением психоактивных веществ, определенного по DSM-V (за исключением табака), в течение по меньшей мере 6 месяцев до скрининга или положительного результата скрининга мочи на наркотики (на амфетамины, кокаин, опиоиды и фенциклидин). Субъекты с легким расстройством, связанным с употреблением каннабиса или алкоголя, могут быть зачислены с разрешения медицинского монитора.

[00404] Клаустрофобия или металлические имплантаты или парамагнитные объекты, находящиеся в теле субъекта, которые могут мешать МРТ-скану, как определено в соответствии с рекомендациями, изложенными в следующем справочнике: «Руководство по процедурам МРТ и металлическим объектам» Шеллок, доктор философии, Липпинкотт-Равен Пресс, Нью-Йорк, 1998.

[00405] Предшествующая и сопутствующая терапия

[00406] Все лекарственные препараты, включая препараты, отпускаемые без рецепта, и домашние средства, используемые пациентом в течение одного месяца после включения в исследование, должны регистрироваться в форме отчета о болезни.

[00407] Безопасность

[00408] Данное исследование представляет собой неинтервенционное исследование для продолжительной оценки НМ-МРТ. Оценка включает стандартную 3-Т МРТ и программное обеспечение, с использованием которого измеряют количество нейромеланина в определенных структурах головного мозга. Основные показатели жизнедеятельности (артериальное давление и пульс) измеряются на каждом визите в рамках исследования.

[00409] В начале каждого визита исследовательский персонал задает ряд вопросов из формы «Мини-Обследование», в которой находятся вопросы о госпитализации, состоянии здоровья, визитах к врачу, употреблении лекарственных препаратов, употреблении наркотиков и о том, были ли они вовлечены в несчастный случай с вовлечением металла. Если в ходе этого опроса будет получена информация о неблагоприятном опыте, то эта информация должна быть записана в форме отчета о болезни (CRF).

[00410] Следует обратить внимание, что, учитывая, что это неинтервенционное исследование, то физикальное обследование, лабораторные оценки, снятие электрокардиограмм не выполняется.

[00411] Определение основных показателей жизнедеятельности

[00412] Артериальное давление (систолическое и диастолическое) будут измеряться при каждом визите, когда субъект находится в положении сидя в соответствии с рекомендациями АНА. Частоту пульса определяют при пальпации лучевой артерии в положении сидя. И кровяное давление, и пульс измеряют аппаратом для измерения артериального давления.

[00413] Риски для субъектов

[00414] Риски, с которыми можно столкнуться в течение периода исследования.

[00415] Все процедуры практически не несут какого-либо риска или потенциальной опасности для участников. В большинстве процедур есть небольшой риск дискомфорта за счет монотонного характера исследования. Некоторые вопросы в оценке могут относиться к деликатным темам.

[00416] Магнитно-резонансная томография

[00417] Как FDA, так и NYSPI IRB считают, что МРТ-сканирование классифицируется в качестве процедуры с несущественным риском. Для настоящего перекрестно-сканирующего валидирующего исследования возможны только те риски, которые связаны с МРТ-сканированием (например, дискомфорт, усталость, тревога). В МРТ-сканировании задействованы сканеры 3Tesla, которые, по мнению FDA, не представляют значительного риска.

[00418] Для сведения к минимуму рисков и неудобств для участников, Центр обеспечивает:

[00419] Проведение скрининга металлических устройств, имплантатов и других противопоказаний к сканированию с использованием Опросника для скрининга металлов для МРТ.

[00420] Исключение беременных женщин и проведение анализа мочи на беременность перед сканированием.

[00421] Исключение субъектов с клаустрофобией. Авторы изобретения будут уменьшать эту потенциальную неблагоприятную реакцию, обсудив процедуру перед входом в помещение с томографом для проведения МРТ, предоставив субъекту зеркало, через которое он может смотреть в помещение, и общаться с субъектом по интеркому. Если субъект продолжает чувствовать себя некомфортно, то процедура визуализации прекращается и субъект удаляется от томографа.

[00422] Персонал обеспечивает надлежащее медицинское обслуживание, мониторинг безопасности и наблюдение во время сканирования.

[00423] Исследовательский персонал доступен для оказания поддержки, снижения беспокойства, оптимизации комфорта субъекта и удаления субъекта от аппарата для МРТ, если потребуется.

[00424] Карбидопа/леводопа

[00425] Все пациенты должны тщательно наблюдаться на предмет развития депрессии с сопутствующими суицидальными наклонностями.

[00426] Карбидопу/леводопу следует с осторожностью вводить пациентам с тяжелыми сердечно-сосудистыми или легочными заболеваниями, бронхиальной астмой, заболеваниями почек, печени или эндокринной системы.

[00427] Как и в случае леводопы, следует соблюдать осторожность при введении карбидопы/леводопы пациентам с инфарктом миокарда в анамнезе, у которых имеются остаточные предсердные, узловые или желудочковые аритмии.

[00428] Как и в случае леводопы, лечение карбидопой/леводопой может повысить вероятность кровотечения из верхних отделов желудочно-кишечного тракта у пациентов с пептической язвой в анамнезе.

[00429] Засыпание во время повседневной жизни и сонливость: пациенты, принимающие карбидопу/леводопу отдельно или в комбинации с другими дофаминергическими лекарственными средствами, сообщали о внезапном засыпании без предварительного ощущения сонливости во время повседневной жизни (включая управление транспортными средствами). Пациентам следует рекомендовать соблюдать осторожность при вождении автомобиля или работе с механизмами во время лечения карбидопой/леводопой. Пациенты, у которых уже наблюдалась сонливость или имел место эпизод внезапного засыпания, не должны заниматься этими видами деятельности во время лечения карбидопой/леводопой.

[00430] Перед началом лечения карбидопой/леводопой следует информировать пациентов о возможности развития сонливости и конкретно сообщить о факторах, которые могут повышать риск сонливости при применении карбидопы/леводопы, таких как использование сопутствующих седативных препаратов и наличие нарушений сна.

[00431] Гиперпирексия и спутанность сознания: спорадические случаи симптомокомплекса, напоминающего злокачественный нейролептический синдром.

[00432] Побочные реакции/неблагоприятные события

[00433] Наиболее распространенные побочные реакции, о которых сообщалось при применении карбидопы/леводопы, включали дискинезии, такие как хореоформные, дистонические и другие непроизвольные движения, и тошноту.

[00434] Сообщалось о следующих побочных реакциях при приеме карбидопы/леводопы:

[00435] Организм в целом: боль в грудной области, астения.

[00436] Сердечно-сосудистая система: сердечные нарушения, гипотензия, ортостатические эффекты, включая ортостатическую гипотензию, гипертензию, обморок, флебит, сильное сердцебиение.

[00437] Желудочно-кишечная система: темная слюна, желудочно-кишечное кровотечение, развитие язвы двенадцатиперстной кишки, анорексия, рвота, диарея, запор, диспепсия, сухость во рту, изменение вкуса.

[00438] Гематологические показатели: агранулоцитоз, гемолитическая и негемолитическая анемия, тромбоцитопения, лейкопения.

[00439] Гиперчувствительность: ангионевротический отек, крапивница, зуд, пурпура Шенлейна-Геноха, буллезные поражения (включая реакции, подобные пузырчатке).

[00440] Скелетно-мышечная система: боль в спине, боль в плече, мышечные судороги.

[00441] Нервная система/психиатрические состояния: психотические эпизоды, включая бред, галлюцинации и параноидальные идеи, брадикинетические эпизоды

(«феномен «включения-выключения»), спутанность сознания, возбуждение, головокружение, сонливость, нарушения сна, включая ночные кошмары, бессонница, парестезии, головную боль, депрессию с развитием или без развития суицидальных тенденций, деменцию, патологическую склонность к азартным играм, повышенное либидо, в том числе гиперсексуальность, симптомы нарушения импульсивного контроля.

[00442] Дыхательная система: одышка, инфекция верхних дыхательных путей.

[00443] Кожа: сыпь, повышенное потоотделение, алопеция, темный пот.

[00444] Мочеполовая система: инфекция мочевыводящих путей, частое мочеиспускание, темная моча.

[00445] Лабораторные анализы: снижение гемоглобина и гематокрита; изменение активности щелочной фосфатазы, SGOT (AST), SGPT (ALT), ЛДГ, уровня билирубина, BUN, теста Кумбса; повышенный уровень глюкозы в сыворотке; лейкоциты, бактерии и кровь в моче.

[00446] **Неблагоприятные события**

[00447] Во время исследования будут собраны неблагоприятные события (НС). Для получения подробной информации о сборе, определении, категоризации и представлении отчетов о НС/СНС во время исследования см. абзац [00456].

[00448] НС будут отслеживаться на протяжении всего исследования, и регистрируется следующая информация:

[00449] Устная жалоба

[00450] Было ли событие неблагоприятным событием, возникшим в результате лечения

[00451] Было ли событие серьезным неблагоприятным событием

[00452] Дата и время начала

[00453] Тяжесть события

[00454] Связь события с исследуемым лекарственным средством

[00455] Действия, предпринятые в отношении исследуемого лекарственного средства в связи с событием

[00456] Клинический исход события (разрешенный или продолжающийся). Если разрешено, то следует указать дату разрешения.

[00457] **Неблагоприятные события**

[00458] Определение НС, период наблюдения и регистрация НС

[00459] НС представляет собой любой неблагоприятный или непреднамеренный признак, симптом или заболевание, независимо от того, считается ли оно связанным с исследованием или нет. Регистрация неблагоприятных событий будет начинаться на время подписания формы информированного согласия. После этого НС будут выясняться, спрашивая пациента, как он/она себя чувствует с момента последнего визита. Оценка продолжается по мере необходимости для наблюдения за НС до его разрешения или приемлемой стабилизации в соответствии с медицинским заключением исследователя.

[00460] Необходимо сделать все возможное, чтобы описать НС с точки зрения

диагноза. После постановки четкого диагноза отдельные признаки и симптомы не должны регистрироваться, если только они не представляют собой нетипичные или экстремальные проявления диагноза, и в этом случае о них следует сообщать как об отдельных событиях. События, приведшие к постановке диагноза, должны быть сохранены. Если точный диагноз не может быть установлен, то необходимо записывать отдельно каждый признак и симптом.

[00461] Исследователь несет ответственность за обеспечение того, чтобы все неблагоприятные клинические проявления, независимо от того, наблюдались ли они исследователем или сообщались пациентом, были зарегистрированы в CRF и в медицинской карте пациента. Исследователь должен присвоить следующие характеристики НС:

[00462] Диагноз неблагоприятного события или синдрома, если известно (если неизвестно, признаки или симптомы)

[00463] Даты начала и разрешения

[00464] Тяжесть (и/или токсичность по протоколу)

[00465] Оценка связи с исследуемым продуктом, и

[00466] Предпринятые действия

[00467] Категоризация интенсивности

[00468] Как для НС, так и для СНС исследователь должен оценить тяжесть/интенсивность события. Тяжесть/интенсивность НС будет оцениваться на основании симптомов у пациента следующим образом:

[00469] Легкое - временный или легкий дискомфорт; отсутствие ограничений в активности; не требуется медицинского вмешательства/терапии.

[00470] Умеренное - ограничение активности от легкой до умеренной степени, может потребоваться некоторая помощь; не требуется или требуется минимальное медицинское вмешательство/терапия.

[00471] Тяжелое - выраженное ограничение активности, обычно требуется некоторая помощь; требуется медицинское вмешательство/терапия, возможна госпитализация.

[00472] Опасно для жизни - экстремальное ограничение активности, требуется существенная помощь; требуется серьезное медицинское вмешательство/терапия, возможна госпитализация или уход в хосписе.

[00473] Термин «тяжелое» часто используется для описания интенсивности конкретного события (например, при инфаркте миокарда легкой, средней или тяжелой степени); однако само событие может иметь относительно небольшое медицинское значение (например, сильная головная боль). Данный критерий не то же самое, что «серьезный», который основан на исходе пациента/события или критериях действий, связанных с событиями, которые представляют угрозу для жизни или функционирования пациента.

[00474] Серьезность, а не тяжесть, служит ориентиром для определения

нормативных обязательств.

[00475] **Статистический анализ**

[00476] **Число субъектов и расчет размера выборки**

[00477] В исследование включается приблизительно 100 субъектов с симптомами БП без лечения карбидопой/леводопой в анамнезе. Размер выборки основан на 20% повышении концентрации нейромеланина в SNc в конечной точке после лечения карбидопой/леводопой.

[00478] **Анализ популяций**

[00479] Следующие популяции пациентов используются для статистического анализа:

[00480] Субъекты, у которых был один НМ-MPT скан после скрининга.

[00481] **Статистические методы**

[00482] **Распределение субъектов**

[00483] Число субъектов, включенных в исследование, завершенных или выбывших из исследования, а также причина прекращения исследования будут сведены в таблицу по группам лечения в зависимости от обстоятельств.

[00484] **Первичные конечные точки**

[00485] Корреляции между показателями нейромеланина (компактная часть черной субстанции (SNc), концентрация НМ в подобластях SNc, объем НМ во всей SNc и объем в подобластях SNc) и улучшением показателей по шкале MDS-UPDRS после начала терапии карбидопой/леводопой.

[00486] Уровни нейромеланина (концентрация НМ в SNc и подобластях SNc, объем НМ в SNc и подобластях SNc), которые приводят к улучшению показателей по шкале MDS-UPDRS после начала применения карбидопы/леводопы.

[00487] Подробности статистического анализа включаются в план статистического анализа (SAP).

[00488] **Анализ НМ-MPT**

[00489] Подробности анализов будут представлены в плане статистического анализа.

[00490] **Отклонения от протокола**

[00491] Будут перечислены все отклонения. Отклонения от протокола будут классифицированы как критические и некритические. Критические отклонения от протокола будут определены Спонсором. Субъекты с критическими отклонениями от протокола или точками данных, которые считаются критическими отклонениями от протокола, будут исключены из популяции РР.

[00492] **Демографические и исходные характеристики**

[00493] Демографические и исходные характеристики будут перечислены и обобщены по лечению и в целом.

[00494] **Безопасность**

[00495] **Нежелательные события**

[00496] Тип и частота неблагоприятных событий будут занесены в таблицу.

[00497] НС будет кодироваться с использованием самой последней версии Медицинского словаря для регуляторной деятельности (MedDRA®).

[00498] Число и процент субъектов, у которых наблюдались TEAE, СНС, возникшие при лечении, и TEAE, приведшие к прекращению исследования, будут суммированы по группам лечения и в целом по Системно-органный класс MedDRA (SOC) и/или предпочтительному термину (PT).

[00499] **Основные показатели жизнедеятельности**

Описательная статистика будет рассчитана для всех измерений основных показателей жизнедеятельности (артериальное давление и пульс), которые отличаются от исходных.

[00500] **Список использованных сокращенных обозначений**

Сокращенное обозначение	Определение
НС	Неблагоприятное событие
ANCOVA	Анализ ковариации
CRF	Форма отчета о болезни
CNR	Отношение контраст/шум
CoV	Коэффициент вариации
DAT	Транспортер дофамина
DSM-V	Диагностическое и статистическое руководство по психическим расстройствам, 5 издание
FDA	Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов
GCP	Надлежащая клиническая практика
ID	Идентификатор
ICF	Форма информированного согласия
ICH	Международная конференция по гармонизации
LRRK2	Богатая лейцином повтор-киназа 2
LC	Голубое пятно
MedDRA	Медицинский словарь для регуляторной деятельности
MPT	Магнитно-резонансная визуализация
MDS-UPDRS	Унифицированная шкала оценки болезни Паркинсона Международного общества расстройств движений
MINI	Мини-международное нейropsychиатрическое интервью
HM	Нейромеланин

НМ-МРТ	Нейромеланин-магнитно-резонансная томография (визуализация)
БП	Болезнь Паркинсона
СП	Синдромы Паркинсона
PAG	Периакведуктальное серое вещество в мозге
PI	Главный исследователь
РТ	Предпочтительный термин
СНС	Серьезное неблагоприятное событие
ОФЭКТ	Однофотонная эмиссионная компьютерная томография
SBR	Коэффициент специфического связывания
ЧС	Черная субстанция
SNC	Компактный слой черной субстанции
SAP	План статистического анализа
SOC	Системно-органный класс
3-T	3-Tesla
TBD	Подлежит определению
TEAE	Неблагоприятное событие, возникшее во время лечения

[00501] Ссылки для примера 2

[00502] Следующие ссылки в полном объеме включены в настоящий документ по ссылке.

[00503] Sasaki M., Shibata E., Kudo K., Tohyama K. Neuromelanin-Sensitive MRI. Clinical Neuroradiology, 2008;18(3):147-153.

[00504] Sasaki M., Shibata E., Tohyama K. et al. Neuromelanin magnetic resonance imaging of locus ceruleus and substantia nigra in Parkinson's disease. Neuroreport, 2006;17(11):1215-1218.

[00505] Chen X., Huddleston D.E., Langley J. et al. Simultaneous imaging of locus coeruleus and substantia nigra with a quantitative neuromelanin MRI approach. Magnetic resonance imaging, 2014;32(10):1301-1306.

[00506] Kashihara K., Shinya T., Higaki F. Reduction of Neuromelanin-Positive Nigral Volume in Patients with MSA, PSP and CBD. Internal Medicine, 2011;50(16):1683-1687.

[00507] Kashihara K., Shinya T., Higaki F. Neuromelanin magnetic resonance imaging of nigral volume loss in patients with Parkinson's disease. Journal of Clinical Neuroscience, 2011;18(8):1093-1096.

[00508] Kitao S., Matsusue E., Fujii S. et al. Correlation between pathology and neuromelanin MR imaging in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. Neuroradiology, 2013;55(8):947-953.

[00509] Matsuura K., Maeda M., Yata K. et al. Neuromelanin magnetic resonance imaging in Parkinson's disease and multiple system atrophy. European neurology, 2013;70(1-

2):70-77.

[00510] Miyoshi F., Ogawa T., Kitao S-i. et al. Evaluation of Parkinson Disease and Alzheimer Disease with the use of neuromelanin MR imaging and 123I-metaiodobenzylguanidine scintigraphy. *American Journal of Neuroradiology*, 2013;34(11):2113-2118.

[00511] Ogisu K., Kudo K., Sasaki M. et al. 3D neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging with semi-automated volume measurement of the substantia nigra pars compacta for diagnosis of Parkinson's disease. *Neuroradiology*, 2013;55(6):719-724.

[00512] Ohtsuka C., Sasaki M., Konno K. et al. Differentiation of early-stage parkinsonisms using neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging. *Parkinsonism & Related Disorders*, 2014;20(7):755-760.

[00513] Ohtsuka C., Sasaki M., Konno K. et al. Changes in substantia nigra and locus coeruleus in patients with early-stage Parkinson's disease using neuromelanin-sensitive MR imaging. *Neurosci Lett.*, 2013;541:93-98.

[00514] Schwarz S.T., Rittman T., Gontu V., Morgan P.S., Bajaj N., Auer D.P. T1-weighted MRI shows stage-dependent substantia nigra signal loss in Parkinson's disease. *Mov Disord.*, 2011;26(9):1633-1638.

[00515] Garcia-Lorenzo D., Longo-Dos Santos C., Ewencyk C. et al. The coeruleus/subcoeruleus complex in rapid eye movement sleep behaviour disorders in Parkinson's disease. *Brain*, 2013;136(Pt 7):2120-2129.

[00516] Tanaka M., Aihara Y., Ikeda S., Aihara Y. [Neuromelanin-related contrast in the substantia nigra semiquantitatively evaluated by magnetic resonance imaging at 3T: comparison between normal aging and Parkinson disease]. *Rinsho Shinkeigaku*, 2011;51(1):14-20.

[00517] Castellanos G., Fernandez-Seara M.A., Lorenzo-Betancor O. et al. Automated neuromelanin imaging as a diagnostic biomarker for Parkinson's disease. *Mov. Disord.*, 2015;30(7):945-952.

