(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 034524 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.02.17

(21) Номер заявки
201790791

(22) Дата подачи заявки
2015.10.13

(51) Int. Cl. *A61K 31/575* (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

(54) СУЛЬФАТЫ ОКИСЛЕННОГО ХОЛЕСТЕРИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПОНИЖЕННОЙ ЛЕПТИНОВОЙ АКТИВНОСТИ

(31) **62/062,260**
(32) **2014.10.10**
(33) **US**
(43) **2017.08.31**
(86) **PCT/US2015/055262**
(87) **WO 2016/058000 2016.04.14**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ВИРДЖИНИЯ КОММОНВЕЛТ ЮНИВЕРСИТИ (US)

(72) Изобретатель:
Жэнь Шуньлинь, Ким Цзинь Коунг (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) SHI X. ET AL.: "Cholesterol Sulfate and Cholesterol Sulfotransferase Inhibit Gluconeogenesis by Targeting Hepatocyte Nuclear Factor 4", MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY., vol. 34, no. 3, 1 February 2014 (2014-02-01), pages 485-497, XP55231705, US ISSN: 0270-7306, DOI: 10.1128/MCB.01094-13 the whole document
WO-A1-2013154752
US-A1-2013143854
XU L. ET AL.: "5-Cholesten-3,25-Diol 3-Sulfate Decreases Lipid Accumulation in Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease Mouse Model", MOLECULAR PHARMACOLOGY, vol. 83, no. 3, 1 March 2013 (2013-03-01), pages 648-658, XP55230805, US ISSN: 0026-895X, DOI:10.1124/mol.112.081505 the whole document
US-A1-2012264816
WO-A1-2006047022

(57) Изобретение относится к способу лечения пониженной лептиновой активности, которая представляет собой дефицит лептина или резистентность к лептину или вызывается дефицитом лептина или резистентностью к лептину, у индивидуума, включающему введение индивидууму эффективного количества по меньшей мере одного сульфата окисленного холестерина (OCS), выбранного из 5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S); 5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS); 5-холестен-3,27-диол-3-сульфата; 5-холестен-3,27-диол-3,27-дисульфата; 5-холестен-3,7-диол-3-сульфата; 5-холестен-3,7-диол-3,7-дисульфата; 5-холестен-3,24-диол-3-сульфата; 5-холестен-3,24-диол-3,24-дисульфата и 5-холестен-3-ол-24,25-эпокси-3-сульфата, или его фармацевтически приемлемой соли. Изобретение предоставляет лечение и предотвращение состояний, связанных с резистентностью к лептину, таких как повышенное содержание липидов в сыворотке крови и накопление липидов в печени.

034524 B1

034524 B1

Предпосылки создания изобретения

Область, к которой относится изобретение.

В общих чертах настоящее изобретение относится к лечению заболеваний и состояний, ассоциированных с накоплением липидов. Так, например, настоящее изобретение относится к способам лечения индивидуумов, страдающих состоянием, ассоциированным с пониженной лептиновой активностью (например, с дефицитом лептина или резистентностью к лептину), и расстройствами, ассоциированными с аномальным накоплением липидов, где такое лечение проводят с использованием по меньшей мере одного сульфата окисленного холестерина (OCS).

Предшествующий уровень техники.

Запасные жиры (липиды), являющиеся важным источником энергии организма, постоянно разрушаются, и для поддержания энергетического баланса организма необходимо их восстановление путем приема полезной пищи. Однако при некоторых наследственных и приобретенных заболеваниях эти процессы протекают по аномальному и опасному для здоровья механизму, в результате чего происходит нежелательное отложение липидов. Со временем аномальная аккумуляция липидов будет неблагоприятно влиять на функционирование многих органов в организме и может представлять угрозу для жизни.

Гормон лептин играет ключевую роль в регуляции нескольких функций, таких как потребление и расход энергии, включая чувство аппетита и голода, метаболизм и поведение, ассоциированное с поиском пищи. Функции лептина заключаются в его связывании с рецептором в длинноцепочечной форме и активации такого рецептора (LEPR-B), который присутствует на поверхности клеток многих органов и тканей организма, включая гипоталамус. Лептиновая активность сообщает центральной нервной системе (ЦНС) способность к запасанию энергии и играет главную роль в поддержании энергии нормального гомеостаза. Так, например, у здоровых индивидуумов после приема пищи лептиновая активность запускает серию химических сигналов, которые сообщают ощущение сытости (насыщения) и увеличивают расход энергии. Однако у индивидуумов с недостаточной лептиновой активностью нарушается передача химических сигналов.

Дефицит лептиновой активности может быть вызван несколькими различными факторами. Так, например, некоторые генетические аномалии приводят к полному истощению лептина или к снижению его уровней либо к продуцированию дефектного лептина у индивидуума (называемого здесь "дефицитом лептина" или "LD"). Дефицит лептиновой активности может также возникать в клетках, уже резистентных к лептину, или в клетках, приобретающих резистентность к лептину, т.е. в клетках с так называемой "резистентностью к лептину" (LR). В общих чертах LR определяют как неспособность эндогенного или экзогенного лептина стимулировать желаемый и полезный для здоровья метаболический статус в случае переедания или ожирения. При резистентности к лептину клетки и/или ткани не способны передавать лептиновый сигнал в ответ на контактирование клеток и/или ткани с лептином. Таким образом, у индивидуума с LR могут продуцироваться адекватные или даже повышенные уровни лептина в крови, но у такого индивидуума все же наблюдается дефицит лептиновой активности. LR вызывается рядом факторов, включая генетическую предрасположенность (например, дефицит рецептора лептина, вызываемый мутациями в гене LEPR), ожирение, образ жизни и т.п. и их комбинации.