[00518] Sasaki M., Shibata E., Ohtsuka K. et al. Visual discrimination among patients with depression and schizophrenia and healthy individuals using semiquantitative color-coded fast spin-echo T1-weighted magnetic resonance imaging. *Neuroradiology*, 2010;52(2):83-89.

[00519] Shibata E., Sasaki M., Tohyama K. et al. Use of neuromelanin-sensitive MRI to distinguish schizophrenic and depressive patients and healthy individuals based on signal alterations in the substantia nigra and locus ceruleus. *Biological psychiatry*, 2008;64(5):401-406.

[00520] Watanabe Y., Tanaka H., Tsukabe A. et al. Neuromelanin magnetic resonance imaging reveals increased dopaminergic neuron activity in the substantia nigra of patients with schizophrenia. *PLoS One*, 2014;9(8):e104619.

[00521] Sulzer D., Cassidy C., Horga G. et al. Neuromelanin detection by magnetic resonance imaging (MRI) and its promise as a biomarker for Parkinson's disease. *NPJ Parkinson's disease*, 2018;4(1):11.

[00522] Zucca F.A., Basso E., Cupaioli F.A. et al. Neuromelanin of the human substantia nigra: an update. *Neurotoxicity research*, 2014;25(1):13-23.

[00523] Zecca L., Fariello R., Riederer P., Sulzer D., Gatti A., Tampellini D. The absolute concentration of nigral neuromelanin, assayed by a new sensitive method, increases throughout the life and is dramatically decreased in Parkinson's disease. *FEBS letters*, 2002;510(3):216-220.

[00524] Segura-Aguilar J., Paris I., Munoz P., Ferrari E., Zecca L., Zucca F.A. Protective and toxic roles of dopamine in Parkinson's disease. *J. Neurochem.*, 2014;129(6):898-915.

[00525] Viceconte N., Burguillos M.A., Herrera A.J., De Pablos R.M., Joseph B., Venero J.L. Neuromelanin activates proinflammatory microglia through a caspase-8-dependent mechanism. *J. Neuroinflammation*, 2015;12:5.

[00526] Enochs W.S., Petherick P., Bogdanova A., Mohr U., Weissleder R. Paramagnetic metal scavenging by melanin: MR imaging. *Radiology*, 1997;204(2):417-423.

[00527] Tosk J.M., Holshouser B.A., Aloia R.C. et al. Effects of the interaction between ferric iron and L-dopa melanin on T1 and T2 relaxation times determined by magnetic resonance imaging. *Magn. Reson. Med.*, 1992;26(1):40-45.

[00528] Blazejewska A.I., Schwarz S.T., Pitiot A. et al. Visualization of nigrosome 1 and its loss in PD: pathoanatomical correlation and in vivo 7 T MRI. *Neurology*, 2013;81(6):534-540.

[00529] Castellanos G., Fernández- Seara M.A., Lorenzo- Betancor O. et al. Automated Neuromelanin Imaging as a Diagnostic Biomarker for Parkinson's Disease. *Movement Disorders*, 2015;30(7):945-952.

[00530] Kuya K., Shinohara Y., Miyoshi F., Fujii S., Tanabe Y., Ogawa T. Correlation between neuromelanin-sensitive MR imaging and 123 I-FP-CIT SPECT in patients with parkinsonism. *Neuroradiology*, 2016;58(4):351-356.

[00531] Isaias I.U., Trujillo P., Summers P. et al. Neuromelanin imaging and dopaminergic loss in Parkinson's disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 2016;8:196.

[00532] Mahlknecht P., Krismer F., Poewe W., Seppi K. Meta- analysis of dorsolateral nigral hyperintensity on magnetic resonance imaging as a marker for Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 2017;32(4):619-623.

[00533] Bae Y.J., Kim J.M., Kim E. et al. Loss of nigral hyperintensity on 3 Tesla MRI of parkinsonism: comparison with 123I- FP- CIT SPECT. *Movement Disorders*, 2016;31(5):684-692.

[00534] Oh S.W., Shin N.-Y., Lee J.J. et al. Correlation of 3D FLAIR and dopamine transporter imaging in patients with parkinsonism. *American Journal of Roentgenology*, 2016;207(5):1089-1094.

[00535] Paisán-Ruiz C., Lewis P.A., Singleton A.B. LRRK2: cause, risk, and mechanism. *J. Parkinsons Dis.*, 2013;3(2):85-103.

[00536] Kachergus J., Mata I.F., Hulihan M. et al. Identification of a novel LRRK2 mutation linked to autosomal dominant parkinsonism: evidence of a common founder across European populations. *Am. J. Hum. Genet.*, 2005;76(4):672-680.

[00537] Cassidy C.M., Zucca F.A., Girgis R.R. et al. Neuromelanin-sensitive MRI as a

noninvasive proxy measure of dopamine function in the human brain. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2019;116(11):5108-5117.

Пример 3. Доказательства наличия аномалий дофамина в черной субстанции при кокаиновой зависимости, выявленных с помощью нейромеланин-чувствительной МРТ

[00538] Резюме

[00539] Задача: последние данные поддерживают применение нейромеланин-чувствительной МРТ (НМ-МРТ) в качестве нового инструмента для исследования функции дофамина в головном мозге человека. Цель этого исследования состояла в том, чтобы исследовать НМ-МРТ сигнал при расстройстве, связанном с употреблением кокаина, по сравнению с контрольными субъектами в соответствующей по полу и возрасту группе, основываясь на предыдущих визуализирующих исследованиях, показавших, что это расстройство связано с «притуплением» пресинаптического дофамина черной субстанции.

[00540] Методы: НМ-МРТ и T1-взвешенные изображения были получены от 20 участников с расстройством, связанным с употреблением кокаина, и 35 субъектов из контрольной группы. Диагностические групповые эффекты в НМ-МРТ сигнале определяли с использованием воксельного анализа в черной субстанции (ЧС). Подгруппа из 20 потребителей кокаина и 17 субъектов из контрольной группы также прошла функциональную МРТ-визуализацию с использованием метода «Денежное стимулирование с задержкой», чтобы выяснить, была ли НМ-МРТ связана с изменениями в обработке вознаграждения.

[00541] Результаты: по сравнению с контрольной группой у потребителей кокаина наблюдали существенно повышенный НМ-МРТ сигнал в вентролатеральных областях ЧС (линейная регрессия; скорректированное значение $p=0,025$, тест перестановки; площадь под кривой рабочих характеристик приемника $=0,83$). Исследовательский анализ не обнаружил существенной корреляции НМ-МРТ сигнала с активацией вентрального полосатого тела во время ожидания денежного вознаграждения.

[00542] Выводы: учитывая, что результаты предшествующих визуализирующих исследований показывают ослабление передачи сигналов с участием дофамина в полосатом теле, обнаружение повышенного НМ-МРТ сигнала в ЧС обеспечивает дополнительное понимание патофизиологии расстройств, связанных с употреблением кокаина. Одна интерпретация заключается в том, что расстройство, связанное с употреблением кокаина, связано с перераспределением дофамина между цитозольным и везикулярным пулами, что приводит к повышенному накоплению нейромеланина. Таким образом, результаты исследования дают основание предположить, что НМ-МРТ может служить практическим инструментом визуализации для исследования дофаминовой системы при зависимости.

[00543] Введение

[00544] Изменения функции дофамина были заранее показаны при расстройствах,

связанных с употреблением кокаина, с использованием позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), включая оценку захвата дофамина, плотности рецепторов и высвобождения дофамина (1). Снижение индуцированного стимулятором пресинаптического высвобождения дофамина у потребителей кокаина, измеренное с помощью ПЭТ, хорошо воспроизводилось (1-4) и связано с более рефрактерными симптомами расстройства, связанного с употреблением кокаина, включая рецидивы (1, 2). Однако, хотя ПЭТ может дать важную информацию о передаче сигналов с участием дофамина при зависимости, она является дорогостоящей процедурой и требует значительной специализированной инфраструктуры. Кроме того, ее использование в продолжительных исследованиях и испытаниях в более молодых группах риска ограничивается воздействием радиоактивности.

[00545] В недавней работе было высказано предположение, что нейромеланин-чувствительная магнитно-резонансная томография (НМ-МРТ) может обеспечить дополнительный неинвазивный косвенный показатель функции и целостности дофамина (5, 6). Нейромеланин (НМ) представляет собой пигмент, образующийся в результате превращения цитозольного дофамина, который постепенно накапливается в течение жизни в дофаминовых нейронах черной субстанции (ЧС) (7). Нейромеланин связывается с железом, образуя парамагнитные комплексы, которые можно визуализировать с помощью МРТ (6, 8, 9). НМ-МРТ может надежно регистрировать истощение нейромеланина после нейродегенерации ЧС при болезни Паркинсона (6, 10). Важно отметить, что данный способ может также регистрировать изменения функции дофамина в отсутствие нейродегенерации (5, 11), что согласуется с данными вне организма о том, что стимуляция синтеза дофамина повышает синтез НМ (12, 13).

[00546] В частности, НМ-МРТ сигнал в подобласти черной субстанции повышается в связи с психическим расстройством (5), что согласуется с данными ПЭТ об усилении передачи сигналов с участием дофамина при психическом расстройстве (14). Кроме того, НМ-МРТ сигнал напрямую коррелирует как с показателями ПЭТ пресинаптического высвобождения дофамина, так и с кровотоком в среднем мозге в состоянии покоя (5). Таким образом, в одном варианте осуществления предмет изобретения, раскрытый здесь, демонстрирует, что НМ-МРТ обеспечивает косвенный показатель функциональных изменений на дофаминергических путях, применимый для изучения психических расстройств без явной нейродегенерации.

[00547] В данном случае НМ-МРТ впервые применяли для изучения того, можно ли обнаружить аналогичные изменения при расстройстве, связанном с употреблением кокаина, расстройстве, включающем дисфункцию дофамина. С этой целью основные анализы, описанные здесь, тестировали для проверки влияния диагностической группы на НМ-МРТ сигнал в черной субстанции. Не ограничиваясь теорией, основанной на предыдущих исследованиях с ПЭТ (1, 3), полагается, что расстройство, связанное с употреблением кокаина, могло бы быть связано со снижением НМ-МРТ сигнала. В ходе исследовательских анализов оценивали связи между изменениями интенсивности НМ-

МРТ сигнала при расстройстве, связанном с употреблением кокаина, и гемодинамическими реакциями мозга во время выполнения теста «Денежное стимулирование с задержкой». Было показано, что активация вентральной области полосатого тела во время ожидания вознаграждения в данном тесте обеспечивает надежное функциональное считывание обработки вознаграждения (15), связанной с дофамином (16, 17), который постоянно снижается при наркотической и поведенческой зависимости (18, 19). Поскольку вентральная область полосатого тела получает проекции от вентральной области покрышки и дорсомедиальной области ЧС (20, 21), то исследовали взаимосвязь между НМ-МРТ сигналом в ЧС и связанной с вознаграждением активацией в вентральном полосатом теле.

[00548] Методы

[00549] *Участники*

[00550] Данное исследование было одобрено Институциональным наблюдательным советом Психиатрического института штата Нью-Йорк. Все участники давали письменное информированное добровольное согласие. Участники, употребляющие кокаин, соответствовали критериям по DSM-V для умеренного или тяжелого расстройства, связанного с употреблением кокаина, без какого-либо другого текущего диагноза оси I или текущего заболевания. Любое другое расстройство, связанное с употреблением психоактивных веществ (помимо табака и кокаина), было критерием исключения. На момент включения эти участники активно курили кокаин, что было подтверждено токсикологическим анализом мочи. Они должны были воздерживаться как минимум в течение 5 суток до сканирования, что подтверждали анализом мочи на наркотики (проводили через день). Участники воздерживались от употребления табака в течение как минимум одного часа до сканирования. Также в исследование включали контрольную группу употребляющих и не употребляющих табак. Процедуры скрининга включали медицинский осмотр, снятие электрокардиограммы и лабораторные анализы. Всех участников набирали по объявлениям и по устной информации. Контрольных субъектов исключали по причине: текущего или прошлого расстройства по оси I (за исключением расстройства, связанного с употреблением табака), неврологических расстройств в анамнезе или текущего серьезного медицинского заболевания. В целом в исследовании приняли участие 58 мужчин. Три участника (1 потребитель кокаина и 2 контрольных) были исключены за счет непригодных для использования НМ-МРТ изображений (либо в результате движения участника [показывая четко видимые, размазанные или полосчатые артефакты, влияющие на средний мозг, $n=2$], либо в результате неправильного размещения стека изображений [$n=1$]). Таким образом, для анализа было оставлено в общей сложности 55 участников: 20 потребителей кокаина и 35 контрольных субъектов в соответствующей по полу и возрасту группе, как показано на фиг 4. Все участники заполняли анкеты для самоотчетов, включая Многомерную шкалу восприятия социальной поддержки (22) и Шкалу депрессии Бека (23).

[00551] *Получение НМ-МРТ*

[00552] Магнитно-резонансные (MP) изображения были получены для всех участников исследования на сканере GE Healthcare 3T MR750 с использованием 32-канальной головной катушки Nova с фазированной решеткой в соответствии с методами, описанными в предыдущей работе (5). По логистическим причинам несколько сканирований (7% от всех сканирований, 4 из 55 проводили с использованием 8-канальной головной катушки Invivo. НМ-MPT изображения получали с использованием 2D отклика последовательности градиентного эхо с контрастом переноса намагниченности (2D GRE-MT) со следующими параметрами: время повторения (TR)=260 мс; время эхо (TE)=2,68 мс; угол переворота=40°; плоскостное разрешение=0,39 × 0,39 мм²; частичное покрытие головного мозга полем зрения (FoV)=162 × 200; матрица=416 × 512; число срезов=10; толщина среза=3 мм; зазор среза=0 мм; смещение частоты передачи намагничивания=1200 Гц; число возбуждений (NEX)=8; время регистрации=8,04 мин. Протокол отнесения срезов состоял из ориентации стека изображений вдоль линии передней-комиссуры-задней-комиссуры и размещения верхнего среза на 3 мм ниже дна третьего желудочка (более подробно см. (5)). Данный протокол обеспечивал покрытие ЧС-содержащих частей среднего мозга и окружающих структур. Для поддержки предварительной обработки НМ-MPT изображений (см. ниже) также были получены структурные MPT-сканы всего мозга с T1-взвешенным изображением с высоким разрешением с использованием быстрой последовательности искаженного градиентного эхо (время инверсии=500 мс, TR=6,37 мс, TE=2,59 мс, угол поворота=11°, поле обзора=256×256, число срезов=244, размер изотропного вокселя=1,0 мм³) или, в некоторых случаях, последовательность 3D BRAVO (время инверсии=450 мс, TR=7,85 мс, TE=3,10 мс, угол поворота=12°, FoV=240×240, число срезов=220, размер изотропного вокселя=0,8 мм³). Качество НМ-MPT изображений визуально проверяли на наличие артефактов сразу после получения, и при необходимости сканирование повторяли, если позволяло время.

[00553] *Предварительная обработка НМ-MPT*

[00554] Как и в предшествующей работе (5), НМ-MPT сканы предварительно обрабатывали с использованием SPM12, чтобы сделать возможным воксельный анализ в стандартизированном MPT-пространстве. НМ-MPT сканы сначала были сопоставлены с T1-взвешенными сканами участников. Затем выполняли сегментацию ткани с использованием T1-взвешенных изображений. НМ-MPT сканы нормализовали к MPT-пространству с использованием процедур DARTEL с шаблоном серого и белого вещества, полученным от всех участников исследования. Размер вокселей после повторной выборки несглаженных, нормализованных НМ-MPT сканов составлял 1 мм, изотропный. Все изображения визуально проверяли после каждого этапа предварительной обработки. Затем выполняли нормализацию интенсивности и пространственное сглаживание с использованием пользовательских скриптов Matlab (Mathworks). Отношение контраст/шум (CNR) для каждого участника и вокселя v рассчитывали как относительную

разницу в интенсивности I НМ-MPT сигнала от эталонной области RR трактов белого вещества, о которых известно, что они имеют минимальное содержание НМ, ножки большого мозга, как $CNR_v = (I_v - \text{режим}(I_{RR})) / \text{режим}(I_{RR})$. Маску шаблона эталонной области и ЧС создавали посредством ручной трассировки на шаблоне НМ-MPT изображения в MPT-пространстве (среднее значение нормализованных НМ-MPT сканов от всех участников исследования, см. фиг. 1 и предшествующий отчет для получения более подробной информации (5)). Режим (I_{RR}) был рассчитан для каждого участника из функции сглаживания ядра, подходящей к гистограмме распределения всех вокселей в маске. Полученные карты отношения контраст/шум НМ-MPT были затем пространственно сглажены с помощью ядра Гаусса с полной шириной 1 мм на половине максимума.

[00555] *Анализ НМ-MPT*

[00556] Все анализы проводили в Matlab. Следуя предшествующим исследованиям (5), основной анализ состоял из воксельного анализа значений отношения контраст/шум в маске ЧС. Данный подход регистрирует топографические изменения, предположительно соответствующие функционально различным субпопуляциям нейронов ЧС (20) и которые ранее проявляли высокую чувствительность к дофаминергической патофизиологии (5). В частности, с использованием первичного воксельного анализа исследовали специфические различия между потребителями кокаина и контрольной группой с помощью надежного линейного регрессионного анализа (функция надежной подгонки в Matlab), который прогнозировал отношение контраст/шум (сигнал НМ) в каждом вокселе v в маске ЧС как: $CNR_v = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{диагноз} + \sum_{i=2}^n \beta_i \cdot \text{мешающая ковариата} + \varepsilon$ с употреблением табака (сигарет в день), головной катушкой и возрастом в качестве мешающих ковариат. Следует обратить внимание, что поправка на возраст имеет решающее значение, учитывая известную взаимосвязь между возрастом и накоплением нейромеланина (7). Как и в предыдущей работе (5), после цензурирования точек данных участников с отсутствующими значениями за счет неполного покрытия ЧС или экстремальных значений (отношение контраст/шум $< -8\%$ или отношение контраст/шум $> 40\%$; в среднем 71 ± 195 вокселей или 4% всех вокселей ЧС были подвергнуты цензурированию на одного субъекта). Чтобы скорректировать множественные сравнения и снова в соответствии с предыдущей работой (5), пространственную протяженность эффекта определяли как число вокселей k (смежных или несмежных), демонстрирующих диагностические различия (между потребителями кокаина и контрольной группой) в НМ сигнале как в положительном или отрицательном направлении (максимальное пороговое значение вокселя для t -критерия коэффициента регрессии β_1 $p < 0,05$, односторонний;

обращает внимание, что результаты оставались статистически значимыми при более жестком максимальном пороговом значении $p < 0,01$). Затем проводили тестирование статистической значимости на основе теста перестановки, в котором диагностические метки случайным образом переставлялись по отношению к отдельным картам НМ сигнала. Это дало меру пространственной протяженности для каждого из 10000 переставленных рядов данных, сформировав нулевое распределение, против которого можно рассчитать вероятность случайного наблюдения пространственной протяженности к эффекта в истинных данных. Таким образом, этот тест корректирует множественные сравнения, определяя, была ли пространственная протяженность эффекта k больше, чем можно было бы ожидать случайно ($p_{\text{корр.}} < 0,05$; 10000 перестановок).

[00557] Для более детального топографического описания воксельных эффектов в ЧС использовали апостериорный, множественный линейный регрессионный анализ для вокселей ЧС для прогнозирования силы эффекта как функции координат вокселей МРТ в направлениях x (абсолютное расстояние от средней линии), y и z в пределах маски ЧС. Для полноты был также проведен анализ представляющей интерес области среднего сигнала НМ по всей маске ЧС. Данный анализ представляющей интерес области состоял из надежного линейного регрессионного анализа, включая головную катушку, возраст и неполный охват ЧС (да/нет) в качестве мешающих ковариат.

[00558] Способность НМ-МРТ разделять участников на основе диагностической группы определяли вычислением оценок размера эффекта и площади под кривой рабочих характеристик приемника на основе среднего сигнала НМ-МРТ в вокселях, идентифицированных в первичном воксельном анализе, в качестве имеющих отношение к расстройству, связанному с употреблением кокаина (далее именуемые «воксели употребления кокаина»: воксели, показывающие диагностический эффект в первичном воксельном анализе или в воксельном анализе после метода проверки с исключением из множества по одному). Метод проверки с исключением из множества по одному используется для получения объективного показателя размера эффекта посредством выбора вокселей: для данного участника воксели, в которых представляющая интерес переменная была связана с НМ-МРТ сигналом, были сначала идентифицированы в анализе, включающем всех участников, кроме этого (удерживаемого) участника. Затем из этого ряда вокселей был рассчитан средний сигнал удерживаемого участника. Данную процедуру повторяли для всех участников, так что каждый участник имел извлеченный средний НМ-МРТ сигнал, полученный из анализа, который их исключил. Доверительные интервалы для показателей размера эффекта, коэффициент Коэна d и f^2 , определяли методом «вытаскивания».

[00559] Частичные корреляции, связанные с клиническими показателями НМ-МРТ сигнала, извлеченного из вокселей употребления кокаина, с возрастом и употреблением табака в качестве ковариат. Использовалась частичная (непараметрическая) корреляция

Спирмена, поскольку клинические показатели не имели нормального распределения согласно критерию Лиллифорса при $p < 0,05$.

[00560] *Способы фМРТ*

[00561] Данные фМРТ были собраны у 37 участников исследования (20 потребителей кокаина, 17 контрольных). Зависимую от уровня кислорода в крови (BOLD) фМРТ проводили, когда участники выполняли тест «Денежное стимулирование с задержкой». Эхо-планарные изображения получали со следующими параметрами: время повторения (TR)=1500 мс; время эхо (TE)=27 мс; угол переворота=60°; плоскостное разрешение=3,5 × 3,5 мм²; толщина среза=4 мм; зазор между срезами=1 мм. Всего было 2 сеанса по 12,1 мин. фМРТ изображения предварительно обрабатывали с использованием стандартных методов в SPM12, включая коррекцию времени среза, повторное выравнивание, сопоставление по T1-взвешенным сканам, пространственную нормализацию к стандартному МРТ-пространству и сглаживание (полная ширина 6 мм при половине максимального ядра). Использованный метод «Денежное стимулирование с задержкой» был аналогичен стандартной версии (24), включающей представление визуальных сигналов (геометрических фигур), связанных с последующим получением обратной связи относительно денежного вознаграждения (\$1 или \$5), денежных потерь (\$1 или \$5) или отсутствия результата. (\$0). Метод состоял из 110 испытаний, поровну разделенных на 5 условий. Вероятность приобрести деньги или избежать убытков достигается за счет того, что участники быстро нажимают клавиши, следуя визуальной подсказке. Время, доступное для нажатия клавиши, было персонализировано в зависимости от скорости движения участников во время пробного тестирования. Модель первого уровня включала в себя регрессоры для всех 5 условий в течение периода ожидания (определяемого как период после нажатия кнопки и до получения обратной связи), периода ожидания (после презентации сигнала и до нажатия кнопки) и периода результата (когда обратная связь была отправлена). Регрессоры помех включали 24 параметра движения (6 параметров движения и их квадраты, производные и квадраты производных) и отрезки, относящиеся к сеансу, соответствующие двум сеансам. Как и в предыдущей работе (15), активация во время ожидания вознаграждения определялась контрастом между условиями выигрыша в \$5 и \$0. Для каждого участника был извлечен сигнал из этого контраста в маске вентральной области черного тела (из общедоступной функциональной маски черного тела //osf.io/jkzwp/). Вентральная область полосатого тела представляет собой структуру мозга, которую чаще всего исследуют при использовании этой задачи (19), и было показано, что она обеспечивает надежное и достоверное считывание активности, связанной с вознаграждением, во время этой задачи (25). Для определения связи с НМ-МРТ, была использована линейная регрессия для исследования влияния диагноза, сигнала НМ-МРТ в вокселях употребления кокаина и взаимодействие диагноза по НМ-МРТ сигналу с прогностической активностью BOLD в вентральной области черного тела, с учетом возраста и употребления табака.

[00562] **Результаты**

[00563] Влияние диагностики на НМ-МРТ сигнал в черной субстанции

[00564] Априорный воксельный анализ различий между потребителями кокаина и контрольной группой

[00565] Подмножество вокселей, расположенных в основном вентро-латерально в ЧС, демонстрировало существенно повышенный НМ-МРТ сигнал (отношение контраст/шум) у потребителей кокаина по сравнению с контрольной группой (344 из 1775 вокселей при $p < 0,05$, надежная линейная регрессия с поправкой на возраст, головную катушку и число сигарет в день; $r_{\text{корр.}} = 0,025$, тест перестановки; пиковые координаты МРТ вокселя $[x, y, z]$: 6, -26, -17 мм; см. фиг. 2В). В этой выборке относительно малокурящих субъектов употребление табака не было значимо связано с различиями в НМ-МРТ сигнале (267 вокселей ЧС продемонстрировали сигнал, который положительно коррелировал с числом выкуренных сигарет в день на первичной модели линейной регрессии, $r_{\text{корр.}} = 0,054$).

[00566] На основе средних значений НМ-МРТ сигнала, извлеченных из вокселей, где потребители кокаина показали повышенный НМ-МРТ сигнал по сравнению с контролем в воксельном анализе (воксели употребления кокаина, показанные красным на фиг. 2В, с извлеченными значениями из этих вокселей, показанными на верхней панели фиг. 2А), диагноз расстройства, связанного с употреблением кокаина, оказывал умеренное или сильное влияние на НМ-МРТ сигнал (коэффициент Коэна $d = 1,34$, 95% доверительный интервал [ДИ] = 0,91-1,90, коэффициент Коэна $f^2 = 0,46$, 95% ДИ = 0,19-0,95; метод исключения из множества по одному, коэффициент Коэна $d = 0,77$, 95% ДИ = 0,35-1,27, коэффициент Коэна $f^2 = 0,15$, 95% ДИ = 0,02-0,43; все оценки основаны на НМ-МРТ сигнале с поправкой на возраст, головную катушку и употребление табака). Диагностические различия в скорректированном НМ-МРТ сигнале, извлеченном из вокселей употребления кокаина, оставались от умеренных до высоких при анализе подмножеств исследуемой выборки для устранения возможной путаницы (с контролем лет образования: коэффициент Коэна $d = 0,76$, 95% ДИ = 0,22-1,39, $n = 38$; с контролем симптомов депрессии: коэффициент Коэна $d = 0,84$, 95% ДИ = 0,31-1,52, $n = 37$; с контролем воспринимаемой социальной поддержки: коэффициент Коэна $d = 1,06$, 95% ДИ = 0,52-1,72, $n = 37$; исключая субъектов, не потребляющих табак: коэффициент Коэна $d = 1,05$, 95% ДИ = 0,50-1,74, $n = 28$; исключая участников сканирования с 8-канальной катушкой: коэффициент Коэна $d = 1,38$, ДИ = 0,93-1,97, $n = 51$). Кроме того, большинство потребителей кокаина можно успешно классифицировать относительно всех 35 контрольных субъектов на основе скорректированного НМ-МРТ сигнала, извлеченного из вокселей употребления кокаина (площадь под кривой рабочих характеристик приемника [AUC] = 0,83, метод исключения из множества по одному объективная AUC = 0,71); фиг. 2).

[00567] Для полноты исследовали НМ-МРТ сигнал, усредненный в пределах всей ЧС, с использованием анализа представляющей интерес области. Здесь снова потребители кокаина показали существенно повышенный НМ-МРТ сигнал по сравнению с контрольной группой ($t_{49} = 2,07$, $p = 0,044$, коэффициент Коэна $d = 0,62$, 95% ДИ = 0,19-1,12,

надежная линейная регрессия с учетом возраста, головной катушки, употребления табака, и неполный охват ЧС; AUC=0,69).

[00568] Исследовательский анализ взаимосвязи между НМ-MPT сигналом в черной субстанции и показателями тяжести употребления кокаина

[00569] Было исследовано, насколько коррелирует НМ-MPT сигнал, извлеченный из вокселей употребления кокаина, с тяжестью употребления кокаина, и не было обнаружено статистически значимой корреляции с продолжительностью употребления ($p=-0,33$ $p=0,18$) или деньгами, потраченными на кокаин в неделю ($p=-0,08$, $p=0,74$; частичные корреляции Спирмена с учетом возраста и употребления табака).

[00570] Исследовательский анализ взаимосвязи между НМ-MPT сигналом в черной субстанции и реакцией вентрального полосатого тела на ожидание вознаграждения

[00571] Для исследования взаимосвязи результатов НМ-MPT с дисфункцией цепи связанной с дофамином при расстройстве, связанном с употреблением кокаина, активацию фМРТ BOLD измеряли в вентральном полосатом теле во время ожидания денежного вознаграждения. Как и ожидалось, у всех участников сигнал BOLD был выше в вентральном полосатом теле при ожидании вознаграждения по сравнению с отсутствием вознаграждения ($t_{36}=2,56$, $p=0,015$, одновыборочный t-критерий [$\$5-\0] против времени ожидания). Но эта связанная с вознаграждением активация в вентральном полосатом теле не различалась между группами ($\beta=0,038$, $t_{32}=0,72$, $p=0,48$) и не коррелировала с НМ-MPT сигналом в вокселях употребления кокаина у всех участников ($\beta=-0,015$, $t_{32}=-1,52$, $p=0,14$). Также не было группы с взаимодействием НМ-MPT сигнала с вознаграждением активации в вентральном полосатом теле ($p=0,24$; линейная регрессия с учетом возраста и употребления табака).

[00572] Обсуждение

[00573] В настоящем документе представлены данные, демонстрирующие повышенный НМ-MPT сигнал в ЧС у субъектов с расстройством, связанным с употреблением кокаина. Данное увеличение отсутствовало во всей ЧС, а в большей степени преобладало в более вентральных и латеральных подобластях ЧС. Учитывая, что НМ-MPT сигнал отражает концентрацию синтетических меланинов в экспериментальных препаратах (8) и НМ в посмертных образцах ткани среднего мозга (5) и что накопление НМ в ЧС зависит от функции дофамина (5, 12, 13), то на основе полученных результатов можно предположить, что потребители кокаина проявляют повышенную концентрацию НМ в этих подобластях ЧС, что может свидетельствовать о дофаминергической дисфункции.

[00574] Обнаружение повышенного НМ сигнала у потребителей кокаина было неожиданным, учитывая результаты предыдущих исследований с ПЭТ, результаты которых показали, что пресинаптический дофамин «притупляется» при расстройствах, связанных с употреблением кокаина (1-4). Однако это несоответствие дает дополнительное представление о патофизиологии передачи сигналов с участием дофамина при этом расстройстве. Сочетание «притупленного» высвобождения дофамина

в полосатом теле с повышенным НМ в ЧС предполагает, что дофамин распределяется по-разному у потребителей кокаина по сравнению с контрольной группой. Более низкая концентрация дофамина в синаптических везикулах и более высокая концентрация дофамина в цитозольном пуле могут объяснить расхождение между исследованиями с ПЭТ, которые оценивали высвобождение дофамина из везикул, и визуализацией НМ, который накапливается на основе концентрации дофамина в цитозоле (12, 26). С другой стороны, если бы расстройство, связанное с употреблением кокаина, было связано с общим и стойким снижением синтеза дофамина, то можно было бы ожидать снижения сигнала, как на ПЭТ, так и на НМ-МРТ.

[00575] Имеет место ряд предшествующих исследований, которые поддерживают гипотезу о том, что расстройство, связанное с употреблением кокаина, включает перераспределение дофамина между везикулярными и цитозольными пулами (графическое изображение этой гипотезы см. на фиг. 3). Хроническое воздействие кокаина связано со снижением экспрессии везикулярного переносчика моноамина 2 (VMAT2), что приводит к снижению уровня дофамина в везикулярном пуле и его увеличению в цитозольном пуле. Снижение VMAT2 было показано у приматов, отличных от человека, которые постоянно принимали кокаин самостоятельно (27), и у людей, употребляющих кокаин (28). Исследования с посмертными образцами человека также показывают снижение VMAT2 полосатого тела у потребителей кокаина (29-31).

[00576] «Притупление» экспрессии VMAT2 при расстройстве, связанном с употреблением кокаина, могло бы объяснить снижение пресинаптического высвобождения дофамина, наблюдаемое по данным ПЭТ (1-4), а также можно объяснить снижение накопления [^{18}F]ДОФА, наблюдаемое в этой популяции (32), поскольку это, вероятно, зависит от концентрации радиофармпрепарата в синаптических везикулах (33). Также было показано, что сниженная экспрессия VMAT2 коррелирует с повышенным образованием НМ в среднем мозге (12, 34). Хотя было показано, что употребление кокаина связано с измененной экспрессией ауторецепторов D2 и некоторых других белков (1, 35), эти изменения обычно сдвигают как накопление НМ, так и высвобождение дофамина в одном направлении. Изменение VMAT2, с другой стороны, выделяется как экономное объяснение наблюдаемых изменений, происходящих в противоположных направлениях. В совокупности результаты этих визуализирующих исследований показывают, что употребление кокаина связано с более низким уровнем дофамина в везикулярном пуле и более высокой концентрацией в цитозольном компартменте. Тем не менее, для подтверждения гипотезы необходимо исследование визуализации VMAT2 и высвобождения дофамина у потребителей кокаина в сочетании с НМ-МРТ среднего мозга. Если употребление кокаина действительно увеличивает уровень цитозольного дофамина, то это может представлять риск для нейронов, поскольку в результате окисления дофамина в этом компартменте образуются реактивные молекулы хинонов (36); однако нет четких доказательств повышенной гибели дофаминовых клеток (37) или риска болезни Паркинсона (38) у потребителей кокаина.

[00577] Альтернативная интерпретация основного наблюдения заключается в том, что повышение НМ у потребителей кокаина является результатом повторяющихся эпизодических всплесков дофамина, которые происходили в течение жизни участников, которые могут не регистрироваться с использованием ПЭТ. Поскольку гранулы НМ удаляются только после гибели клеток (26) и, таким образом, служат долгосрочным репортером функции дофамина, то даже отдаленное употребление кокаина в анамнезе (которое может остро привести к избытку дофамина во время употребления кокаина) может проявляться в виде стойкого повышения НМ-МРТ сигнала. Для рассмотрения этой возможности потребуются будущие продолжительные исследования.

[00578] В качестве начального теста функциональной значимости результатов исследовали, насколько коррелирует НМ-МРТ сигнал в вокселях употребления кокаина в ЧС с ответом при фМРТ на ожидание вознаграждения в вентральном полосатом теле во время метода «Денежное стимулирование с задержкой», надежное исследование функции системы вознаграждения (15, 19, 25). Значимой корреляции не было обнаружено. Это, возможно, неудивительно, поскольку аномалия у потребителей кокаина не была сгруппирована рядом с «лимбической» ЧС или вентральной областью покрышки [дорсомедиальные области чрезмерно инклюзивной маски ЧС (21)], которые направляют основные проекции в вентральное полосатое тело. Скорее, топографический анализ показал, что групповые различия преобладают в вентральной (или «когнитивной») ЧС (21), подобласти с заметными проекциями в дорсальную область полосатого тела, который, как считается, участвует в когнитивной гибкости и других функциях более высокого порядка. В то время как ПЭТ-визуализация функции дофамина у потребителей кокаина обнаружила устойчивые доказательства дофаминергических изменений в дорсальном полосатом теле, она также обнаружила выраженные изменения в вентральном полосатом теле. Является интригой наблюдение, что у потребителей кокаина наблюдается увеличение НМ-МРТ сигнала в областях, имеющих проекции в дорсально-полосатое тело, но не в областях, имеющих проекции в вентрально-полосатое тело, что согласуется с предыдущим наблюдением значительного снижения VMAT2 в дорсальном, но не вентральном полосатом теле в этой популяции (28, 31). Что бы ни лежало в основе этого анатомического рисунка, он подчеркивает, что цепи черной субстанции, вовлеченные в когнитивные функции, могут быть важными при расстройстве, связанном с употреблением кокаина, и что будущие исследования могут быть лучше спланированы для определения функционального значения изменения НМ-МРТ сигнала при этом расстройстве посредством исследования когнитивных процессов более высокого уровня в дополнении к методам с вознаграждением.

[00579] Основным ограничением данного исследования является относительно небольшая, полностью мужская выборка. Однако этот первый отчет о НМ-МРТ при расстройствах, связанных с употреблением психоактивных веществ, подтверждает перспективность данного метода для оценки функции дофамина в этой популяции. Единственным предыдущим исследованием НМ-МРТ, проведенным для изучения

употребления психоактивных веществ, была предварительная оценка размера области ЧС в небольшой группе пациентов с психическими заболеваниями. Пациенты с психическими заболеваниями с сопутствующим употреблением психоактивных веществ демонстрировали большую площадь НМ, чем пациенты, не употребляющие психоактивных веществ (39). Предыдущих работ по изучению концентрации НМ в посмертных образцах тканей при расстройствах, связанных с употреблением психоактивных веществ, не проводилось, и это может стать важным будущим направлением для обеспечения конвергентной поддержки результатов. Необходимы дальнейшие исследования для решения вопроса об обобщении, особенно в свете результатов, показывающих взаимосвязь между НМ-MPT и употреблением табака (которая вполне может достичь значимости в большей выборке или у более активных курильщиков). Предполагая, что повышенный НМ сигнал связан с подавлением VMAT2 (27, 28), зарегистрированный фенотип НМ-MPT может быть специфичен для кокаина или других наркотиков, влияющих на VMAT2 [возможно, включая метамфетамин, хотя его связь с VMAT2 менее ясна (1)]. Отсутствие значимой корреляции между НМ-MPT сигналом и продолжительностью употребления кокаина в приведенных здесь данных вызывает удивление. Учитывая, что НМ накапливается во времени, ожидается, что более продолжительное употребление приведет к преувеличению любых отклонений, наблюдаемых у потребителей кокаина. Однако отсутствие значимой взаимосвязи может быть связано с ограниченным диапазоном продолжительности употребления в выборке, приведенной здесь, поскольку все участники употребляли кокаин в течение многих лет. НМ-MPT сигнал не отражает ни одного биологического процесса, но может модифицироваться под влиянием изменений в синтезе дофамина (12), переносом дофамина в везикулы (34) или гибелью дофаминовых клеток (6). Такая неспецифичность характерна для способов визуализации (40, 41) и свидетельствует в пользу полезности многомодальных исследований для триангуляции нейробиологических механизмов, поскольку полученные здесь данные можно интерпретировать в свете предыдущих отчетов по ПЭТ-визуализации. В то время как интерпретация результатов НМ-MPT упрощается за счет отсутствия повышенной гибели дофаминовых клеток у потребителей кокаина (37), интерпретация результатов НМ-MPT при нарушениях, демонстрирующих значительную гибель клеток в сочетании с измененным накоплением НМ, может быть более сложной.

[00580] В данном случае данные НМ-MPT свидетельствовали об аномальном накоплении НМ у потребителей кокаина, что является косвенным признаком дисфункции дофамина, согласующейся с результатами предыдущей работой. Предмет изобретения, раскрытый в настоящем документе, таким образом, позиционирует НМ-MPT в качестве многообещающего исследовательского инструмента зависимости и поддерживает его разработку в качестве биомаркера-кандидата для расстройств, связанных с употреблением стимуляторов. Учитывая центральную роль дофамина в развитии зависимости и простоту получения данных НМ-MPT, данный способ может улучшить понимание изменений

дофамина при зависимости, особенно потому, что он дает возможность исследовать более молодые группы риска и описывать продолжительные исследования траекторий изменений дофамина, которые было сложно исследовать с использованием ПЭТ.

[00581] Ссылки для примера 3

1. Ashok A.H., Mizuno Y., Volkow N.D., Howes O.D. Association of Stimulant Use With Dopaminergic Alterations in Users of Cocaine, Amphetamine, or Methamphetamine: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*, 2017;74:511-519.