Дефициты лептиновой активности ассоциируются с развитием некоторых опасных для жизни патологических состояний, таких как состояния, которые ассоциируются с повышением уровня триглицеридов в сыворотке и аккумуляции липидов в печени, что может приводить к увеличению заболеваемости и смертности.

Таким образом, необходимо разработать более эффективные средства и способы предупреждения, лечения или устранения эффектов дефицита лептиновой активности и заболеваний, ассоциированных с таким дефицитом.

Расстройства, ассоциированные с аномальным накоплением липидов (или липидозы), представляют собой группу наследственных метаболических расстройств, при которых в некоторых клетках и тканях организма аккумулируется нежелательное количество липидов (жиров). У людей с такими расстройствами либо не продуцируется достаточное количество одного из ферментов, необходимых для метаболизма липидов, либо эти ферменты продуцируются, но функционируют по "неправильному" механизму. Со временем такое избыточное накопление жиров может приводить к обширному перманентному поражению клеток и тканей, в частности, в головном мозге, в периферической нервной системе, в печени, в селезенке и в костном мозге.

К сожалению, эти заболевания могут быть смертельными, и пока не существует способов их лечения, либо такие способы очень ограничены. В настоящее время существуют способы лечения только двух заболеваний, ассоциированных с аномальным накоплением липидов: болезни Фабри и болезни Гоше. Оба эти заболевания вызываются отсутствием фермента или присутствием дефектного фермента (α-галактозидазы А в случае болезни Фабри и глюкоцереброзидазы в случае болезни Гоше). Оба эти заболевания подвергают лечению путем фермент-заместительной инфузионной терапии. К сожалению, такая терапия является относительно инвазивной и может вызывать тяжелые аллергические (анафилактические) реакции, которые представляют угрозу для жизни, и которые уже были описаны в литературе. Совсем недавно для лечения болезни Гоше была разработана пероральная лекарственная форма, включаю-

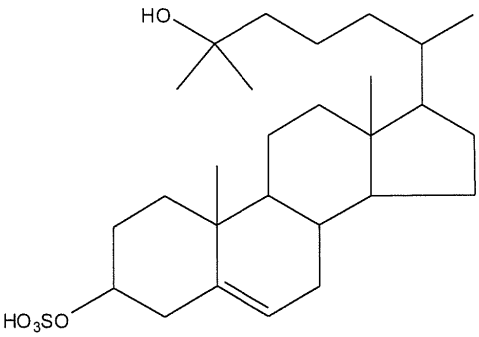
щая глюкоцереброзидазу. Однако еще много вопросов, касающихся продолжительности эффекта такого лечения, остается без ответа, а также еще не решены проблемы, ассоциированные с недостаточным оснащением лабораторий для исследований.

Следовательно, крайне необходимо разработать способ лечения заболеваний, ассоциированных с пониженной лептиновой активностью и с аномальным накоплением липидов.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к способам предупреждения, устранения или лечения симптомов и/или состояний/заболеваний, ассоциированных с расстройствами, вызываемыми аномальной аккумуляцией липидов, включая расстройства, характеризующиеся пониженной лептиновой активностью (такой как аккумуляция липидов, ассоциированная с дефицитом лептина (LDLA)), и аккумуляция липидов, ассоциированная с резистентностью к лептину (LRLA)), и расстройства, ассоциированные с аномальным накоплением липидов (LSD). Эти способы включают введение индивидууму терапевтически эффективного количества сульфата окисленного холестерина, т.е. количества, достаточного для предупреждения, устранения или лечения по меньшей мере одного симптома расстройства, ассоциированного с аккумуляцией липидов (например, LDLA, LRLA или LSD). Такими симптомами являются, но не ограничиваются ими, гиперлипидемия, жирная печень и аномальная аккумуляция липидов в клетках и тканях, таких как ткань центральной и периферической нервной системы.

Настоящее изобретение относится к способам лечения заболевания, ассоциированного с аккумуляцией липидов, вызываемой дефицитом лептина, у индивидуума, нуждающегося в таком лечении. Указанные способы включают повышение у индивидуума количества по меньшей мере одного OCS, такого как 5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S) формулы



или его фармацевтически приемлемой соли.

Настоящее изобретение также относится к веществам, которые содержат по меньшей мере один OCS, такой как 5-холестен-3,25-диол-3-сульфат (25HC3S) или т.п., или к их фармацевтически приемлемым солям, используемым в способах лечения заболевания, ассоциированного с аккумуляцией липидов, вызываемой дефицитом лептина, у индивидуума, и к веществам, которые содержат по меньшей мере один OCS, такой как 25-гидроксихолестерин (25HC), или к их фармацевтически приемлемым солям, используемым в способах лечения заболевания, ассоциированного с аккумуляцией липидов, вызываемой дефицитом лептина, у индивидуума.

Настоящее изобретение также относится к веществам, используемым в способах лечения расстройств, ассоциированных с аккумуляцией липидов и с пониженной лептиновой активностью, или расстройства, ассоциированного с аномальным накоплением липидов у индивидуума, например, в таких органах, как печень или ткань нервной системы. Эти вещества включают одно из следующих соединений или оба эти соединения: i) нуклеиновую кислоту, кодирующую фермент и способную продуцировать фермент у индивидуума, где указанный фермент обладает способностью стимулировать продуцирование по меньшей мере одного эндогенного OCS, такого как 25HC3S, у индивидуума; и ii) фермент, обладающий способностью стимулировать продуцирование по меньшей мере одного эндогенного OCS, такого как 25HC3S, у индивидуума.

Кроме того, настоящее изобретение относится к применению по меньшей мере одного OCS, такого как 5-холестен-3,25-диол-3-сульфат (25HC3S) или его фармацевтически приемлемой соли, в целях приготовления лекарственного препарата, используемого в способе лечения расстройств, ассоциированных с аккумуляцией липидов и с пониженной лептиновой активностью, или расстройства, ассоциированного с аномальным накоплением липидов у индивидуума.