2. Martinez D., Carpenter K.M., Liu F., Slifstein M., Broft A., Friedman A.C., Kumar D., Van Heertum R., Kleber H.D., Nunes E. Imaging dopamine transmission in cocaine dependence: link between neurochemistry and response to treatment. *Am. J. Psychiatry*, 2011;168:634-641.

3. Martinez D., Narendran R., Foltin R.W., Slifstein M., Hwang D.R., Broft A., Huang Y., Cooper T.B., Fischman M.W., Kleber H.D., Laruelle M. Amphetamine-induced dopamine release: markedly blunted in cocaine dependence and predictive of the choice to self-administer cocaine. *Am. J. Psychiatry*, 2007;164:622-629.

4. Volkow N.D., Wang G.J., Fowler J.S., Logan J., Gatley S.J., Hitzemann R., Chen A.D., Dewey S.L., Pappas N. Decreased striatal dopaminergic responsiveness in detoxified cocaine-dependent subjects. *Nature*, 1997;386:830-833.

5. Cassidy C.M., Zucca F.A., Girgis R.R., Baker S.C., Weinstein J.J., Sharp M.E., Bellei C., Valmadre A., Vanegas N., Kegeles L.S., Brucato G., Jung Kang U., Sulzer D., Zecca L., Abi-Dargham A., Horga G. Neuromelanin-sensitive MRI as a noninvasive proxy measure of dopamine function in the human brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2019;116:5108-5117.

6. Sulzer D., Cassidy C., Horga G., Kang U.J., Fahn S., Casella L., Pezzoli G., Langley J., Hu X.P., Zucca F.A., Isaias I.U., Zecca L. Neuromelanin detection by magnetic resonance imaging (MRI) and its promise as a biomarker for Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis.*, 2018;4:11.

7. Zecca L., Fariello R., Riederer P., Sulzer D., Gatti A., Tampellini D. The absolute concentration of nigral neuromelanin, assayed by a new sensitive method, increases throughout the life and is dramatically decreased in Parkinson's disease. *FEBS Lett.*, 2002;510:216-220.

8. Trujillo P., Summers P.E., Ferrari E., Zucca F.A., Sturini M., Mainardi L.T., Cerutti S., Smith A.K., Smith S.A., Zecca L., Costa A. Contrast mechanisms associated with neuromelanin-MRI. *Magn. Reson. Med.*, 2017;78:1790-1800.

9. Zecca L., Bellei C., Costi P., Albertini A., Monzani E., Casella L., Gallorini M., Bergamaschi L., Moscatelli A., Turro N.J., Eisner M., Crippa P.R., Ito S., Wakamatsu K., Bush W.D., Ward W.C., Simon J.D., Zucca F.A. New melanic pigments in the human brain that accumulate in aging and block environmental toxic metals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2008;105:17567-17572.

10. Martin-Bastida A., Lao-Kaim N.P., Roussakis A.A., Searle G.E., Xing Y., Gunn R.N., Schwarz S.T., Barker R.A., Auer D.P., Piccini P. Relationship between neuromelanin and dopamine terminals within the Parkinson's nigrostriatal system. *Brain*, 2019;142:2023-2036.

11. Watanabe Y., Tanaka H., Tsukabe A., Kunitomi Y., Nishizawa M., Hashimoto R.,

Yamamori H., Fujimoto M., Fukunaga M., Tomiyama N. Neuromelanin magnetic resonance imaging reveals increased dopaminergic neuron activity in the substantia nigra of patients with schizophrenia. *PLoS One*, 2014;9:e104619.

12. Sulzer D., Bogulavsky J., Larsen K.E., Behr G., Karatekin E., Kleinman M.H., Turro N., Krantz D., Edwards R.H., Greene L.A., Zecca L. Neuromelanin biosynthesis is driven by excess cytosolic catecholamines not accumulated by synaptic vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2000;97:11869-11874.

13. Cebrian C., Zucca F.A., Mauri P., Steinbeck J.A., Studer L., Scherzer C.R., Kanter E., Budhu S., Mandelbaum J., Vonsattel J.P., Zecca L., Loike J.D., Sulzer D. MHC-I expression renders catecholaminergic neurons susceptible to T-cell-mediated degeneration. *Nat. Commun.*, 2014;5:3633.

14. McCutcheon R.A., Abi-Dargham A., Howes O.D. Schizophrenia, Dopamine and the Striatum: From Biology to Symptoms. *Trends Neurosci.*, 2019;42:205-220.

15. Oldham S., Murawski C., Fornito A., Youssef G., Yucel M., Lorenzetti V. The anticipation and outcome phases of reward and loss processing: A neuroimaging meta-analysis of the monetary incentive delay task. *Hum. Brain Mapp.*, 2018;39:3398-3418.

16. Urban N.B., Slifstein M., Meda S., Xu X., Ayoub R., Medina O., Pearlson G.D., Krystal J.H., Abi-Dargham A. Imaging human reward processing with positron emission tomography and functional magnetic resonance imaging. *Psychopharmacology (Berl)*, 2012;221:67-77.

17. Schott B.H., Minuzzi L., Krebs R.M., Elmenhorst D., Lang M., Winz O.H., Seidenbecher C.I., Coenen H.H., Heinze H.J., Zilles K., Duzel E., Bauer A. Mesolimbic functional magnetic resonance imaging activations during reward anticipation correlate with reward-related ventral striatal dopamine release. *J. Neurosci.*, 2008;28:14311-14319.

18. Luijten M., Schellekens A.F., Kuhn S., Machielse M.W., Sescousse G. Disruption of Reward Processing in Addiction : An Image-Based Meta-analysis of Functional Magnetic Resonance Imaging Studies. *JAMA Psychiatry*, 2017;74:387-398.

19. Balodis I.M., Potenza M.N. Anticipatory reward processing in addicted populations: a focus on the monetary incentive delay task. *Biol. Psychiatry*, 2015;77:434-444.

20. Weinstein J.J., Chohan M.O., Slifstein M., Kegeles L.S., Moore H., Abi-Dargham A. Pathway-Specific Dopamine Abnormalities in Schizophrenia. *Biol. Psychiatry*, 2017;81:31-42.

21. Zhang Y., Larcher K.M., Misic B., Dagher A. Anatomical and functional organization of the human substantia nigra and its connections. *Elife*, 2017;6.

22. Zimet G.D., Dahlem N.W., Zimet S.G., Farley G.K. The multidimensional scale of perceived social support. *Journal of Personality Assessment*, 1988;52:30-41.

23. Beck A.T., Steer R.A., Ball R., Ranieri W. Comparison of Beck Depression Inventories -IA and -II in psychiatric outpatients. *J. Pers Assess.*, 1996;67:588-597.

24. Andrews M.M., Meda S.A., Thomas A.D., Potenza M.N., Krystal J.H., Worhunsky P., Stevens M.C., O'Malley S., Book G.A., Reynolds B., Pearlson G.D. Individuals family history positive for alcoholism show functional magnetic resonance imaging differences in

reward sensitivity that are related to impulsivity factors. *Biol. Psychiatry*, 2011;69:675-683.

25. Wu C.C., Samanez-Larkin G.R., Katovich K., Knutson B. Affective traits link to reliable neural markers of incentive anticipation. *Neuroimage*, 2014;84:279-289.

26. Zucca F.A., Basso E., Cupaioli F.A., Ferrari E., Sulzer D., Casella L., Zecca L. Neuromelanin of the human substantia nigra: an update. *Neurotox. Res.*, 2014;25:13-23.

27. Narendran R., Jedema H.P., Lopresti B.J., Mason N.S., Himes M.L., Bradberry C.W. Decreased vesicular monoamine transporter type 2 availability in the striatum following chronic cocaine self-administration in nonhuman primates. *Biol. Psychiatry*, 2015;77:488-492.

28. Narendran R., Lopresti B.J., Martinez D., Mason N.S., Himes M., May M.A., Daley D.C., Price J.C., Mathis C.A., Frankle W.G. In vivo evidence for low striatal vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2) availability in cocaine abusers. *Am J Psychiatry*, 2012;169:55-63.

29. Little K.Y., Krolewski D.M., Zhang L., Cassin B.J. Loss of striatal vesicular monoamine transporter protein (VMAT2) in human cocaine users. *Am. J. Psychiatry*, 2003;160:47-55.

30. Little K.Y., Zhang L., Desmond T., Frey K.A., Dalack G.W., Cassin B.J. Striatal dopaminergic abnormalities in human cocaine users. *Am. J. Psychiatry*, 1999;156:238-245.

31. Wilson J.M., Levey A.I., Bergeron C., Kalasinsky K., Ang L., Peretti F., Adams V.I., Smialek J., Anderson W.R., Shannak K., Deck J., Niznik H.B., Kish S.J. Striatal dopamine, dopamine transporter, and vesicular monoamine transporter in chronic cocaine users. *Ann. Neurol.*, 1996;40:428-439.

32. Wu J.C., Bell K., Najafi A., Widmark C., Keator D., Tang C., Klein E., Bunney B.G., Fallon J., Bunney W.E. Decreasing striatal 6-FDOPA uptake with increasing duration of cocaine withdrawal. *Neuropsychopharmacology*, 1997;17:402-409.

33. Kumakura Y., Cumming P. PET studies of cerebral levodopa metabolism: a review of clinical findings and modeling approaches. *Neuroscientist*, 2009;15:635-650.

34. Liang C.L., Nelson O., Yazdani U., Pasbakhsh P., German D.C. Inverse relationship between the contents of neuromelanin pigment and the vesicular monoamine transporter-2: human midbrain dopamine neurons. *J. Comp. Neurol.*, 2004;473:97-106.

35. Worhunsky P.D., Matuskey D., Gallezot J.D., Gaiser E.C., Nabulsi N., Angarita G.A., Calhoun V.D., Malison R.T., Potenza M.N., Carson R.E. Regional and source-based patterns of [(11)C]-(+)-PHNO binding potential reveal concurrent alterations in dopamine D2 and D3 receptor availability in cocaine-use disorder. *Neuroimage*, 2017;148:343-351.

36. Segura-Aguilar J., Paris I., Munoz P., Ferrari E., Zecca L., Zucca F.A. Protective and toxic roles of dopamine in Parkinson's disease. *J. Neurochem.*, 2014;129:898-915.

37. Bennett B.A., Hyde C.E., Pecora J.R., Clodfelter J.E. Long-term cocaine administration is not neurotoxic to cultured fetal mesencephalic dopamine neurons. *Neurosci. Lett.*, 1993;153:210-214.

38. Asser A., Taba P. Psychostimulants and movement disorders. *Front Neurol.*, 2015;6:75.

39. Tavares M., Reimao S., Chendo I., Carvalho M., Levy P., Nunes R.G. Neuromelanin magnetic resonance imaging of the substantia nigra in first episode psychosis patients consumers of illicit substances. *Schizophr. Res.*, 2018;197:620-621.

40. Guo N., Hwang D.R., Lo E.S., Huang Y.Y., Laruelle M., Abi-Dargham A. Dopamine depletion and in vivo binding of PET D1 receptor radioligands: implications for imaging studies in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 2003;28:1703-1711.

41. Logothetis N.K. What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature*, 2008;453:869-878.

Пример 4. Связь между сигналом нейромеланин-чувствительной МРТ и психомоторной заторможенности при депрессии в пожилом возрасте

[00582] Резюме

[00583] Депрессия в пожилом возрасте (LLD) является распространенным и инвалидизирующим состоянием в пожилом возрасте, которое часто сопровождается замедлением обработки информации и скоростью ходьбы. Эти симптомы связаны с нарушением функции дофамина и иногда устраняются лечением леводопой (L-ДОФА). В этом исследовании 33 пожилых субъекта с LLD были набраны для определения связи между косвенным показателем функции дофамина - нейромеланин-чувствительной магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) - и исходной заторможенностью, измеренной в тесте замены цифровых символов и парадигмой скорости ходьбы. Во вторичных анализах также оценивали способность НМ-МРТ прогнозировать ответ на лечение L-ДОФА в подгруппе этих пациентов (N=15), которые получали L-ДОФА в течение 3 недель. Еще одна подгруппа этих пациентов (N=6) была сканирована с использованием НМ-МРТ в начале исследования и после лечения для оценки влияния лечения L-ДОФА на НМ-МРТ сигнал. Было обнаружено, что более низкий исходный уровень НМ-МРТ коррелирует с более медленной исходной скоростью ходьбы (346 из 1807 вокселей черной субстанции-вентральной области покрышки (SN-VTA), $R_{\text{корр.}}=0,038$), особенно в более медиальной, передней и дорсальной части SN-VTA. Вторичный анализ не смог показать наличие связи между исходным уровнем НМ-МРТ и связанными с лечением изменениями скорости ходьбы, скорости обработки информации или тяжести депрессии (все $R_{\text{корр.}} > 0,361$); были обнаружены доказательства повышения НМ-МРТ сигнала через 3 недели после лечения L-ДОФА по сравнению с исходным уровнем (200 из 1807 вокселей SN-VTA; $R_{\text{корр.}}=0,046$). В целом, результаты показывают, что НМ-МРТ обладает чувствительностью к вариабельности скорости ходьбы у пациентов с LDD, предполагая, что этот неинвазивный способ МРТ может стать многообещающим маркером связанной с дофамином психомоторной заторможенности в гериатрической нейропсихиатрии.

[00584] Введение

[00585] Депрессия в пожилом возрасте (LLD) является распространенным и инвалидизирующим состоянием среди пожилых людей, которое часто рецидивирует, может стать хроническим и часто не поддается лечению антидепрессантами (1-4).

Дефициты мотивации, замедленная скорость обработки информации и нарушения ходьбы являются важными аспектами фенотипа LLD и позволяют предположить, что дофаминергическая дисфункция может играть ключевую патофизиологическую роль (5-7). Эти особенности являются негативными прогностическими факторами для лечения антидепрессантами (8) и, в более широком смысле, прогнозируют неблагоприятные последствия для здоровья, включая смерть (9, 10). Недавняя работа предполагает, что монотерапия карбидопой/леводопой (L-ДОФА) значительно улучшает скорость обработки информации, скорость ходьбы и симптомы депрессии у пожилых людей с депрессией за счет повышения доступности дофамина в отдельных подобластях полосатого тела (11). Тем не менее, LLD является неоднородным и этиологически сложным расстройством, что предполагает необходимость неинвазивных и масштабируемых методов выявления субъектов с дефицитом дофамина и персонализации их лечения. В качестве первого шага в этом направлении была протестирована способность чувствительной к нейромеланину магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) регистрировать связанные с дофамином фенотипы при LDD, в частности, реакции психомоторной заторможенности.

[00586] Психомоторная заторможенность имеет большое клиническое значение для LDD, и ее связывали с функцией дофамина. При LLD сниженная скорость обработки информации прогнозирует более слабую ощутимую реакцию на антидепрессанты (8) и более высокий риск развития деменции (12), в то время как замедленная походка увеличивает риск падений (13), инвалидности (14) и смертности (6). Считается, что психомоторная заторможенность у пожилых людей по меньшей мере частично связана со снижением передачи дофамина с возрастом (15-17), что согласуется с исследованиями у человека и доклиническими исследованиями, в которых показана связь мезостриарной дофаминергической передачи со скоростью ходьбы (18, 19). С учетом этой связи, наличие психомоторной заторможенности может указывать на лежащий в основе дофаминергический дефицит, который может играть центральную роль в патофизиологии LDD (7) и который, возможно, может быть устранен с помощью продофаминергических препаратов, таких как L-ДОФА. Действительно, предыдущая работа показала, что у субъектов с LLD с замедленной скоростью ходьбы монотерапия L-ДОФА может улучшить психомоторную заторможенность и симптомы депрессии за счет нормализации мезостриарной передачи дофамина (11). Хотя эти результаты обнадеживают, замедленная скорость ходьбы является косвенным и неспецифическим маркером дефицита дофамина, что позволяет предположить, что более прямые измерения, такие как НМ-МРТ, могут оптимизировать отбор пациентов с LDD, которые могут получить наибольшую пользу от лечения L-ДОФА.

[00587] НМ-МРТ представляет собой неинвазивный метод визуализации, который позволяет визуализировать концентрацию нейромеланина (НМ) в областях, богатых НМ (20, 21). НМ является продуктом метаболизма дофамина, который накапливается в дофаминергических нейронах черной субстанции (ЧС) (22-25). Недавно НМ-МРТ-визуализация ЧС была валидирована в качестве маркера функции дофамина, где НМ-МРТ

сигнал коррелирует с показателями позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) в отношении способности высвобождать дофамин в полосатом теле, и регистрирует дисфункции дофамина, связанные с психическими заболеваниями (20). Таким образом, НМ-MPT уникально подходит в качестве потенциального биомаркера для выбора лечения у пациентов с дисфункцией дофамина, включая по меньшей мере некоторых пациентов с LDD, и может быть широко применена, учитывая ее неинвазивность, экономическую эффективность и отсутствие ионизирующего облучения.

[00588] Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы определить пригодность НМ-MPT в качестве потенциального биомаркера для психомоторной заторможенности и начать тестирование ее способности прогнозировать и контролировать ответ на лечение L-ДОФА при LLD. Не желая ограничиваться какой-либо теорией, полагается, что люди с более медленной обработкой информации и с более медленной походкой будут проявлять более низкую функцию дофамина, измеренную с использованием НМ-MPT. Кроме того, во вторичном анализе в небольшой выборке была исследована способность НМ-MPT прогнозировать ослабление психомоторной заторможенности после лечения L-ДОФА. При анализе другой подгруппы пациентов также изучали чувствительность НМ-MPT к выявлению продолжительных изменений функции дофамина, связанных с лечением L-ДОФА.

[00589] Способы и материалы

[00590] Субъекты

[00591] Описанные исследования проводили в Исследовательской клинике депрессии у взрослых и пожилых людей в Психиатрическом институте штата Нью-Йорк (NYSPI) и были одобрены Институциональным наблюдательным советом NYSPI. Программа исследований LLD охватывает многочисленные терапевтические и патофизиологические исследования. Для увеличения размера выборки были объединены данные двух исследований, которые имели аналогичные критерии отбора и использовали одну и ту же последовательность НМ-MPT. Первое исследование (N=18; исследование 1) представляло собой исследование лечения антидепрессантами, из которого использовали только исходные данные. Второе исследование (N=15; исследование 2) было открытым испытанием L-ДОФА, из которого использовались исходные данные и данные после лечения (ряд данных до и после лечения L-ДОФА). Из этих 15 человек данные НМ-MPT в последующем периоде наблюдений после лечения L-ДОФА были собраны у 6. См. фиг. 5 для дополнительного представления выборки, включенной в анализы. Все испытуемые субъекты (N=33; исследование 1+исследование 2) были взрослыми амбулаторными пациентами в возрасте ≥ 60 лет, у которых было диагностировано большое депрессивное расстройство, дистимия или депрессия без других диагностических определений, и у них была минимальная оценка симптомов депрессии по стандартизированной шкале (шкала оценки депрессии Гамильтона [HRSD] ≥ 16 или шкала оценки депрессии Центра эпидемиологических исследований ≥ 10). Субъекты, которые злоупотребляли психоактивными веществами или имели зависимость, у которых было диагностировано

психотическое расстройство, биполярное расстройство или вероятная деменция, имели балл по Краткой шкале оценки психического статуса ≤ 24 , пункт о самоубийстве HRSD > 2 или балл по Шкале общего клинического впечатления-тяжесть заболевания 7 в исходном периоде, исключались. Субъекты с острым или тяжелым заболеванием, остеоартритом или заболеванием суставов, ограничивающим подвижность, противопоказанием к МРТ или получавшие в течение последних 4 недель психотропные или другие препараты, которые, как известно, влияют на дофамин, также исключались.

[00592] *Оценки*

[00593] Скорость обработки информации оценивали с использованием замены цифровых символов из Шкалы интеллекта взрослых Wechsler-III (26). Скорость ходьбы измерялась в м/с в качестве отдельного задания, в котором участники исследования ходили со своей обычной или нормальной скоростью на 15-футовом маршруте ходьбы. Было завершено два испытания, и итоговое измерение скорости ходьбы регистрировали как среднее значение этих двух испытаний. Тяжесть депрессии оценивали по шкале HRSD из 24 пунктов.

[00594] *Дизайн исследования 1*

[00595] Оценки и данные МРТ были получены на исходном уровне до начала лечения антидепрессантами (N=18). Более подробную информацию можно найти на сайте [Clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01931202](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01931202).

[00596] *Дизайн исследования 2*

[00597] Включение в данное исследование также требовало наличие снижения скорости ходьбы (определяемой как средняя скорость ходьбы на 15-футовой дистанции <1 м/с). Оценки и данные МРТ были получены на исходном уровне, до начала лечения L-ДОФА (N=15). После МРТ испытуемые субъекты начали принимать 37,5 мг карбидопы/150 мг леводопы один раз в день (в 9 утра). После одной недели приема этой дозы испытуемым субъектам было предложено принимать 37,5 мг карбидопы/150 мг леводопы два раза в день (9:00 и 17:00). В течение третьей недели лечения испытуемые субъекты принимали 37,5 мг карбидопы/150 мг леводопы три раза в день (9:00, 12:00 и 17:00). Участникам была дана инструкция придерживаться того же времени приема доз на протяжении всего исследования, как описано выше. Подгруппа этих участников (N=6) прошла МРТ после лечения после визита на неделе 3, когда проводились оценки после лечения. Следует обратить внимание на ранее опубликованную работу по основным результатам для полного описания процедур исследования (11); более подробную информацию можно найти на сайте [Clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02744391](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02744391). Обработку и скорость ходьбы оценивали на исходном уровне, а затем еженедельно во время лечения L-ДОФА (т.е. недели 0-3). Оценки проводились примерно в 13:00 для контроля влияния времени суток и продолжительности с момента последней утренней дозы L-ДОФА (предполагается, что это будет 4 ч). HRSD также выполняли на неделе 0 и неделе 3. Изменения в скорости обработки данных, скорости ходьбы и HRSD принимали за разницу между неделями 3 и неделей 0.

[00598] Магнитно-резонансная томография

[00599] Магнитно-резонансные изображения головного мозга были получены для всех участников на сканере GE MR750 3.0T с использованием 32-канальной головной катушки Nova с фазированной решеткой. Данные НМ-MPT были получены с использованием 2D последовательности градиентного эхо с контрастом переноса намагниченности (2D GRE-MT) со следующими параметрами (20): время повторения (TR)=260 мс; время эхо (TE)=2,68 мс; угол переворота=40°; плоскостное разрешение=0,39 × 0,39 мм²; частичное покрытие головного мозга полем зрения (FoV)=162 × 200; матрица=416 × 512; число срезов=10; толщина среза=3 мм; зазор среза=0 мм; смещение частоты передачи намагничивания=1200 Гц; число возбуждений (NEX)=8; время регистрации=8,04 мин. Протокол отнесения срезов заключался в ориентировании стека изображений вдоль линии передней-комиссуры-задней-комиссуры и размещении верхнего среза на 3 мм ниже дна третьего желудочка, если смотреть в сагиттальной плоскости в середине мозга. Данный протокол обеспечивал покрытие ЧС-содержащих частей среднего мозга (а также корковых и подкорковых структур, окружающих ствол головного мозга) с высоким пространственным планарным разрешением с использованием короткого сканирования, легко переносимого клиническими популяциями субъектов. Для предварительной обработки данных НМ-MPT было получено 3D T1-взвешенное изображение структурной MPT BRAVO всего мозга с высоким разрешением со следующими параметрами: время инверсии=450 мс, TR=7,85 мс, TE=3,10 мс, угол поворота=12°, FoV=240 × 240, матрица=300 × 300, число срезов=220, размер изотропного вокселя=0,8 мм³).

[00600] Данные НМ-MPT предварительно обрабатывали с использованием конвейера, объединяющего SPM и ANT, ранее показанного для достижения высокой надежности повторного тестирования (27). Конвейер состоял из следующих стадий: (1) извлечения мозга из T1w изображения с использованием «antsBrainExtraction.sh»; (2) пространственной нормализации T1w изображения, извлеченного из мозга, в MPT-пространство с использованием «antsRegistrationSyN.sh» (жесткий+аффинный+деформируемый син); (3) совместной регистрации НМ-MPT изображения с T1w изображением с использованием «antsRegistrationSyN.sh» (жесткий); (4) пространственной нормализации НМ-MPT изображений в MPT-пространстве с помощью одностадийного преобразования, объединяющего преобразования, установленные на стадиях (2) и (3), с использованием «antsApplyTransforms»; (5) повторной выборки пространственно-нормализованного НМ-MPT изображения до изотропного разрешения 1 мм с использованием «ResampleImage»; (6) пространственного сглаживания пространственно-нормализованного НМ-MPT изображения с гауссовым ядром полной ширины на половине максимума 1 мм с использованием «SPM-Smooth». Предварительно обработанные НМ-MPT изображения затем использовали для оценки

контрастности НМ-MPT (CNR). CNR НМ-MPT в каждом вокселе рассчитывали в виде процентной разницы интенсивности НМ-MPT сигнала в данном вокселе (IV) от интенсивности сигнала в ножке большого мозга (ICC), области трактов белого вещества, которая, как известно, имеет минимальное содержание НМ как: $CNR_V = \{[I_V - \text{режим}(I_{CC})]/\text{режим}(I_{CC})\} \cdot 100$. Где режим (ICC) был рассчитан для каждого участника из функции сглаживания ядра, подходящей для гистограммы всех вокселей в маске CC (20).

[00601] Статистический анализ

[00602] С использованием априорного анализа проверяли гипотезу о том, что более низкий исходный уровень CNR НМ-MPT коррелировал бы с более медленными психомоторными переменными (замена цифровых символов и скорость ходьбы; N=33; исследование 1+исследование 2). Во вторичном анализе авторы изобретения исследовали, насколько исходный уровень CNR НМ-MPT будет прогнозировать вызванные L-ДОФА улучшения (ускорение) этих психомоторных переменных (N=15; исследование 2). Эти эффекты исследовали в пределах комплекса черная субстанция-вентральная область покрышки (SN-VTA) с использованием подхода воксельного анализа, подтвержденного Cassidy et al. (20). Вкратце, в данном способе используется надежный линейный регрессионный анализ и тесты на значимость коэффициентов регрессии с использованием перестановочных тестов. Линейная модель, использованная для проверки априорной гипотезы (модель 1), была следующей: $CNR_V = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{скорость ходьбы} + \beta_2 \cdot \text{балл замены цифровых символов} + \beta_3 \cdot HRSD + \beta_4 \cdot \text{возраст} + \beta_5 \cdot \text{пол} + \beta_6 \cdot \text{образование}$

где β_{1-3} - представляющие интерес переменные и β_{4-6} - не представляющие интерес ковариаты. Линейная модель для вторичного анализа (модель 2):

$$CNR_V = \beta_0 + \beta_1 \cdot \Delta \text{скорость ходьбы} + \beta_2 \cdot \Delta \text{балл замены цифровых символов} + \beta_3 \cdot \Delta HRSD + \beta_4 \cdot \text{скорость ходьбы} + \beta_5 \cdot \text{балл замены цифровых символов} + \beta_6 \cdot HRSD + \beta_7 \cdot \text{возраст} + \beta_8 \cdot \text{пол} + \beta_9 \cdot \text{образование},$$

где β_{1-3} представляющие интерес переменные и β_{4-9} - не представляющие интерес ковариаты. Включение всех представляющих интерес переменных в одну модель обеспечивает большую специфичность эффектов, а также обеспечивает более консервативный тест, который защищает от ложноположительных результатов за счет корректировки степеней свободы в t-тестах коэффициентов регрессии (28). Число вокселей, показывающих существенный эффект, было определено как значимое с помощью метода перестановок, при котором было выполнено 10000 итераций случайных

перестановок представляющих интерес переменных при сохранении не представляющих интерес ковариат постоянными - см. Cassidy et al. для получения дополнительной информации (20). Данный воксельный анализ перестановки корректирует множественные сравнения вокселей и обеспечивает адекватную защиту от ложноположительных результатов, подобно методам, используемым в исследованиях функциональной МРТ (29).

[00603] В исследовательском анализе также исследовали, можно ли обнаружить изменения в CNR НМ-МРТ после 3 недель лечения L-ДОФА (N=6; подмножество из исследования 2). Использовали аналогичный подход к анализу по объему, за исключением того, что в нем использовали непараметрический критерий знакового ранга, сравнивающий значения CNR НМ-МРТ до и после лечения L-ДОФА. Число вокселей, показывающих существенный эффект, было определено как значимое с помощью метода перестановки, в котором нулевое распределение было получено путем 10000 итераций случайного приписывания меток до и после лечения L-ДОФА для каждого субъекта (т.е. 50% вероятность того, что значение CNR НМ-МРТ субъекта до лечения L-ДОФА будет приписано к его значению после лечения L-ДОФА, и их значение после лечения L-ДОФА будет приписано к их значению до лечения L-ДОФА).

[00604] Априорный анализ мощности с использованием величин эффекта, сравнивающих исходную скорость ходьбы и функцию дофамина, измеренную с помощью ПЭТ (19), продемонстрировал 85% мощность для обнаружения эффекта в исходной выборке из 33 субъектов (двусторонний, $P=0,05$), но только 50% мощность в выборке с L-ДОФА из 15 субъектов. Таким образом, анализы в первой выборке (модель 1) были достаточно мощными в качестве априорного теста. Никаких дополнительных поправок не было сделано для априорных и вторичных тестов, учитывая исследовательский статистический характер последних, которые представлены для полноты и описательных целей.

[00605] Для исключения возможной систематической ошибки отбора в подгруппе с последующим наблюдением НМ-МРТ из исследования 2, для сравнения демографических и клинических характеристик между участниками в исследовании 2 использовали критерий хи-квадрат Пирсона или U-критерий Манна-Уитни, которые либо получали последующее наблюдение с использованием НМ-МРТ сканирования после 3 недель лечения L-ДОФА (N=6) и тех, кто не проходил НМ-МРТ сканирование в последующем периоде наблюдения после лечения (N=9).

[00606] **Результаты**

[00607] *Характеристики выборки*

[00608] Клинические и демографические характеристики выборки представлены на фиг. 5; для всех 33 субъектов средний возраст составил $71,8 \pm 6,5$ года, 63,6% были женщинами, средний уровень образования - $16,8 \pm 2,5$ года, средняя скорость ходьбы - $0,97 \pm 0,32$ м/с, средний балл в тесте замены цифровых символов - $36,8 \pm 10,7$, и средний

показатель HRSD - $20,7 \pm 6,6$. Не наблюдали существенных различий между субъектами в исследовании 2 с НМ-MPT сканом в периоде последующего наблюдения и без НМ-MPT скана в периоде последующего наблюдения.

[00609] Исходная скорость ходьбы связана с исходной НМ-MPT

[00610] Не ограничиваясь теорией, исследовали априорную гипотезу, что у субъектов с более медленной обработкой информации и у субъектов с более медленной походкой будет проявляться более низкая дофаминовая функция, измеренная с помощью НМ-MPT у 33 пациентов с LLD (исследование 1+исследование 2). Воксельная модель линейной регрессии (модель 1) спрогнозировала CNR НМ-MPT в маске SN-VTA как функцию скорости ходьбы, балла в тесте замены цифровых символов и HRSD, с ковариатами возраста, пола и образования. Это выявило ряд вокселей SN-VTA, в которых CNR НМ-MPT положительно коррелировал со скоростью ходьбы (346 из 1807 вокселей SN-VTA при $P < 0,05$, надежная линейная регрессия; $P_{\text{корр.}} = 0,038$, тест перестановки; фиг. 7). Напротив, не было значимого влияния на балл в тесте замены цифровых символов (194 из 1807 вокселей SN-VTA при $P < 0,05$; $p_{\text{корр.}} = 0,121$, тест перестановки) или HRSD (19 из 1807 вокселей SN-VTA при $P < 0,05$; $p_{\text{корр.}} = 0,731$), тест перестановки). Топографический анализ взаимосвязи между скоростью ходьбы и CNR НМ-MPT показал, что более сильные взаимосвязи имеют тенденцию возникать в вокселях более медиальных ($\beta|x| = 0,02$, $t_{1803} = 2,40$, $P = 0,016$), передних ($\beta y = 0,14$, $t_{1803} = 25,8$), $P = 10^{-124}$) и дорсальных ($\beta z = -0,05$, $t_{1803} = -6,62$, $P = 10^{-10}$) областях SN-VTA [множественный линейный регрессионный анализ, прогнозирующий t-статистику влияния скорости ходьбы на воксели SN-VTA как функция их координат по направлениям x (абсолютное расстояние от средней линии), y и z: омнибус $F_{3,1803} = 297$, $P = 10^{-155}$].

[00611] Вторичные анализы не показали связи между исходным уровнем НМ-MPT и изменениями скорости психомоторных реакций при лечении L-ДОФА

[00612] Во вторичном анализе исследовали взаимосвязь между исходным НМ-MPT сигналом и изменениями скорости психомоторных реакций после 3 недель лечения L-ДОФА у 15 пациентов с исходными психомоторными оценками и психомоторными оценками после лечения (исследование 2). В качестве более строгого и пространственно ограниченного теста этой связи сначала было определено, существует ли связь между изменениями скорости ходьбы после 3 недель лечения L-ДОФА и средним CNR НМ-MPT в 346 вокселях SN-VTA, которые положительно коррелировали с исходной скоростью ходьбы (зеленые воксели на фиг. 1). В данном случае не было обнаружено какой-либо связи между исходным уровнем CNR НМ-MPT и изменением скорости ходьбы ($t_{1,9} = 0,71$, $P = 0,49$; надежное линейное регрессионное тестирование влияния изменения скорости ходьбы с поправкой на исходную скорость ходьбы, возраст, пол) и образование; фиг. 7). В качестве более мягкого тестирования гипотезы выполняли воксельный анализ, в котором для каждого субъекта исследовали взаимосвязь между изменениями скорости ходьбы и замены цифровых символов после лечения L-ДОФА с исходным уровнем CNR НМ-MPT в пределах SN-VTA маски в каждом вокселе (модель 2). Вновь, не было обнаружено какой-

либо связи между исходным уровнем CNR HM-MPT и изменением скорости ходьбы (64 из 1807 вокселей SN-VTA при $P < 0,05$, надежное линейное регрессионное тестирование для эффектов изменения скорости ходьбы, изменения в балле замены цифровых символов, и изменение в HRSD с поправкой на исходную скорость ходьбы, исходную оценку замены цифровых символов, исходный возраст HRSD, пол и образование; $P_{\text{корр.}}=0,377$, тест перестановки), изменение оценки замены цифровых символов (69 из 1807 вокселей SN-VTA при $P < 0,05$, $P_{\text{корр.}}=0,361$, тест перестановки) или изменение HRSD (67 из 1807 вокселей SN-VTA при $P < 0,05$, $P_{\text{корр.}}=0,371$, тест перестановки).

[00613] Увеличение CNR HM-MPT в SN-VTA при лечении L-ДОФА

[00614] В исследовательском анализе также исследовали, изменился ли HM-MPT сигнал после 3 недель лечения L-ДОФА у 6 пациентов с доступными исходными данными MPT и данными MPT после лечения (подмножество исследования 2). С этой целью был выполнен непараметрический воксельный анализ, в котором для каждого субъекта тестировалась разница в CNR HM-MPT на исходном уровне и после лечения в пределах маски SN-VTA в каждом вокселе. Это выявило ряд вокселей SN-VTA, в которых CNR HM-MPT был существенно выше при сканировании после лечения (200 из 1807 вокселей SN-VTA при $P < 0,05$, знаковый ранговый критерий для различия CNR HM-MPT на исходном уровне и после лечения; $P_{\text{корр.}}=0,046$, тест перестановки; фиг. 8).

[00615] Обсуждение

[00616] В качестве диагностического биомаркера симптомов БП: определение симптомов моторного расстройства и прогнозирование тяжести текущих симптомов

[00617] HM-MPT на основе воксельного анализа включает воксели, используемые для определения концентрации нейромеланина, воксели, используемые для определения объемов нейромеланина, и некоторые воксели, связанные с конкретными симптомами (называемые специфичными для симптомов вокселями, и в данном случае это воксели симптомов моторного расстройства, например, воксели психомоторной заторможенности). Было показано, что симптом психомоторной заторможенности возникает при болезни Паркинсона, и способ на основе воксельного анализа может функционировать в качестве диагностического биомаркера, а также определять тяжесть специфических симптомов.

[00618] При болезни Паркинсона (БП) скорость ходьбы значительно снижается (Peterson et al. 2020). Во-первых, была исследована взаимосвязь между данными HM-MPT и скоростью психомоторных реакций у пожилых людей с депрессией в пожилом возрасте (LLD), и было обнаружено, что более низкий HM-MPT сигнал в медиальной, передней и дорсальной частях комплекса SN-VTA, определяемый способом на основе воксельного анализа, был связан с более медленной скоростью ходьбы. Это свидетельствует о том, что как наличие, так и тяжесть ключевого моторного симптома при БП (в данном примере психомоторной заторможенности) можно прогнозировать с помощью воксельного анализа данных нейромеланин-MPT, обеспечивающего неинвазивный метод определения важной информации, которая может помочь в лечении этих симптомов.

[00619] Обнаружение того, что более низкая функция дофамина, показанная более низким НМ-МРТ сигналом, связана с более медленной скоростью ходьбы, согласуется с априорными гипотезами, основанными на предшествующей литературе. Например, недавние исследования выявили взаимосвязь между генетическим полиморфизмом катехол-О-метилтрансферазы (COMT, rs4680, которая регулирует тонический дофамин) и скоростью ходьбы (30, 31). Кроме того, у пожилых пациентов с болезнью церебральных мелких сосудов ухудшение ходьбы связывают со снижением уровня дофамина в полосатом теле. В более общем плане была предложена сильная теоретическая основа, свидетельствующая о дофаминовой функции дорсальных базальных ганглиев в возрастной моторной дисфункции, что подтверждает необходимость в дофаминергических биомаркерах в этой области.

[00620] Эти данные показывают, что на основе исходных данных НМ-МРТ можно прогнозировать симптом психомоторной скорости. Поскольку нейромеланин при БП снижается, а замедление ходьбы является отличительным признаком, то этот способ анализа способен обеспечивать прогноз специфических симптомов БП с помощью специфических вокселей. Прогнозирование различных симптомов с использованием НМ-МРТ может обеспечить неинвазивный путь постановки диагноза болезни Паркинсона и дифференциации от близких расстройств с различными моторными симптомами.

[00621] Вывод о том, что функция дофамина, показанная по НМ-МРТ сигналу, была связана с незначительной тенденцией с баллами теста замены цифровых символов, был ограничен небольшим размером выборки (N=33), что ограничивает способность определять значимую связь между баллами теста замены цифровых символов и функции дофамина, и для решения этой проблемы необходимы исследования с более крупными выборками. Дофамин теоретически связан со скоростью обработки, но эмпирические данные, связывающие измерения сигналов дофамина, основанные на нейровизуализации, с эффективностью при выполнении задач на скорость обработки, неоднозначны. Результаты самого крупного исследования на сегодняшний день (N=181 здоровый взрослый субъект) не показали существенной корреляции между связыванием раклоприда в полосатом теле с D2-рецептором при ПЭТ и скоростью обработки; хотя в более мелких исследованиях наблюдали небольшую, но существенную связь между скоростью обработки информации и функцией дофамина. Авторам изобретения не известно о каких-либо исследованиях, демонстрирующих существенную корреляцию между передачей сигналов дофамина и баллами теста замены цифровых символов. Таким образом, хотя моторные требования теста замены цифровых символов и зависимость от скорости теоретически предполагают связь с функцией дофамина, здесь ситуация может быть более сложной. Кроме того, хотя моторная скорость и внимание нарушены как у пожилых субъектов, так и у субъектов с депрессией, эти нарушения часто малозаметны и не обнаруживаются с помощью теста замены цифровых символов; и механизмы их нарушения в этих клинических популяциях могут не быть дофаминергическими.