Настоящее изобретение также относится к применению по меньшей мере одного OCS, такого как 25-гидроксихолестерин (25HC) или его фармацевтически приемлемой соли, в целях приготовления лекарственного препарата, используемого в способе лечения расстройств, ассоциированных с дефицитом лептина и аккумуляцией липидов у индивидуума, например аккумуляцией липидов в печени индивидуума.

Настоящее изобретение также относится к одному из следующих соединений или к обоим этим соединениям, таким как i) нуклеиновая кислота, кодирующая фермент и способная продуцировать фермент

у индивидуума, где указанный фермент обладает способностью стимулировать продуцирование по меньшей мере одного эндогенного OCS, такого как 25HC3S, у индивидуума; и ii) фермент, обладающий способностью стимулировать у индивидуума продуцирование по меньшей мере одного эндогенного OCS, такого как 25HC3S, где указанные соединения могут быть применены для приготовления лекарственного препарата, используемого в способе лечения расстройств, ассоциированных с дефицитом лептина и аккумуляцией липидов у индивидуума, например аккумуляцией липидов в печени индивидуума.

Другие аспекты настоящего изобретения включают:

1) способ лечения пониженной лептиновой активности, которая представляет собой дефицит лептина или резистентность к лептину или вызывается дефицитом лептина или резистентностью к лептину, у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества по меньшей мере одного сульфата окисленного холестерина (OCS), выбранного из

5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S);

5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS);

5-холестен-3,27-диол-3-сульфата;

5-холестен-3,27-диол-3,27-дисульфата;

5-холестен-3,7-диол-3-сульфата;

5-холестен-3,7-диол-3,7-дисульфата;

5-холестен-3,24-диол-3-сульфата;

5-холестен-3,24-диол-3,24-дисульфата и

5-холестен-3-ол-24,25-эпокси-3-сульфата,

или его фармацевтически приемлемой соли;

2) способ согласно абзацу 1, где по меньшей мере один OCS или его фармацевтически приемлемую соль вводят в количестве, составляющем от 0,1 до 100 мг/кг по массе тела индивидуума;

3) способ согласно абзацу 2, где по меньшей мере один OCS или его фармацевтически приемлемую соль вводят в количестве, составляющем от 10 до 3 0 мг/кг по массе тела индивидуума;

4) способ согласно абзацам 1-3, где введение включает по меньшей мере одно из перорального введения, внутрикишечного введения, подъязычного введения, трансдермального введения, внутривенного введения, внутрибрюшинного введения, парентерального введения, введения путем инъекции, подкожной инъекции и внутримышечной инъекции;

5) способ по любому из предшествующих абзацев, который включает лечение одного или более симптомов, ассоциированных с аккумуляцией липидов, вызываемой снижением лептиновой активности;

6) способ по абзацу 5, где аккумуляция липидов, вызываемая снижением лептиновой активности, представляет собой резистентность к лептину, индуцированную мутацией в гене, кодирующем рецептор лептина у индивидуума;

7) способ по абзацу 6, где у индивидуума наблюдается снижение уровня связывания лептина с его рецептором, обусловленное мутацией;

8) применение по меньшей мере одного сульфата окисленного холестерина (OCS), выбранного из

5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S);

5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS);

5-холестен-3,27-диол-3-сульфата;

5-холестен-3,27-диол-3,27-дисульфата;

5-холестен-3,7-диол-3-сульфата;

5-холестен-3,7-диол-3,7-дисульфата;

5-холестен-3,24-диол-3-сульфата;

5-холестен-3,24-диол-3,24-дисульфата и

5-холестен-3-ол-24,25-эпокси-3-сульфата,

или его фармацевтически приемлемой соли для лечения пониженной лептиновой активности, которая представляет собой дефицит лептина или резистентность к лептину или вызывается дефицитом лептина или резистентностью к лептину;

9) применение по абзацу 8, где сульфат окисленного холестерина (OCS) выбран из группы, состоящей из 5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S) и 5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS), или его фармацевтически приемлемой соли.

10. Применение сульфата окисленного холестерина (OCS), выбранного из

5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S);

5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS);

5-холестен-3,27-диол-3-сульфата;

5-холестен-3,27-диол-3,27-дисульфата;

5-холестен-3,7-диол-3-сульфата;

5-холестен-3,7-диол-3,7-дисульфата;

5-холестен-3,24-диол-3-сульфата;

5-холестен-3,24-диол-3,24-дисульфата и

5-холестен-3-ол-24,25-эпокси-3-сульфата,

или его фармацевтически приемлемой соли в приготовлении лекарственного средства для лечения пониженной лептиновой активности, которая представляет собой дефицит лептина или резистентность к лептину или вызывается дефицитом лептина или резистентностью к лептину.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения представлены в описании настоящего изобретения, в частности, они будут очевидны из данного описания или могут быть более понятными при практическом осуществлении изобретения. Настоящее изобретение может быть реализовано и осуществлено с применением композиций и способов, подробно проиллюстрированных в описании настоящего изобретения и в прилагаемой формуле изобретения.