[00622] В качестве диагностического биомаркера для диагностики БП и

исключения близких расстройств.

[00623] Данные подтверждают способность способа на основе воксельного анализа дифференцировать LLD от болезни Паркинсона на основе НМ-МРТ. Например, результаты топографического анализа взаимосвязи между скоростью ходьбы и сигналом НМ-МРТ показали, что более тесная взаимосвязь имела место в медиальной, передней и дорсальной областях SN-VTA. В противоположность, данные НМ-МРТ показали, что большее снижение сигнала при БП имеет тенденцию преобладать в более латеральных, задних и вентральных вокселях. Кроме того, гистопатологические исследования также показали, что потеря нейронов, связанная с БП, происходит в основном в вентролатеральной области ЧС, и недавние исследования визуализации свободной воды выявили аналогичные пространственные рисунки. В недавнем исследовании НМ-МРТ для анализа использовали интенсивности сигнала ЧС при двух моторных подтипах БП, где пациенты классифицировались как субъекты с постуральной нестабильностью, преобладанием затруднения ходьбы или преобладанием тремора, с включением контрольной группы. Существенное ослабление сигнала было обнаружено в латеральной области ЧС при обоих подтипах БП по сравнению с контролем, а также сильное ослабление сигнала наблюдали в медиальной области ЧС при постуральной нестабильности, у пациентов с преобладанием затруднения ходьбы по сравнению с группой с преобладанием тремора (52). В совокупности топологические данные, в дополнение к тому факту, что субъекты с заторможенностью, депрессией обычно не проявляют клинических стигматов БП (например, «зубчатое колесо», замирание, тремор и т. д.), подтверждают, что выборка пациентов с LLD, вероятно, не является образцом субклинических пациентов с болезнью Паркинсона и поддерживают способность описанного здесь способа анализа на основе вокселей различать двигательные расстройства, которые имеют сходную симптоматику.

[00624] Способ на основе воксельного анализа способен дифференцировать БП и близкие моторные расстройства. В исследовании авторов изобретения способ на основе воксельного анализа позволил определить ключевые различия между подобластями SNc, на которые оказывает влияние депрессия в пожилом возрасте (LLD), и областями, которые, как известно, подвержены влиянию БП. В то время как при LLD, так и при БД имеет место психомоторная заторможенность, способ на основе воксельного анализа позволил определить, что подобласти SNc, на которые влияет LLD, отличаются от тех, о которых известно, что на них оказывает влияние патология при БД. Способ на основе воксельного анализа позволил определить, что пациенты с LLD не страдают болезнью Паркинсона. Это дает убедительные доказательства того, что способ на основе воксельного анализа может дифференцировать различные моторные расстройства, которые, как было показано, имеют перекрывающиеся симптомы. Способ можно использовать для помощи в диагностике БП и исключении близких расстройств с похожей клинической картиной.

[00625] Способ на основе воксельного анализа исходных вокселей, связанных с

симптомами НМ-МРТ, может прогнозировать будущую реакцию на лечение и обеспечивать важный прогностический биомаркер для БП.

[00626] При вторичном анализе меньшей выборки субъектов, подвергшихся лечению L-ДОФА, наблюдали незначительную тенденцию к наличию положительной связи между исходной НМ-МРТ и изменениями скорости психомоторных реакций после лечения. Хотя данные авторов изобретения не достигли статистической значимости, поскольку они имели заниженную статистическую возможность, но ожидается, что они достигнут значимости в более крупном исследовании.

[00627] Результаты данного анализа дают основание предположить, что отдельные исходные воксели НМ-МРТ, которые воксельный анализ определяет как связанные с симптомом моторного расстройства, способны прогнозировать будущий ответ на лечение этого симптома до начала лечения. Это обеспечит важную прогностическую информацию, которая может прогнозировать течение заболевания и направить выбор соответствующего лечения. Поскольку психомоторная заторможенность является отличительным симптомом при болезни Паркинсона, а лечение L-ДОФА является одним из наиболее эффективных и широко используемых методов лечения БП, то настоящее открытие напрямую поддерживает применение способа на основе воксельного анализа для прогнозирования ответной реакции на лечение моторных симптомов болезни Паркинсона, включая психомоторную заторможенность.

[00628] Мониторинг ответа на лечение

[00629] Кроме того, было отмечено, что 3-недельное лечение L-ДОФА, одно из наиболее широко используемых методов лечения БП, было связано с существенным повышением НМ-МРТ сигнала. К настоящему времени это первое свидетельство того, что проведение терапии L-ДОФА вызывает изменения в черной субстанции, которые можно измерить с помощью НМ-МРТ на основе воксельного анализа. Это было подтверждено результатами предыдущей работы, которые показывают, что НМ-МРТ регистрирует концентрацию НМ в образцах ткани *вне организма* и что она коррелирует с повышенной передачей дофамина, что согласуется с выводом о том, что усиление синтеза дофамина приводит к увеличению накопления НМ.

[00630] Это поддерживает способность способа на основе воксельного анализа отслеживать изменения в данных НМ-МРТ в ходе терапии. Это обеспечивает неинвазивный метод отслеживания реакции на терапию и определения адекватной или неадекватной реакции пациента на терапию. Данную информацию можно использовать для направления терапией и определения необходимости увеличения или уменьшения дозировки терапии. В этом случае у пациента с болезнью Паркинсона воксели болезни Паркинсона должны реагировать на лечение L-ДОФА. Например, введение L-ДОФА пациенту с установленными вокселями болезни Паркинсона должно вызывать изменение вокселей болезни Паркинсона по сравнению с:

- исходным показанием вокселя болезни Паркинсона пациента,
- показанием нелеченого пациента с аналогичными вокселями болезни

Паркинсона,

- и относительно стандартного контроля

[00631] Изменение вокселей болезни Паркинсона может указывать на адекватное лечение пациента. Данный способ можно использовать для терапевтических средств, отличных от L-ДОФА.

[00632] Применение способа на основе воксельного анализа для обнаружения различий между пациентами, которые можно использовать для прогнозирования различных ответов на лечение, уникальных для каждого пациента

[00633] В исследовательском анализе наблюдали существенное увеличение сигнала НМ-МРТ после лечения L-ДОФА, что подтверждает мнение о том, что лечение L-ДОФА, вероятно, увеличивает доступный дофамин полосатого тела, но что участники по-разному реагируют на это увеличение. Это важно, потому что показывает, что способ на основе воксельного анализа может обнаруживать различия в ответной реакции на лечение, специфичные для каждого пациента. Маловероятно, что наблюдаемые изменения связаны с естественным накоплением НМ во времени, поскольку этот возрастной процесс происходит очень медленно и должен обнаруживаться только в течение значительно более длительного периода времени, чем оцениваемый здесь 3-недельный период. Кроме того, хотя размер выборки является ограниченным (N=6), высокая воспроизводимость НМ-МРТ предполагает, что любое наблюдаемое увеличение НМ-МРТ сигнала действительно связано с увеличением концентрации НМ. Данный результат обеспечивает дополнительное доказательство того, что НМ-МРТ измеряет функцию дофамина, включая его синтез, индуцированный L-ДОФА. Этот результат также свидетельствует о том, что НМ-МРТ может быть неожиданно чувствительна к изменениям в ЧС в более короткие промежутки времени, чем считалось ранее. Это открытие предполагает, что НМ-МРТ может хорошо подходить для мониторинга дофаминергической реакции на лечение у пациентов с болезнью Паркинсона или близкими расстройствами.

[00634] В заключение, у пациентов с LLD была обнаружена связь между НМ-МРТ сигналом в SN-VTA и исходной скоростью ходьбы, а также тренд изменения сигнала с изменениями скорости ходьбы или скорости обработки после 3 недель лечения L-ДОФА.

[00635] Ссылки для примера 4

[00636] Peterson D.S., Mancini M., Fino P.C., Horak F., Smulders K. (2020) Speeding Up Gait in Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 10: 245-253.

[00637] Friedhoff A.J., Ballenger J., Bellack A.S., Carpenter W.T., Jr Chui H.C., Dobrof R. et al. Diagnosis and Treatment of Depression in Late Life. *JAMA*, 1992;268(8):1018-24.

[00638] Rothschild A.J. The diagnosis and treatment of late-life depression. *The Journal of clinical psychiatry*, 1996;57:5-11.

[00639] Alexopoulos G.S., Meyers B.S., Young R.C., Kakuma T., Feder M., Einhorn A. et al. Recovery in geriatric depression. *Archives of General Psychiatry*, 1996;53(4):305-12.

[00640] Sneed J.R., Rutherford B.R., Rindskopf D., Lane D.T., Sackeim H.A., Roose S.P. Design makes a difference: a meta-analysis of antidepressant response rates in placebo-

controlled versus comparator trials in late-life depression. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 2008;16(1):65-73.

[00641] Sheline Y.I., Barch D.M., Garcia K., Gersing K., Pieper C., Welsh-Bohmer K. et al. Cognitive function in late life depression: relationships to depression severity, cerebrovascular risk factors and processing speed. *Biological psychiatry*, 2006;60(1):58-65.

[00642] Brown P.J., Roose S.P., Zhang J., Wall M., Rutherford B.R., Ayonayon H.N. et al. Inflammation, depression, and slow gait: a high mortality phenotype in later life. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 2016;71(2):221-7.

[00643] Rutherford B.R., Taylor W.D., Brown P.J., Sneed J.R., Roose S.P. Biological aging and the future of geriatric psychiatry. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 2017;72(3):343-52.

[00644] Pimontel M.A., Culang- Reinlieb M.E., Morimoto S.S., Sneed J.R. Executive dysfunction and treatment response in late- life depression. *International journal of geriatric psychiatry*, 2012;27(9):893-9.

[00645] Kerse N., Flicker L., Pfaff J.J., Draper B., Lautenschlager N.T., Sim M. et al. Falls, depression and antidepressants in later life: a large primary care appraisal. *PLoS One*, 2008;3(6).

[00646] Wolinsky F.D., Callahan C.M., Fitzgerald J.F., Johnson R.J. Changes in functional status and the risks of subsequent nursing home placement and death. *Journal of gerontology*, 1993;48(3):S94-101.

[00647] Rutherford B.R., Slifstein M., Chen C., Abi-Dargham A., Brown P.J., Wall M.W. et al. Effects of L-DOPA Monotherapy on Psychomotor Speed and [11C] Raclopride Binding in High-Risk Older Adults With Depression. *Biological psychiatry*, 2019;86(3):221-9.

[00648] Rapp M.A., Reischies F.M. Attention and executive control predict Alzheimer disease in late life: results from the Berlin Aging Study (BASE). *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 2005;13(2):134-41.

[00649] Verghese J., Holtzer R., Lipton R.B., Wang C. Quantitative gait markers and incident fall risk in older adults. *The Journals of Gerontology: Series A*, 2009;64(8):896-901.

[00650] Guralnik J.M., Ferrucci L., Pieper C.F., Leveille S.G., Markides K.S., Ostir G.V. et al. Lower extremity function and subsequent disability: consistency across studies, predictive models, and value of gait speed alone compared with the short physical performance battery. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 2000;55(4):M221-M31.

[00651] Bäckman L., Nyberg L., Lindenberger U., Li S.-C., Farde L. The correlative triad among aging, dopamine, and cognition: current status and future prospects. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2006;30(6):791-807.

[00652] Volkow N.D., Gur R.C., Wang G.-J., Fowler J.S., Moberg P.J., Ding Y.-S. et al. Association between decline in brain dopamine activity with age and cognitive and motor impairment in healthy individuals. *Am. J. Psychiat.*, 1998;155(3):344-9.

[00653] Kaasinen V., Vilkinen H., Hietala J., Någren K., Helenius H., Olsson H. et al.

Age-related dopamine D2/D3 receptor loss in extrastriatal regions of the human brain. *Neurobiology of aging*, 2000;21(5):683-8.

[00654] Eckart C., Bunzeck N. Dopamine modulates processing speed in the human mesolimbic system. *Neuroimage*, 2013;66:293-300.

[00655] Cham R., Studenski S., Perera S., Bohnen N. Striatal dopaminergic denervation and gait in healthy adults. *Experimental brain research*, 2008;185(3):391-8.

[00656] Cassidy C.M., Zucca F.A., Girgis R.R., Baker S.C., Weinstein J.J., Sharp M.E. et al. Neuromelanin-sensitive MRI as a noninvasive proxy measure of dopamine function in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019;116(11):5108-17.

[00657] Chen X., Huddleston D.E., Langley J., Ahn S., Barnum C.J., Factor S.A. et al. Simultaneous imaging of locus coeruleus and substantia nigra with a quantitative neuromelanin MRI approach. *Magnetic resonance imaging*, 2014;32(10):1301-6.

[00658] Zucca F.A., Basso E., Cupaioli F.A., Ferrari E., Sulzer D., Casella L. et al. Neuromelanin of the human substantia nigra: an update. *Neurotoxicity research*, 2014;25(1):13-23.

[00659] Zecca L., Shima T., Stroppolo A., Goj C., Battiston G., Gerbasi R. et al. Interaction of neuromelanin and iron in substantia nigra and other areas of human brain. *Neuroscience*, 1996;73(2):407-15.

[00660] Zecca L., Bellei C., Costi P., Albertini A., Monzani E., Casella L. et al. New melanic pigments in the human brain that accumulate in aging and block environmental toxic metals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008;105(45):17567-72.

[00661] Sulzer D., Zecca L. Intraneuronal dopamine-quinone synthesis: a review. *Neurotoxicity research*, 1999;1(3):181-95.

[00662] Wechsler D. The Wechsler Memory Scale, San Antonio, Tex, Psychological Corp. Harcourt; 1997.

[00663] Wengler K., He X., Abi-Dargham A., Horga G. Reproducibility assessment of neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging protocols for region-of-interest and voxelwise analyses. *NeuroImage*, 2020;208:116457.

[00664] Slinker B.K., Glantz S.A. Multiple linear regression: accounting for multiple simultaneous determinants of a continuous dependent variable. *Circulation*, 2008;117(13):1732-7.

[00665] Eklund A., Nichols T.E., Knutsson H. Cluster failure: Why fMRI inferences for spatial extent have inflated false-positive rates. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2016;113(28):7900-5.

[00666] Hupfeld K.E., Vaillancourt D.E., Seidler R.D. Genetic markers of dopaminergic transmission predict performance for older males but not females. *Neurobiology of aging*, 2018;66:180. e11-. e21.

[00667] Rosano C., Metti A.L., Rosso A.L., Studenski S., Bohnen N.I. Influence of Striatal Dopamine, Cerebral Small Vessel Disease, and Other Risk Factors on Age-Related Parkinsonian Motor Signs. *The Journals of Gerontology: Series A*, 2019;75(4):696-701.

- [00668] Rosso A.L., Bohnen N.I., Launer L.J., Aizenstein H.J., Yaffe K., Rosano C. Vascular and dopaminergic contributors to mild parkinsonian signs in older adults. *Neurology*, 2018;90(3):e223-e9.
- [00669] Clark B.C., Woods A.J., Clark L.A., Criss C.R., Shadmehr R., Grooms D.R. The Aging Brain & the Dorsal Basal Ganglia: Implications for Age-Related Limitations of Mobility. *Advances in Geriatric Medicine and Research*, 2019;1(2):e190008.
- [00670] Salthouse T.A. Aging and measures of processing speed. *Biological psychology*, 2000;54(1-3):35-54.
- [00671] Nyberg L., Karalija N., Salami A., Andersson M., Wåhlin A., Kaboovand N. et al. Dopamine D2 receptor availability is linked to hippocampal-caudate functional connectivity and episodic memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016;113(28):7918-23.
- [00672] Vriend C., van Balkom T.D., van Druningen C., Klein M., van der Werf Y.D., Berendse H.W. et al. Processing speed is related to striatal dopamine transporter availability in Parkinson's disease. *NeuroImage: Clinical.*, 2020:102257.
- [00673] Jaeger J. Digit symbol substitution test: the case for sensitivity over specificity in neuropsychological testing. *Journal of clinical psychopharmacology*, 2018;38(5):513.
- [00674] Seidler R.D., Bernard J.A., Burutolu T.B., Fling B.W., Gordon M.T., Gwin J.T. et al. Motor control and aging: links to age-related brain structural, functional, and biochemical effects. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2010;34(5):721-33.
- [00675] Corti E.J., Johnson A.R., Riddle H., Gasson N., Kane R., Loftus A.M. The relationship between executive function and fine motor control in young and older adults. *Human movement science*, 2017;51:41-50.
- [00676] LeMoult J., Gotlib I.H. Depression: A cognitive perspective. *Clinical Psychology Review*, 2019;69:51-66.
- [00677] Li C.-T., Lin C.-P., Chou K.-H., Chen I.-Y., Hsieh J.-C., Wu C.-L. et al. Structural and cognitive deficits in remitting and non-remitting recurrent depression: a voxel-based morphometric study. *Neuroimage*, 2010;50(1):347-56.
- [00678] Yaroslavsky I., Allard E.S., Sanchez-Lopez A. Can't look away: Attention control deficits predict rumination, depression symptoms and depressive affect in daily life. *Journal of Affective Disorders*, 2019;245:1061-9.
- [00679] Shura R.D., Rowland J.A., Martindale S.L., Brearly T.W., Delahanty M.B., Miskey H.M. Evaluating the motor slowing hypothesis of depression. *Psychiatry research*, 2017;252:188-95.
- [00680] Zecca L., Fariello R., Riederer P., Sulzer D., Gatti A., Tampellini D. The absolute concentration of nigral neuromelanin, assayed by a new sensitive method, increases throughout the life and is dramatically decreased in Parkinson's disease. *FEBS letters*, 2002;510(3):216-20.
- [00681] Tison F., Mons N., Geffard M., Henry P. The metabolism of exogenous L-dopa in the brain: an immunohistochemical study of its conversion to dopamine in non-catecholaminergic cells of the rat brain. *Journal of neural transmission-Parkinson's disease and*

dementia section, 1991;3(1):27-39.

[00682] Matsuura K., Maeda M., Tabei K.-i., Umino M., Kajikawa H., Satoh M. et al. A longitudinal study of neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging in Parkinson's disease. *Neuroscience letters*, 2016;633:112-7.

[00683] Sulzer D., Cassidy C., Horga G., Kang U.J., Fahn S., Casella L. et al. Neuromelanin detection by magnetic resonance imaging (MRI) and its promise as a biomarker for Parkinson's disease. *NPJ Parkinson's disease*, 2018;4(1):11.

[00684] Damier P., Hirsch E., Agid Y., Graybiel A. The substantia nigra of the human brain: II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. *Brain*, 1999;122(8):1437-48.

[00685] Fearnley J.M., Lees A.J. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain*, 1991;114(5):2283-301.

[00686] Ofori E., Pasternak O., Planetta P.J., Burciu R., Snyder A., Febo M. et al. Increased free water in the substantia nigra of Parkinson's disease: a single-site and multi-site study. *Neurobiology of aging*, 2015;36(2):1097-104.

[00687] Planetta PJ, Ofori E, Pasternak O, Burciu RG, Shukla P, DeSimone JC, et al. Free-water imaging in Parkinson's disease and atypical parkinsonism. *Brain*. 2016;139(2):495-508.

[00688] Xiang Y., Gong T., Wu J., Li J., Chen Y., Wang Y. et al. Subtypes evaluation of motor dysfunction in Parkinson's disease using neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging. *Neuroscience letters*, 2017;638:145-50.

[00689] Sulzer D., Bogulavsky J., Larsen K.E., Behr G., Karatekin E., Kleinman M.H. et al. Neuromelanin biosynthesis is driven by excess cytosolic catecholamines not accumulated by synaptic vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000;97(22):11869-74.

[00690] Cebrián C., Zucca F.A., Mauri P., Steinbeck J.A., Studer L., Scherzer C.R. et al. MHC-I expression renders catecholaminergic neurons susceptible to T-cell-mediated degeneration. *Nature communications*, 2014;5:3633.

[00691] Zucca F.A., Segura-Aguilar J., Ferrari E., Muñoz P., Paris I., Sulzer D. et al. Interactions of iron, dopamine and neuromelanin pathways in brain aging and Parkinson's disease. *Progress in neurobiology*, 2017;155:96-119.

[00692] Zecca L., Casella L., Albertini A., Bellei C., Zucca F.A., Engelen M. et al. Neuromelanin can protect against iron-mediated oxidative damage in system modeling iron overload of brain aging and Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry*, 2008;106(4):1866-75.

[00693] Zecca L., Wilms H., Geick S., Claasen J.-H., Brandenburg L.-O., Holzknecht C. et al. Human neuromelanin induces neuroinflammation and neurodegeneration in the rat substantia nigra: implications for Parkinson's disease. *Acta neuropathological*, 2008;116(1):47-55.

[00694] Rutherford B.R., Wall M.M., Brown P.J., Choo T.-H., Wager T.D., Peterson B.S. et al. Patient expectancy as a mediator of placebo effects in antidepressant clinical trials.

Am. J. Psychiat., 2017;174(2):135-42.

[00695] Компьютерный анализ

[00696] Примерные процедуры в соответствии с раскрытием, описанным здесь, могут выполняться с помощью облачной системы обработки и/или компьютерной системы (например, компьютерного аппаратного обеспечения). Такое обрабатывающее/компьютерное обеспечение может быть, например, полным или частью, или включать, не ограничиваясь этим, компьютер/процессор, который может включать, например, один или более микропроцессоров и использовать инструкции, хранящиеся на доступном компьютеру носителе (например, RAM, ROM, жесткий диск или другое запоминающее устройство).

[00697] Например, доступный компьютеру носитель (например, как описанный здесь выше, запоминающее устройство, такое как кодированный облачный файл, жесткий диск, гибкий диск, карта памяти, компакт-диск, CD-ROM, RAM, ROM и т. д., или их коллекция) может быть обеспечен (например, в связи с обрабатывающим устройством). Доступный компьютеру носитель может содержать исполняемые им инструкции. В дополнение или в качестве альтернативы запоминающее устройство может находиться отдельно от доступного компьютеру носителя, которое может выдавать инструкции обрабатывающему устройству, так чтобы конфигурировать обрабатывающее устройства для исполнения, например, определенных примерных процедур, процессов и способов, описанных выше в настоящем документе.

[00698] Кроме того, примерное обрабатывающее устройство может быть снабжено или включать в себя порты ввода/вывода, которые могут включать в себя, например, проводную сеть, беспроводную сеть, Интернет, интранет, датчик сбора данных, сенсор и т. д. Примерное обрабатывающее устройство может быть связано с примерным устройством отображения, которое, согласно некоторым примерным вариантам осуществления настоящего изобретения, может представлять собой сенсорный экран, выполненный с возможностью ввода информации в обрабатывающее устройство в дополнение к выводу обработанной информации из обрабатывающего устройства, например. Кроме того, примерное устройство отображения и/или запоминающее устройство могут использоваться для отображения и/или сохранения данных в доступном для пользователя формате и/или в читаемом пользователем формате.

Эквиваленты

[00699] Изложенное выше просто иллюстрирует принципы изобретения. Различные модификации и изменения описанных вариантов осуществления будут очевидны специалистам в области техники с учетом изложенных здесь идей. Таким образом, будет понятно, что специалисты в области техники смогут разработать многочисленные системы, устройства и процедуры, которые, хотя, и не показаны и не описаны здесь явно, воплощают принципы изобретения и, таким образом, могут находиться в пределах сущности и объема настоящего изобретения. Многочисленные различные примерные варианты осуществления могут использоваться вместе друг с

другом, а также взаимозаменяемо друг с другом, как должно быть понятно специалистам в данной области техники. Кроме того, некоторые термины, используемые здесь, включая описание, фигуры и формулу изобретения, могут использоваться как синонимы в определенных случаях, включая, не ограничиваясь этим, например, данные и информацию. Следует понимать, что хотя эти слова и/или другие слова, которые могут быть синонимами друг друга, могут использоваться здесь как синонимы, могут быть случаи, когда такие слова могут не использоваться как синонимы. Кроме того, в той степени, в которой знания предшествующего уровня техники не были явно включены здесь посредством ссылки выше, они явно включаются здесь во всей своей полноте. Все упомянутые публикации полностью включены здесь посредством ссылки.

[00700] Там, где приведен диапазон значений, подразумевается, что каждое промежуточное значение с точностью до десятой доли единицы нижнего предела (если контекст явно не указывает иное), между верхним и нижним пределом этого диапазона и любое другое заявленное или промежуточное значение в указанном диапазоне охватывается раскрытием. Верхний и нижний пределы этих меньших диапазонов могут независимо включаться в меньшие диапазоны, и также охватываются раскрытием, с учетом любого специально исключенного предела в указанном диапазоне. В тех случаях, когда указанный диапазон включает один или оба предела, то в раскрытие также включаются диапазоны, исключающие один или оба указанных предела.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ определения *в организме* прогрессирования болезни Паркинсона во времени у субъекта, включающий:

(i) получение первого скана нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) в первой временной точке;

(ii) после этапа (i) получение второго скана НМ-МРТ во второй временной точке;

(iii) сравнение первого скана нейромеланин-магнитно-резонансной томографии с упомянутым вторым сканом нейромеланин-магнитно-резонансной томографии, тем самым определяя, произошло ли изменение уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина между упомянутой первой временной точкой и упомянутой второй временной точкой.

2. Способ по п.1, причем, если изменение уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина во второй временной точке более чем примерно на 1%, более чем примерно на 2%, более чем примерно на 3%, более чем примерно на 4%, более чем примерно на 5%, более чем примерно на 6%, более чем примерно на 7%, более чем примерно на 8%, более чем примерно на 9%, более чем примерно на 10%, более чем примерно на 11%, более чем примерно на 12%, более чем примерно на 13%, более чем примерно на 14%, более чем примерно на 15%, более чем примерно на 20% или более чем примерно на 25% ниже, чем уровень, сигнал и/или концентрация нейромеланина в первой временной точке, то болезнь Паркинсона прогрессирует.

3. Способ диагностики *в организме* болезни Паркинсона, включающий:

(i) получение первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения в первой временной точке;

(ii) после этапа (i) получение второго нейромеланин-магнитно-резонансного изображения во второй временной точке;

(iii) сравнение первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения с упомянутым вторым нейромеланин-магнитно-резонансным изображением, тем самым определяя, произошло ли изменение уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина между упомянутой первой временной точкой и упомянутой второй временной точкой.

4. Способ по любому из предшествующих пунктов, причем, если изменение уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина во второй временной точке более чем примерно на 1%, более чем примерно на 2%, более чем примерно на 3%, более чем примерно на 4%, более чем примерно на 5%, более чем примерно на 6%, более чем примерно на 7%, более чем примерно на 8%, более чем примерно на 9%, более чем примерно на 10%, более чем примерно на 11%, более чем примерно на 12%, более чем примерно на 13%, более чем примерно на 14%, более чем примерно на 15%, более чем примерно на 20% или более чем примерно на 25% ниже, чем уровень, сигнал и/или концентрация нейромеланина в первой временной точке, то ставят диагноз болезни Паркинсона.

5. Способ диагностики пациента с болезнью Паркинсона, включающий:

- (i) измерение уровня нейромеланина,
- (ii) сравнение уровня нейромеланина со стандартным контролем,
- (iii) необязательно, постановку диагноза болезни Паркинсона, если измеренный уровень нейромеланина ниже по сравнению со стандартным контролем.

6. Способ по любому предшествующему пункту, дополнительно включающий определение интенсивности первого сигнала из упомянутого первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения и определение интенсивности второго сигнала из упомянутого второго нейромеланин-магнитно-резонансного изображения, причем упомянутое сравнение первого нейромеланин-магнитно-резонансного изображения с упомянутым вторым нейромеланин-магнитно-резонансным изображением включает сравнение интенсивности первого сигнала с интенсивностью второго сигнала.

7. Способ по любому из предшествующих пунктов, причем стандартный контроль представляет собой уровень нейромеланина, присутствующий приблизительно на одинаковых уровнях в популяции субъектов, или упомянутый стандартный контроль представляет собой приблизительно средний уровень нейромеланина, присутствующий в популяции субъектов.

8. Способ по любому предшествующему пункту, причем для измерения уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина используют фантом градиента нейромеланина.

9. Способ по любому предшествующему пункту, причем фантом градиента концентрации нейромеланина сканируют примерно один раз на пациента, примерно раз в час, примерно раз в сутки, примерно раз в неделю или примерно раз в месяц.

10. Способ по любому из предшествующих пунктов, причем фантом градиента нейромеланина сканируют ежедневно.

11. Способ по любому предшествующему пункту, причем фантом градиента нейромеланина сканируют у каждого пациента.

12. Способ по пп.5-11, причем, если изменение уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина во второй временной точке более чем примерно на 5% ниже или более чем примерно на 10% ниже, чем уровень, сигнал и/или концентрация нейромеланина в первой временной точке, причем первая временная точка и вторая временная точка разнесены на примерно 1 год, примерно 2 года, примерно 3 года, примерно 4 года, примерно 5 лет, примерно 6 лет, примерно 7 лет, примерно 8 лет, примерно 9 лет или примерно 10 лет, то ставят диагноз болезни Паркинсона.

13. Способ по любому предшествующему пункту, причем, если изменение уровня, сигнала и/или концентрации нейромеланина во второй временной точке более чем примерно на 35% ниже, более чем примерно на 40% ниже, более чем примерно на 45% ниже или более чем примерно на 50% ниже сигнала и/или концентрации нейромеланина в первой временной точке, причем первая временная точка и вторая временная точка разнесены на примерно 1 год, примерно 2 года, примерно 3 года, примерно 4 года, примерно 5 лет, примерно 6 лет, примерно 7 лет, примерно 8 лет, примерно 9 лет или

примерно 10 лет, то ставят диагноз болезни Паркинсона.

14. Способ по любому предшествующему пункту, причем вторая временная точка находится спустя примерно 3 месяца, примерно 6 месяцев, примерно 9 месяцев, примерно 12 месяцев, примерно 2 года, примерно 3 года, примерно 4 года, примерно 5 лет, примерно 6 лет, примерно 7 лет, примерно 8 лет, примерно 9 лет, примерно 10 лет, примерно 15 лет, примерно 20 лет, примерно 25 лет или примерно 30 лет после первой временной точки.

15. Способ оценки концентрации нейромеланина в представляющей интерес области головного мозга субъекта, включающий:

выполнение скана нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) субъекта;

получение набора данных по нейромеланину из скана НМ-МРТ;

необязательно, кодирование набора данных по нейромеланину;

загрузку набора данных по нейромеланину на удаленный сервер;

необязательно, декодирование набора данных;

выполнение анализа набора данных по нейромеланину, причем анализ включает одно или более из:

(i) сравнения набора данных по нейромеланину с одним или более заранее полученными наборами данных по нейромеланину от упомянутого субъекта;

(ii) сравнения набора данных по нейромеланину с контрольным набором данных;

(iii) сравнения набора данных по нейромеланину с одним или более заранее полученными наборами данных по нейромеланину от других субъектов;

генерирование отчета, содержащего анализ нейромеланина;

необязательно, кодирование отчета;

загрузку отчета на удаленный сервер; и

необязательно, декодирование отчета.

16. Способ определения того, имеет ли субъект болезнь Паркинсона или подвержен ли он риску ее развития, включающий анализ одного или более сканов нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-МРТ) представляющей интерес области головного мозга субъекта, причем анализ включает:

прием информации о визуализации представляющей интерес области головного мозга; и

определение концентрации НМ в представляющей интерес области головного мозга с использованием воксельного анализа на основе информации о визуализации;

причем определение того, имеет ли субъект болезнь Паркинсона или подвержен ли он риску ее развития, включает:

(1) если один или более сканов НМ-МРТ имеют сниженный сигнал НМ по сравнению с одним или более контрольными сканами без болезни Паркинсона, то субъект имеет или подвержен риску развития болезни Паркинсона; или

(2) если один или более сканов НМ-MPT имеют сигнал НМ, сравнимый с сигналом одного или более контрольных сканов без болезни Паркинсона, то субъект не имеет или не подвержен риску развития болезни Паркинсона.

17. Способ лечения субъекта с болезнью Паркинсона, включающий анализ сканов нейромеланин-магнитно-резонансной томографии (НМ-MPT) представляющей интерес области головного мозга субъекта, причем анализ включает:

(i) прием информации о визуализации представляющей интерес области головного мозга в первой временной точке;

(ii) прием информации о визуализации представляющей интерес области головного мозга во второй временной точке;

(iii) определение концентрации НМ в первой и второй временных точках в представляющей интерес области головного мозга с использованием воксельного анализа на основе информации о визуализации; и

(iv) сравнение концентрации НМ в первой временной точке со второй временной точкой,

причем способ лечения дополнительно включает:

(1) если скан НМ-MPT во второй временной точке имеет сниженный сигнал НМ по сравнению с сигналом НМ в первой временной точке, то способ включает введение одного или более из леводопы и карбидопы; или

(2) если скан НМ-MPT во второй временной точке имеет повышенный НМ сигнал по сравнению с НМ сигналом в первой временной точке, то способ включает:

(a) прекращение введения одного или более из леводопы и карбидопы; и

(b) повторение этапов (i)-(iv).

18. Способ по любому предшествующему пункту, причем MPT-скан является чувствительным к нейромеланину.

19. Способ обеспечения режима лечения пациента, включающий выполнение скана НМ-MPT, получение сигнала НМ из скана НМ-MP в представляющей интерес области, сравнение сигнала НМ из скана НМ-MPT в области представляющих интерес данных с номерами базы данных в соответствующей возрастной группе, если сигнал НМ ниже заранее определенного значения, то назначение соответствующего режима лечения.

21. Способ по любому предшествующему пункту, причем у субъекта проявляются симптомы болезни Альцгеймера.

22. Способ по любому предшествующему пункту, причем скан НМ-MPT позволяет провести различие между болезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона.

23. Способ по любому предшествующему пункту, причем у субъекта или пациента проявляются один или более симптомов болезни Паркинсона.

24. Способ по любому предшествующему пункту, причем у пациента диагностирована болезнь Паркинсона без проявления симптомов.

25. Способ по любому предшествующему пункту, причем НМ-MPT проводит

различие между болезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона.

25. Способ по любому предшествующему пункту, дополнительно включающий диагностирование пациента как имеющего или не имеющего болезнь Паркинсона; и указание диагноза пользователю через пользовательский интерфейс.

26. Способ по любому предшествующему пункту, причем анализ представляет собой воксельный анализ.

27. Способ по любому предшествующему пункту, причем воксельный анализ включает определение по меньшей мере одного топографического рисунка в представляющей интерес области головного мозга.

28. Способ по любому предшествующему пункту, дополнительно включающий вычисление с использованием значения, которое представляет объем вокселя нейромеланина.

29. Способ по любому предшествующему пункту, причем представляющей интерес областью воксельного анализа является черная субстанция.

30. Способ по любому предшествующему пункту, причем представляющей интерес областью воксельного анализа является вентральная подобласть черной субстанции.

31. Диагностическая система для выдачи диагностической информации о болезни Паркинсона, включающая:

систему МРТ, выполненную с возможностью генерации и получения скана нейромеланин-чувствительной МРТ вместе с набором данных по нейромеланину для вокселя, находящегося в представляющей интерес области головного мозга субъекта;

сигнальный процессор, выполненный с возможностью обработки набора данных по нейромеланину для получения обработанного спектра нейромеланин-МРТ; и

диагностический процессор, выполненный с возможностью обработки обработанного спектра нейромеланин-МРТ для:

извлечения измерения из представляющей интерес области, соответствующей нейромеланину во временной точке,

сравнения измерения с одним или более контрольными измерениями, полученными до этой временной точки;

постановки диагноза болезни Паркинсона, если измерение более чем на 25% ниже, чем контрольное измерение.

32. Способ лечения пациента с болезнью Паркинсона, включающий:

a) введение пациенту начальной дозы L-ДОФА;

b) выполнение серийных сканов НМ-МРТ пациента с мониторингом концентрации нейромеланина в представляющей интерес области головного мозга пациента и оценкой связанных с лечением неблагоприятных событий в течение начального периода лечения;

c) если в течение начального периода лечения у пациента проявляется:

i) снижение концентрации нейромеланина в представляющей интерес области головного мозга пациента;

ii) отсутствие неблагоприятных или побочных эффектов, связанных с L-ДОФА;

то повышение дозы L-ДОФА в последующем периоде лечения;
 причем лечение L-ДОФА приводит к положительной динамике симптомов болезни Паркинсона у пациента.

33. Способ по п.32, включающий следующий этап:

d) повторение этапов а)-с) до тех пор, пока у пациента не будет проявляться одно или более из i)-ii) на этапе с).

34. Способ по любому предшествующему пункту, причем способ используют со вторым способом визуализации, причем второй способ визуализации выбран из группы, состоящей из позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), структурной МРТ, включая функциональную МРТ (фМРТ), фМРТ, зависящую от уровня кислорода в крови (BOLD), чувствительную к железу МРТ, количественное картирование восприимчивости (QSM), диффузионно-тензорную визуализацию DTI и однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ), DaTscan и DaTquant.

35. Способ по любому предшествующему пункту, причем второй способ визуализации включает позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ).

36. Способ по любому предшествующему пункту, причем второй способ визуализации включает структурную МРТ.

37. Способ по любому предшествующему пункту, причем второй способ визуализации включает функциональную МРТ (фМРТ).

38. Способ по любому предшествующему пункту, причем второй способ визуализации включает фМРТ, зависящую от уровня кислорода в крови (BOLD).

39. Способ по любому предшествующему пункту, причем воксельный анализ включает определение по меньшей мере одного топографического рисунка в представляющей интерес области головного мозга, причем представляющая интерес область головного мозга представляет собой один или более вокселей, связанных с симптомами болезни Паркинсона.

40. Способ по любому предшествующему пункту, причем воксельный анализ включает определение по меньшей мере одного топографического рисунка в представляющей интерес области головного мозга, причем представляющая интерес область головного мозга представляет собой один или более специфичных для пациента вокселей, связанных с симптомами болезни Паркинсона.

41. Способ по любому предшествующему пункту, причем представляющей интерес областью головного мозга является черная субстанция или голубое пятно.

42. Способ по пп.1-41, причем представляющей интерес областью головного мозга является вентральная черная субстанция.

43. Способ по пп.1-41, причем представляющей интерес областью головного мозга является латеральная черная субстанция.

44. Способ по пп.1-41, причем представляющей интерес областью головного мозга является вентролатеральная черная субстанция.