Краткое описание чертежей

Настоящее изобретение подробно описано ниже со ссылкой на чертежи, не ограничивающие объем изобретения, где

фиг. 1A-D - уровни липидов в сыворотке у самцов животных, дефицитных по лептину "Zucker Leptin-Deficient" (животных fa/fa с ожирением), через 21 день после 25HC3S-обработки на указанных уровнях. A - холестерин ЛВП; B - холестерин ЛНП; C - общий холестерин в сыворотке; D - триглицериды. Все величины выражены как среднее ± ср. кв.откл. * $p<0,05$ и ** $p<0,01$ по сравнению с животными, обработанными носителем;

фиг. 2A-D - уровни липидов в печени у самцов животных Zucker, дефицитных по лептину (животных fa/fa с ожирением), через 21 день после 25HC3S-обработки на указанных уровнях. A - триглицериды; B - общий холестерин; C - свободные жирные кислоты; D - свободный холестерин. Все величины для каждого индивидуума были нормализованы по массе печени и выражены как среднее ± ср. кв.откл. * $p<0,05$ и ** $p<0,01$ по сравнению с животными, обработанными носителем;

фиг. 3A-E - исследования морфологии печени. Срезы печени, окрашенные гематоксилином и эозином (HE), были взяты у животных, обработанных A, носителем; B, 10 мг/кг/день 25HC3S, PO; C, 30 мг/кг/день 25HC3S, PO; D, 100 мг/кг PO; E, 50 мг/кг, IP;

фиг. 4A-E - Исследования морфологии печени. Срезы печени, окрашенные масляным красным O, были взяты у животных, обработанных A, носителем; B, 10 мг/кг/день 25HC3S, PO; C, 30 мг/кг/день 25HC3S, PO; D, 100 мг/кг, PO; E, 50 мг/кг, IP.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к способам лечения расстройств, характеризующихся аномальной аккумуляцией липидов (LA). Эти способы были разработаны на неожиданном обнаружении того факта, что введение OCS млекопитающим, у которых наблюдается аномальное и опасное для здоровья отложение липидов (например, глобулярных липидов в печени или в других органах или тканях, где наблюдаются их аномальное отложение), приводит к снижению или к элиминации липидного отложения и к предупреждению дальнейшей аккумуляции липидов. Таким образом, введение OCS предотвращает аномальное отложение липидов и устраняет такое отложение (аккумуляцию), которое наблюдалось до начала лечения. Расстройства, которые были подвергнуты такому лечению, называются здесь "нарушениями аккумуляции липидов", "нарушениями отложения липидов" и т.п., и такими расстройствами являются, но не ограничиваются ими

I) расстройства, которые вызываются отсутствием или ослаблением лептиновой активности, в результате, например,

i) генетической мутации, которая вызывает образование лептина на низких уровнях или продуцирование нефункциональной или неправильно функционирующей молекулы лептина, например, при дефиците лептина (LD); или

ii) дефектной передачи лептинового сигнала, обусловленной, например, врожденным или приобретенным нарушением функционирования или недостаточным функционированием рецептора лептина, например, вследствие генетической мутации рецептора лептина или приобретенной потерей чувствительности рецептора к связыванию с лептином, например, в случае резистентности к лептину (LR); и

II) нарушения накопления липидов, которые обычно является врожденными.

Используемый здесь термин "пониженная лептиновая активность" включает дефицит лептина (LD) и резистентность к лептину (LR), охарактеризованные выше в i) и ii). Аналогичным образом, используемый здесь термин "аккумуляция липидов, ассоциированная с дефицитом лептина" включает аккумуляцию липидов, ассоциированную с дефицитом лептина (LD) и резистентностью к лептину (LR), как было охарактеризовано выше в i) и ii).

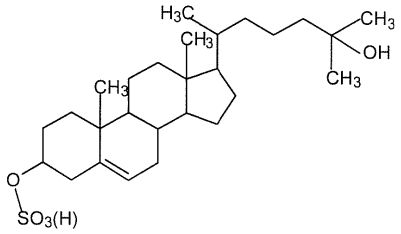
Эти способы включают введение индивидууму терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного сульфата окисленного холестерина (OCS). Таким образом, при поддержании или сохранении "правильного" гомеостаза липидов можно предотвратить, вызвать обратное развитие, ослабить или полностью устранить симптомы данного заболевания (например, заболевания, ассоциированного с аккумуляцией липидов, LA). Используемые здесь термины "лечение" или "терапия" охватывают терапевтическое лечение существующего заболевания, профилактические меры по предупреждению заболевания или его рецидива, а также мониторинг течения заболевания.

Если принять во внимание необходимость в разработке усовершенствованных агентов и способов

лечения нарушений аккумуляции липидов, таких как LDLA, LRLA, и нарушений накопления липидов, то можно сказать, что результаты настоящего изобретения оказались неожиданными.

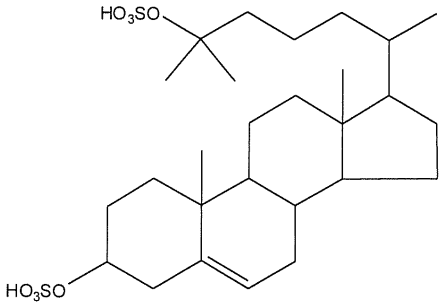
Примерами OCS, которые могут быть использованы в описанных здесь способах и композициях, являются, но не ограничиваются ими, 5-холестен-3,25-диол-3-сульфат (25HC3S); 5-холестен-3b,25-диол-дисульфат (25HCDS); (5-холестен-3,27-диол-3-сульфат); (5-холестен-3,27-диол-3,27-дисульфат); (5-холестен-3,7-диол-3-сульфат); (5-холестен-3,7-диол-3,7-дисульфат); (5-холестен-3,24-диол-3-сульфат); (5-холестен-3,24-диол-3,24-дисульфат) и (5-холестен-3-ол-24,25-эпокси-3-сульфат). Описание 25HC3S можно найти, например, в патенте США № 8399441, который во всей своей полноте вводится в настоящее описание посредством ссылки. Описание 25HC3S можно найти, например, в заявке WO 2013/154752, которая во всей своей полноте вводится в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых аспектах изобретения OCS выбраны из 5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S) и 5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS) (взятых отдельно или в комбинации). В других аспектах изобретения OCS представляет собой 5-холестен-3,25-диол-3-сульфат (25HC3S).