45. Способ по пп.1-41, причем представляющей интерес областью головного мозга

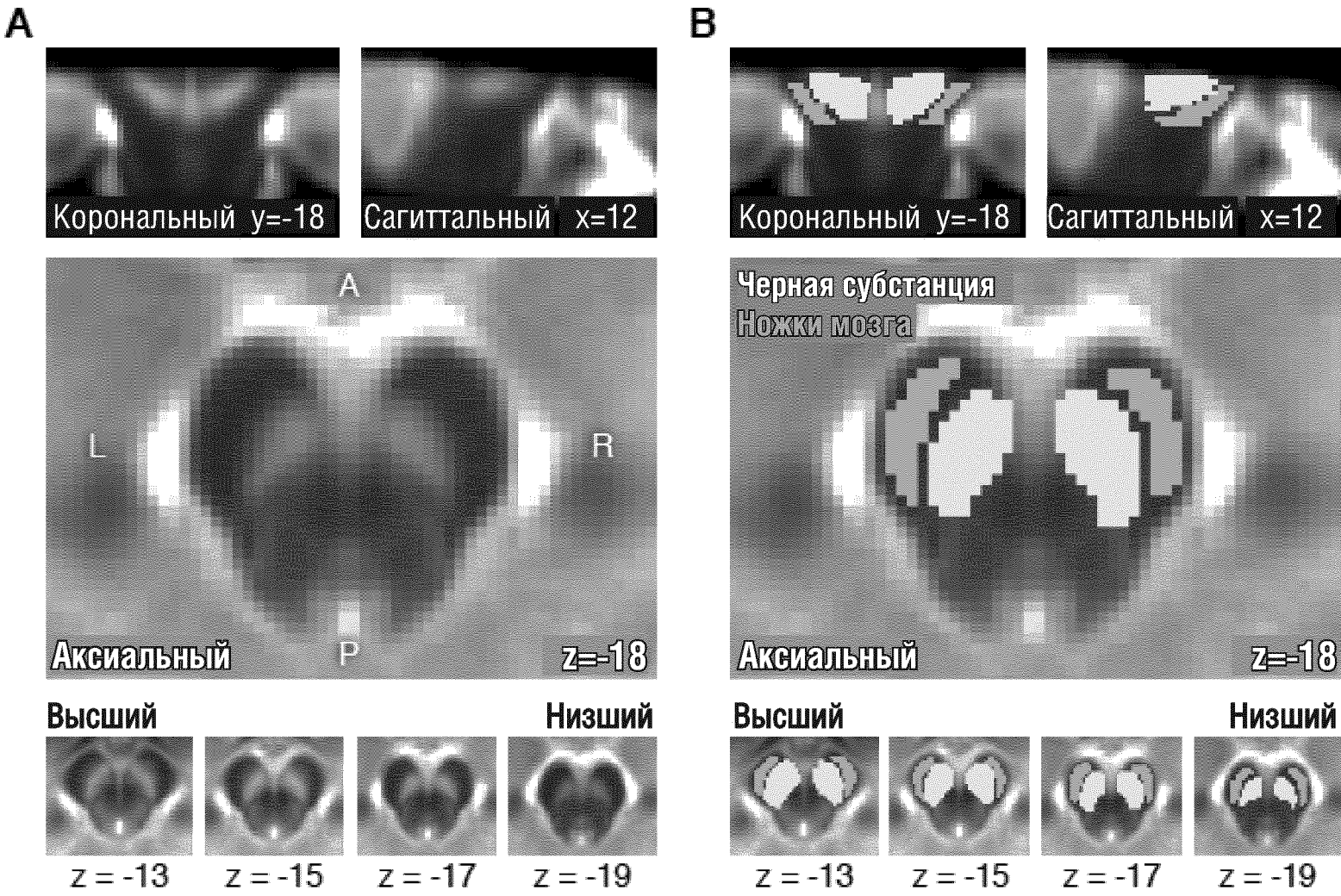
является компактная часть черной субстанции (SNpc).

46. Способ по пп.1-41, причем представляющей интерес областью головного мозга является сетчатая часть черной субстанции (SNpr).

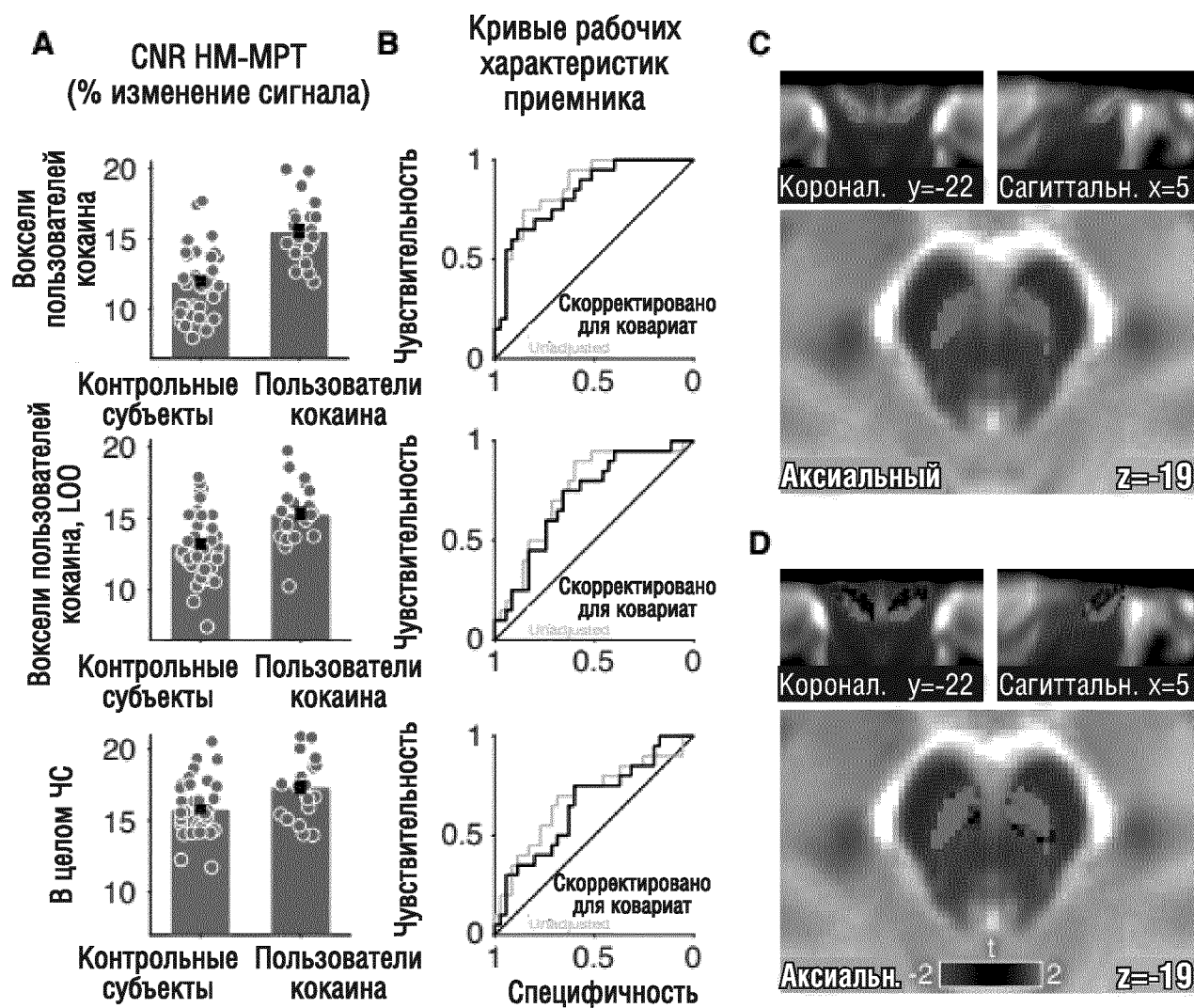
47. Способ по пп.1-41, причем представляющей интерес областью головного мозга является вентральная область покрышки (VTA).

48. Способ по пп.1-41, причем представляющей интерес областью головного мозга является голубое пятно.

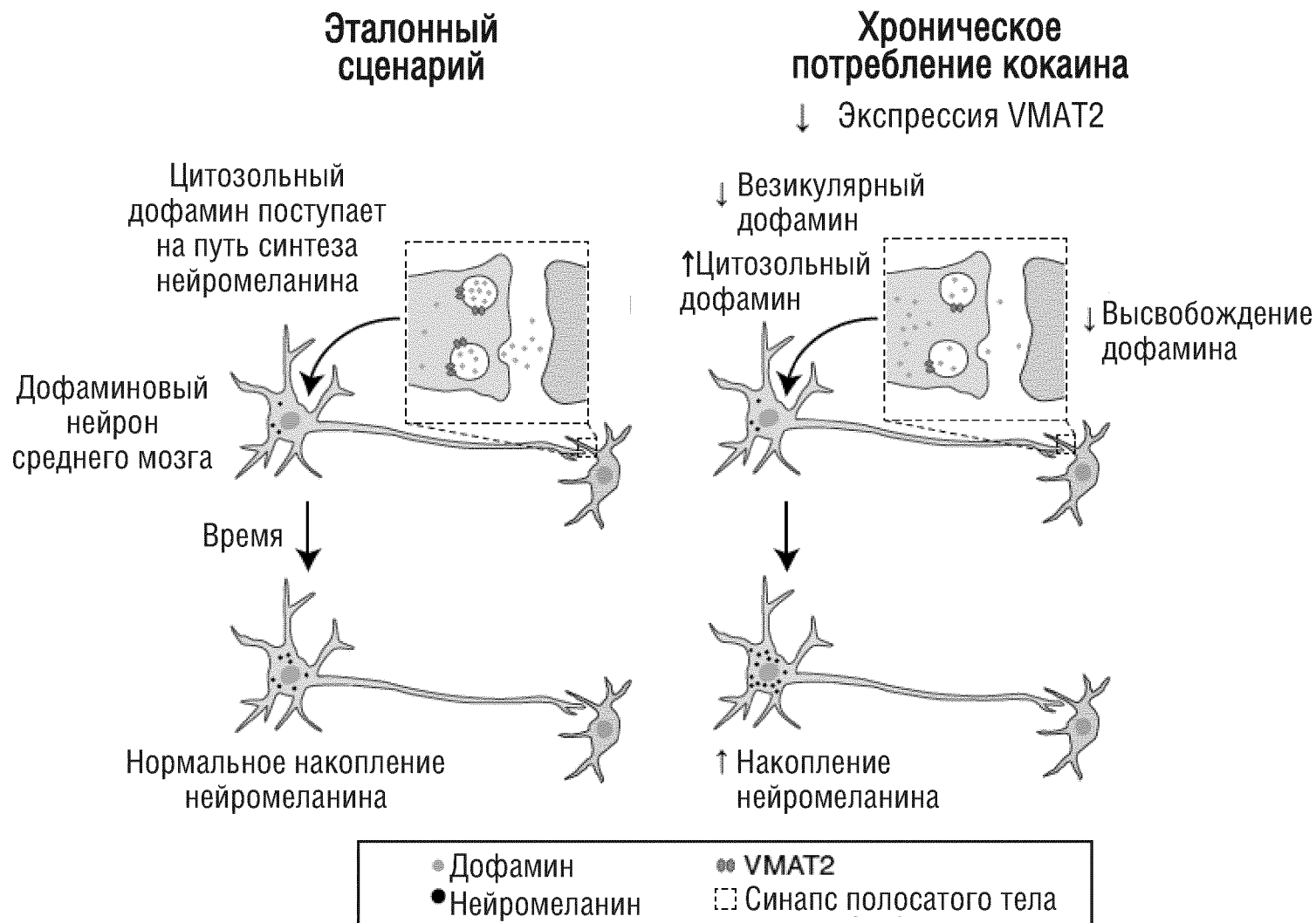
ФИГ.1А-В



ФИГ.2А-Д



ФИГ.3



ФИГ.4

Характеристика	Контрольные субъекты (N=35)		Пользователи кокаина (N=20)		p-значение
	N	%	N	%	
Раса/этническая принадлежность					0.08
Афроамериканцы	14	40	15	75	
Кавказцы	5	14	2	10	
Испанцы	4	11	3	15	
Другие	7	20	0	0	
Курильщики	13	37	15	75	0.011
Случайное потребление алкоголя	14	82	16	84	1
Случайное потребление каннабиса	3	18	9	47	0.08
	Среднее	SD	Среднее	SD	
Возраст (лет)	45.1	10.2	47.3	8.1	0.41
Образование (лет)	14.3	1.8	12.4	1.29	<0.001
Многомерная шкала воспринимаемой соц. поддержки (MSPSS полная)	70.9	7.5	60.6	15.2	0.014
Индекс массы тела	26.0	3.8	27.3	2.5	0.23
Симптомы депрессии (BDI полная)	1.2	1.8	7.5	8.8	0.005
Число сигарет в день (только для курильщиков)	8.9	5.7	5.9	2.2	0.01
Продолжительность употребления кокаина (лет)	-	-	21.9	9.3	-
Деньги, потраченные на кокаин ^a (еженедельно)	-	-	\$207	138	-

Р-значение для результатов определения t-критерия для непрерывных измерений и X или критерий Фишера для тестов пропорций. AA=Афроамериканцы, C=Кавказцы, H=Испанцы, O=Другие, MSPSS=Многомерная шкала воспринимаемой социальной поддержки, BDI=Инвентаризация депрессии Бека, среднее количество денег, потраченных в неделю на кокаин, используется в качестве косвенного показателя употребляемого количества.

^aКокаин стоил примерно 30 долларов США за грамм в районе Нью-Йорка на момент сбора данных.

ФИГ.5

Демографические и клинические характеристики всей выборки (исходная выборка; исследование 1+исследование 2), субъектов с шкалами оценки до и после лечения L-ДОФА (выборка L-ДОФА; исследование 2) и субъектов до и после лечения L-ДОФА НМ-МРТ (подгруппа последующего наблюдения; подгруппа исследования 2)

Характеристика	Исходная выборка (N=33; иссл.1+иссл.2)	Выборка L-ДОФА (N=15; исслед. 2)	Подгруппа послед. наблюдения (N=6; иссл. 2)	p-значение ^a
Возраст (лет)	71.8 ± 6.5	72.7 ± 6.3	73.7 ± 5.5	0.89
Пол (женщины)	21 (63.6%)	9 (60%)	4 (66.7%)	0.67
Образование (лет)	16.8 ± 2.5	16.7 ± 2.1	16.8 ± 1.8	0.98
Раса				
Азиаты	2 (6.1%)	1 (6.7%)	0 (0.0%)	0.40
Негроидная раса	12 (36.4%)	9 (60%)	3 (50.0%)	0.52
Белые	17 (51.5%)	4 (26.7%)	2 (33.3%)	0.63
Другие	2 (6.1%)	1 (6.7%)	1 (16.7%)	0.20
Диагноз				
MDD	26 (78.8%)	11 (73.7%)	5 (83.3%)	0.47
Дистимия	2 (6.1%)	1 (6.7%)	0 (0.0%)	0.40
Депрессия NOS	5 (15.2%)	3 (20%)	1 (16.7%)	0.79
Продолжительность текущего депрессивного эпизода (недели)	634.5 ± 977.5	582.9 ± 999.7	538.0 ± 875.5	0.81
Число предшествующих антидепрессантов	0.9 ± 1.4	0.3 ± 0.7	0.3 ± 0.5	1.00
Исходный балл в CGI-S	3.6 ± 0.8	3.4 ± 0.8	3.3 ± 1.0	1.00
Исходный балл в CES-D	26.5 ± 11.3	21.7 ± 11.3	20.0 ± 8.9	0.67
Исходный балл в HRSD	20.7 ± 6.6	17.5 ± 5.8	16.5 ± 6.9	0.84
ΔHRSD	—	-7.8 ± 7.1	-5.8 ± 10.3	0.71
Исх. балл в тесте замены цифр. симв.	36.8 ± 10.7	30.0 ± 8.8	35.8 ± 10.1	0.05
Δ в тесте замены цифровых символов	—	9.6 ± 8.2	7.0 ± 5.3	0.28
Исходная скорость ходьбы (м/с)	0.97 ± 0.10	0.77 ± 0.19	0.77 ± 0.15	0.72
Δ скорости ходьбы (м/с)	—	0.10 ± 0.13	0.05 ± 0.10	0.29

Значения представляют собой средние ± стандартное отклонение или N (%).

GGI-S Шкала общего клинического впечатления-тяжесть заболевания, CES-D Шкала депрессии Центра эпидемиологических исследований, HRSD Шкала депрессии Гамильтона, NOS, не указано иное.

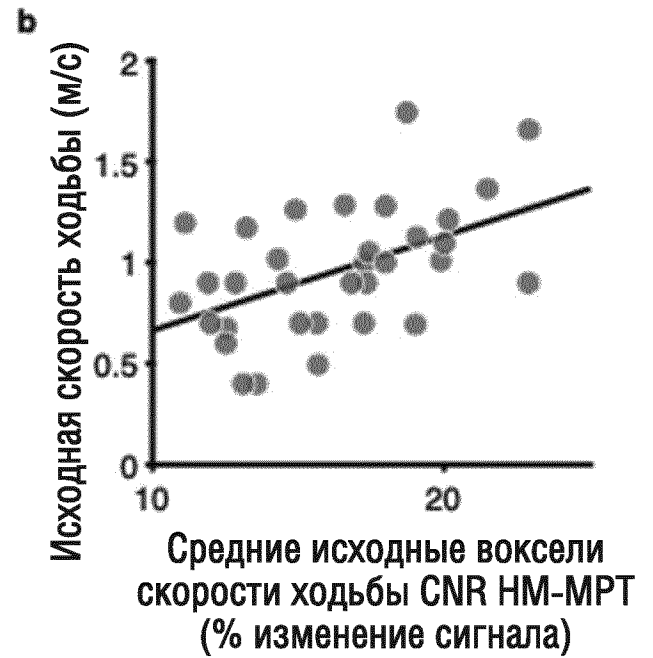
^aСравнение субъектов, получавших L-ДОФА с НМ-МРТ в периоде последующего наблюдения, и пациентов без НМ-МРТ в периоде последующего наблюдения.

ФИГ.6А-В

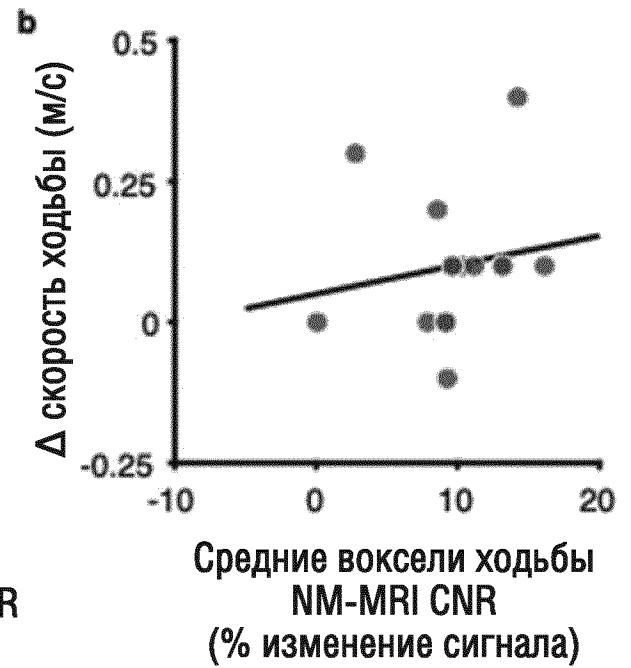
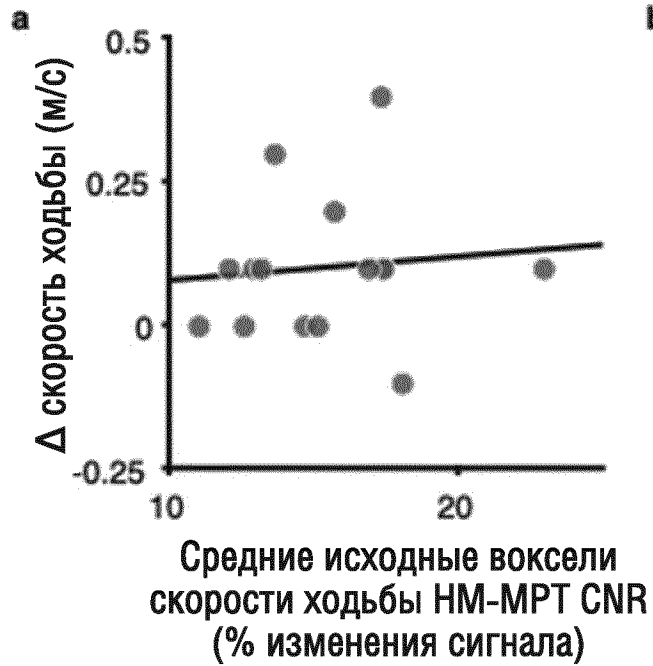


Исходная скорость ходьбы (м/с)

$P_{\text{корр}} = 0,038$, тест перестановки



ФИГ.7А-В



ФИГ.8А-С