Используемый здесь термин "25-гидроксихолестерин-3-сульфат (25HC3S)" означает соединение структуры



25HC3S описан, например, в опубликованной заявке на патент США US-2010-0273761 (Ren et al.), полное содержание которой во всей своей полноте вводится в настоящее описание посредством ссылки. Однако в US-2010-0273761 не указывается, что 25HC3S может быть эффективным для лечения, предупреждения или ослабления расстройств, вызываемых отсутствием или ослаблением лептиновой активности или нарушением накопления липидов у пациентов.

Используемый здесь термин "5-холестен-3,25-диол-дисульфат (25HCDS)" означает соединение структуры

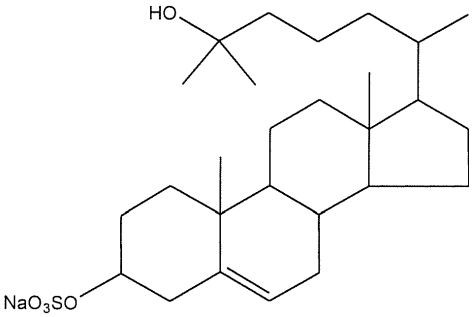


25HC3S описан, например, в опубликованной заявке на патент США US-20150072962 (Ren et al.), полное содержание которой во всей своей полноте вводится в настоящее описание посредством ссылки. Однако в US-20150072962 не указывается, что 25HC3S может быть эффективным для лечения, предупреждения или ослабления расстройств, вызываемых отсутствием или ослаблением лептиновой активности или нарушением накопления липидов у пациентов.

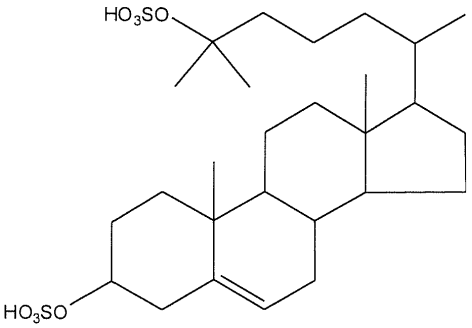
OCS (например, 25HC3S или 25HCDS) может присутствовать в форме фармацевтически приемлемой соли. Фармацевтически приемлемой солью может быть соль, образованная потерей атома водорода на сульфатной группе родительской молекулы OCS.

Фармацевтически приемлемой солью может быть, например, соль щелочного металла (например, соль лития, натрия или калия), соль щелочно-земельного металла (например, соль кальция) или соль аммония. Фармацевтически приемлемой солью может быть, например, соль натрия, калия, кальция, лития или аммония.

Одним из примеров такой соли является натриевая соль 25HC3S, например моноаддитивная натриевая соль 25HC3S, такая как моноаддитивная соль, образованная потерей атома водорода на сульфатной группе 25HC3S, т.е. такая соль представляет собой соединение, имеющее формулу



Другим примером такой соли являются натриевая соль 25HC3S, например диаддитивная соль или моноаддитивная соль. Диаддитивная соль образуется потерей атомов водорода на каждой из двух сульфатных групп молекулы 25HC3S. Моноаддитивная соль образуется потерей атома водорода только на одной из двух сульфатных групп молекулы 25HC3S (либо в положении 3β, либо в 25 положении этой молекулы), т.е. такая соль представляет собой соединение, имеющее формулу



Для исключения всяких сомнений следует особо подчеркнуть, что во всем описании настоящего изобретения термины "25HC3S" или "25HCDS" или другие OCS включают также их фармацевтически приемлемые соли, если это не оговорено особо.

Используемое здесь словосочетание "вещество, которое включает" конкретное соединение, охватывает как само соединение (т.е. это вещество "представляет собой" конкретное соединение), так и композицию, содержащую конкретное соединение в комбинации с другими соединениями. Так, например, вещество, содержащее OCS или его фармацевтически приемлемую соль, может представлять собой: (a) OCS, такой как 25HC3S или 25HCDS, (b) фармацевтически приемлемую соль OCS, такого как 25HC3S или 25HCDS, (c) композицию, содержащую OCS, такой как 25HC3S или 25HCDS, и (d) композицию, содержащую фармацевтически приемлемую соль OCS, такого как 25HC3S или 25HCDS.

Количество по меньшей мере одного вводимого OCS может варьироваться в зависимости от индивидуальных особенностей индивидуума, которому вводят это соединение (например, в зависимости от вида, пола, возраста, организации генома, общего состояния здоровья и т.п.). Однако клинически релевантное количество (терапевтически эффективной дозы) обычно составляет в пределах приблизительно от 0,01 до 100 мг/кг по массе тела индивидуума. Так, например, доза может составлять приблизительно от 0,1 до 50 мг/кг, или приблизительно от 1 до 30 мг/кг, или приблизительно от 3 до 20 мг/кг, включая интервалы приблизительно от 0,5 до 40, приблизительно от 1 до 10 мг/кг, приблизительно от 10 до 30 мг/кг и т.п. Так, например, доза может составлять приблизительно 0,01; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; 0,5; 0,55; 0,6; 0,65; 0,7; 0,75; 0,8; 0,85; 0,9; 0,95; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,5; 10,0; 10,5; 11,0; 11,5; 12,0; 12,5; 13,0; 13,5; 14,0; 14,5; 15,0; 15,5; 16,0; 16,5; 17,0; 17,5; 18,0; 18,5; 19,0; 20,5; 21,0; 21,5; 22,0; 22,5; 23,0; 23,5; 24,0; 24,5; 25,0; 25,5; 26,0; 26,5; 27,0; 27,5; 28,0; 28,5; 29,0; 29,5 или 30,0 мг/кг (включая все значения, выраженные в десятичных дробях между всеми целыми значениями, например, 0,01 мг/кг) или более, например приблизительно 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 мг/кг (включая все целые числа и все значения, выраженные в десятичных дробях между всеми целыми значениями, например, 0,01 мг/кг).

Время или частота введения варьируется в зависимости, например, от типа заболевания или расстройства, подвергаемого лечению, от тяжести заболевания/расстройства, от индивидуальных особенностей пациента, подвергаемого лечению (например, от возраста, пола, общего состояния здоровья, наличия или отсутствия других патологических состояний и/или других видов одновременно проводимой терапии и т.п.). Так, например, введение может быть осуществлено с частотой приблизительно 1-4 раза в день (например, 1, 2, 3, 4 или более раз в день), либо оно может быть осуществлено только через день, через каждые 3-6 дней, один раз в неделю или раз в 10 дней, или один раз в 2 или 3 недели, или один раз в месяц, или даже менее часто, например один раз в 2, 3, 4 или 5 месяцев, или, например, один раз или два раза в год. Альтернативно или дополнительно, доза может вводиться непрерывно, например, внутривенно.

Обычно более частое или непрерывное введение доз (и возможно больших количеств OCS) прово-

дится в случае наличия тяжелых или острых симптомов и/или вскоре после диагностики для "нагрузки" системы органов соединением OCS. В противоположность этому после ослабления симптомов до желаемого уровня индивидууму могут вводиться дозы менее часто, и/или количество OCS может быть снижено, например, до уровня поддерживающей дозы. Так, например, нагрузочная доза может составлять от 3 до 20 мг/кг в день и вводиться в течение периода времени от 1 до 10 дней, а затем может быть введена поддерживающая доза, составляющая от 0,1 до 10 мг/кг в день.

В соответствии с этим введение обычно начинают вскоре после подтверждения диагноза и продолжают до появления желаемого благоприятного эффекта, например до исчезновения жировых отложений. В некоторых аспектах изобретения введение продолжают постоянно для предупреждения рецидивов заболевания или прекращают в том случае, если заболевание может быть подвергнуто лечению другими способами, например, в некоторых случаях рецидивы LR могут быть предотвращены путем изменения режима питания (снижения калорийности потребляемой пищи, изменения количества и типа жиров в продуктах питания и т.п.) и изменения образа жизни (например, повышения физической нагрузки). Однако в случае наследственных заболеваний, вызываемых генетическими мутациями, лечение обычно осуществляют на протяжении всей жизни индивидуума. Кроме того, таким индивидуумам желательно более частое введение доз, и/или введение более высоких доз, и/или доз с более продолжительным или медленным высвобождением активного вещества для обеспечения относительно постоянного введения OCS.

В некоторых аспектах изобретения терапевтически эффективную дозу по меньшей мере одного OCS или его фармацевтически приемлемой соли непосредственно вводят индивидууму, нуждающемуся в этом, например, эти соединения непосредственно вводят индивидууму в виде препарата или композиции, содержащих такой(ие) агент(ы) для устранения эффектов LD, LR, LDLA, LRLA и/или нарушений накопления липидов в соответствующих органах индивидуума (например, в сердечно-сосудистой системе, в крови, во внутренних органах, в печени, в клетках центральной и периферической нервной системы и т.п.). В одном из аспектов изобретения композиции включают по меньшей мере один OCS с высокой степенью очистки и фармакологически приемлемый (физиологически совместимый) носитель. Метод получения композиций, подходящих для введения, известен специалистам. Обычно такие композиции приготавливают в виде жидких растворов или суспензий, однако также могут быть введены и твердые формы, такие как таблетки, драже, порошки и т.п. Могут быть также приготовлены твердые формы, которые перед их введением могут быть растворены или суспендированы в жидкостях. Препарат может быть получен в виде эмульсии. Активные ингредиенты могут быть смешаны с наполнителями, которые являются фармацевтически приемлемыми и совместимыми с активными ингредиентами. Подходящими наполнителями являются, например, вода, физиологический раствор, декстроза, глицерин, этанол и т.п. или их комбинации. Кроме того, композиция может содержать небольшие количества вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие агенты, pH-забуферивающие агенты и т.п. В композиции для перорального введения могут быть включены различные загустители, отдушки, разбавители, эмульгаторы, диспергирующие агенты или связывающие вещества. Композиция согласно изобретению может содержать любые такие дополнительные ингредиенты, подходящие для приготовления композиции в нужной форме. Конечное количество активного агента, присутствующего в препаратах, может варьироваться. Однако в основном количество активного агента в препаратах составляет приблизительно 1-99%. 25HC3S может быть синтезирован, например, как описано в опубликованных заявках на патенты США 20070275939 и 20100273761 (Ren et al.), полное содержание которых во всей своей полноте вводится в настоящее описание посредством ссылки.

Альтернативно или дополнительно, предшественник OCS, такой как 25HC3S, вводят индивидууму, в организме которого этот предшественник превращается, например, в 25HC3S.

Репрезентативными предшественниками 25HC3S являются, но не ограничиваются ими, 25-гидроксихолестерин (25HC). Во всех аспектах изобретения уровень биологически доступного OCS повышается (увеличивается, возрастает и т.п.) в организме или в соответствующих органах (в сердечно-сосудистой системе, в крови, во внутренних органах, в печени и т.п.) в результате его образования из предшественника, и такое повышение уровней OCS дает благоприятные эффекты.

Другие аспекты изобретения включают введение нуклеиновой кислоты, кодирующей фермент, который продуцирует OCS, такой как 25HC3S или 25HCDS, или является активным в пути биологического синтеза OCS, такого как 25HC3S или 25HCDS, что приводит к увеличению уровня биологически доступного OCS. Репрезентативными ферментами, которые могут сверхэкспрессироваться у индивидуума, нуждающегося в этом, являются, но не ограничиваются ими, фермент гидроксистирол-сульфотрансфераза SULT2B1b.

Сверхэкспрессированный SULT2B1b катализирует реакцию сульфирования природного эндогенного субстрата 25HC в организме индивидуума с последующим превращением 25HC в 25HC3S, что приводит к увеличению концентрации 25HC3S у индивидуума. Введение нуклеиновых кислот, например, в подходящем векторе, осуществляют с применением подходящей методики, известной специалистам. Этот аспект настоящего изобретения может также включать, но необязательно, совместное введение нуклеиновой кислоты и экзогенного предшественника OCS, такого как 25HC3S (например, 25HC). На-

стоящее изобретение также включает способ лечения, в котором индивидууму вводят OCS, такой как 25HC3S, и нуклеиновую кислоту, кодирующую релевантный фермент, такой как SULT2B1b или его ферментативно активную форму (в присутствии или в отсутствие субстрата, такого как 25HC). Методы и руководства по проведению такой генотерапии описаны, например, в публикации "Present and future of adeno associated virus based gene therapy approaches". Recent Pat. Endocr. Metab. Immune Drug. Discov. 2012 Jan; 6(1), 47-66. "Gene Delivery System: A Developing Arena of Study for the New Era of Medicine". Recent Pat DNA Gene Seq. 2010 Jan 2 [Epub ahead of print]. "Nanoparticles in Gene Therapy Principles, Prospects, and Challenges". Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. 2011;104:509-62.

Композиции (препараты) 25HC3S могут быть введены любыми из множества подходящих способов, известных специалистам, включая, но не ограничиваясь ими, инъекцию (например, либо системное введение, либо введение в определенный участок, например в печень или в область, расположенную рядом с печенью), внутривенную инъекцию, введение путем ингаляции, пероральное введение, интравагинальное введение, интраназальное введение, введение путем проглатывания в виде пищевого продукта, содержащего активный агент, местное введение, введение путем направленной доставки в ткань печени и т.п. В некоторых аспектах изобретения введение осуществляют путем инъекции или внутривенно. Кроме того, композиции могут быть введены в комбинации с другими средствами лечения, такими как введение веществ, снижающих уровни липидов в сыворотке, и агентов, стимулирующих чувствительность к инсулину и т.п.

Индивидуумами, которым вводят композиции согласно изобретению, в основном, являются млекопитающие и человек. Однако таким индивидуумом может быть не только человек, но и другое млекопитающее, например, животное-компаньон или другое животное, у которого может наблюдаться благоприятный эффект после терапии.

Настоящее изобретение также относится к способам лечения аккумуляции липидов, вызываемой дефицитом лептина, у индивидуума, нуждающегося в этом, где указанные способы включают

выбор индивидуума, страдающего аккумуляцией липидов, вызываемой дефицитом лептина; и

лечение индивидуума путем введения эффективного количества OCS или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления изобретения отбор индивидуума, страдающего нарушением аккумуляции липидов, вызываемым дефицитом лептина, осуществляют способом, включающим измерение величины одного или более показателей дефицита лептина у индивидуума; сравнение полученной величины с величиной по меньшей мере одного негативного контроля или с интервалом величин негативного контроля для одного или более показателей, полученных от индивидуумов контрольной группы, у которых не наблюдалось дефицита лептина; и подтверждение наличия у индивидуума нарушения аккумуляции липидов, вызываемого дефицитом лептина, если эта величина отличается от величины негативного контроля или выходит за пределы интервала величин негативного контроля.

В некоторых аспектах изобретения способы согласно изобретению включают идентификацию индивидуума, нуждающегося в описанном здесь лечении, например индивидуума, у которого наблюдается дефицит лептина (LD), резистентность к лептину (LR) или нарушение накопления липидов (LSD), и у которого может наблюдаться предрасположенность к развитию аккумуляции липидов, вызываемой дефицитом лептина (LDLA), аккумуляции липидов, вызываемой резистентностью к лептину (LRLA), и аккумуляции липидов, вызываемой аномальным накоплением липидов (LSDLA), или у которого имеются или обнаруживаются один или более признаков или симптомов, ассоциированных с LD, LR, LDLA, LRLA или LSD, или у которого имеется риск развития LD, LR, LDLA, LRLA или LSD, или заболевания или состояния, ассоциированного с LD, LR, LDLA, LRLA или LSD или вызываемого LD, LR, LDLA, LRLA или LSD. Такой индивидуум может быть идентифицирован, например, путем определения такого показателя, как количество лептина в сыворотке, и сравнения полученного уровня с ранее определенными уровнями (интервалами уровней), измеренными у подходящей группы здоровых контрольных индивидуумов и/или контрольных индивидуумов, у которых, как известно, имеются LD, LR и/или LDLA, LRLA или нарушение накопления липидов, и/или у контрольных индивидуумов, подвергавшихся ранее лечению одного из этих расстройств, и/или сравнения с одним или более контрольными уровнями, определенными ранее у индивидуума. Так, например, общие уровни лептина в сыворотке, превышающие приблизительно 10 нг/мл, а обычно приблизительно 20 нг/мл, а еще чаще превышающие приблизительно 25 нг/мл у пациента, у которого наблюдается дефицит лептина, интерпретируются как уровни, соответствующие дефициту лептина, или указывающие на дефицит лептина, или являющиеся диагностическим показателем дефицита лептина. Аномальные величины, полученные в тестах на уровень сахара в крови натощак, в тестах AC1 (тестах для определения средних уровней сахара в крови в течение трех месяцев), в тестах на PAI-1 (на ингибитор активатора плазминогена-1), в тестах на CRP (на С-реактивный белок), в анализах мочи, в тестах на TSH (на тиреоидный гормон), в тестах для определения уровней холестерина, в тестах для определения уровней андрогена, и при ультразвуковом мониторинге печени на отложение жира и т.п., могут быть использованы для диагностики резистентности к лептину. Индикатором заболевания также может служить наличие жировых глобул (например, отложений жира внутри клеток, не являющихся адипоцитами, таких как вакуоль или капельки триглицерида или некоторых других липидов).

Диагностика нарушений накопления липидов обычно включает подтверждение дефицита специфических ферментов в лейкоцитах периферической крови или в культивированных фибробластах, но может также включать и генетический анализ. Кроме того, первым признаком заболевания могут служить такие наблюдаемые симптомы, как мышечная слабость и т.п.

В других аспектах изобретения способы согласно изобретению включают идентификацию индивидуума, нуждающегося в описанном здесь лечении, например индивидуума с аномальной аккумуляцией липидов, вызываемой, например, неадекватной лептиновой активностью (LD, LR и т.д.) или расстройством, ассоциированным с аномальным накоплением липидов.

Диагноз может быть установлен путем клинической оценки, биопсии, генетического анализа (на мутации, которые являются прогностическим фактором расстройства), молекулярного анализа клеток или тканей и анализов на ферменты (анализов различных клеток или физиологических жидкостей на дефицит фермента). Индивидуум с пониженной лептиновой активностью или нарушением накопления липидов может быть также отобран исходя из имеющихся у него симптомов. Так, например, индивидуум, у которого была диагностирована болезнь Гоше, может быть отобран по увеличению селезенки и печени, по печеночной недостаточности, по наличию заболеваний скелета и повреждению костей, которые могут вызывать боли и переломы, по тяжелым неврологическим осложнениям, по опуханию лимфоузлов и (иногда) близко расположенных суставов, по увеличению объема брюшины, по коричневатому оттенку кожи, по наличию анемии, по низкому числу тромбоцитов в крови и по желтым пятнам в глазах, и/или по наличию дефицита фермента глюкоцереброзидазы.

Биопсия, проводимая для диагностики нарушения накопления липидов, включает взятие у индивидуума небольшого образца печени или другой ткани и ее анализ под микроскопом или количественные/качественные анализы образца ткани. При проведении этой процедуры врач делает местную анестезию и берет небольшой кусочек ткани либо хирургическим путем, либо с помощью игольной биопсии (небольшой кусочек ткани берут путем протыкания кожи тонкой полой иглой). Затем образец ткани анализируют, например, на отложение липидов или на ферментативную активность. Кроме того, но необязательно, для того чтобы определить, имеется ли у индивидуума мутированный ген, вызывающий данное расстройство, может быть проведен генетический анализ на присутствие у индивидуума нарушения накопления липидов/гликогена.

Благоприятными эффектами, достигаемыми после введения описанных здесь активных агентов, является ослабление одного или более симптомов LD, LR, LDLA, LRLA или нарушения накопления липидов; снижение накопления липидов, либо ускоренное снижение, либо увеличение степени такого снижения по сравнению с ситуацией, наблюдаемой в отсутствии введения OCS.

Репрезентативными благоприятными эффектами являются, но не ограничиваются ими, снижение уровней липидов, например, в сыворотке, в клетках (таких как клетки печени) и т.п. у индивидуума, и/или снижение жира в печени, например снижение по меньшей мере приблизительно на 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или даже на 100% по сравнению с уровнем, наблюдаемым у соответствующего контрольного индивидуума или у индивидуумов, которым не вводили описанные здесь активные агенты. При этом может также наблюдаться потеря массы и/или стабилизация массы.

В некоторых аспектах изобретения способы также включают мониторинг эффекта введения OCS индивидууму. В соответствии с этим после начала проведения схемы введения OCS могут быть проведены наблюдения, оценка, измерения или мониторинг одного или более симптомов обсуждаемых здесь заболеваний/расстройств, а затем может быть определена степень тяжести заболевания, наличие или стадия развития симптомов заболевания, после чего может быть проведено сравнение с ранее наблюдаемыми параметрами (до проведения лечения или на ранней стадии такого лечения). Кроме того, этим способом может быть проведен мониторинг одного или более признаков LD или LR или нарушения накопления липидов. Так, например, в некоторых случаях введение OCS приводит к снижению аккумуляции липидов в клетках, тканях или органах, например в печени; к снижению размера и/или числа отложений липидов, наблюдаемых до лечения; и/или к предупреждению дальнейшего увеличения размера и/или числа отложений липидов; к снижению уровня холестерина в сыворотке; к снижению уровня триглицеридов в плазме; и/или к снижению уровня свободных жирных кислот. После анализа полученных результатов специалист может продолжить назначенное лечение и, например, скорректировать соответствующую дозу OCS. Так, например, дозу обычно увеличивают, если симптомы не поддаются эффективному лечению, или снижают (или прерывают введение дозы), если симптомы уже не наблюдаются или ослабляются до предварительно определенного нужного или целевого уровня и т.п. Для пациентов с генетической предрасположенностью к заболеванию, которое связано с нежелательной, аномальной и опасной для здоровья аккумуляцией липидов, лечение может проводиться на протяжении всей жизни.

Индивидуумами, у которых наблюдается благоприятный эффект от введения OCS, такого как 25HC3S, являются индивидуумы, у которых обнаруживаются или предположительно имеются симптомы или состояния, ассоциированные с LD, LR или с нарушением накопления накоплением липидов, где термин "ассоциированное с..." относится, например, к нежелательным симптомам, представляющим угрозу для жизни. Эти симптомы обычно наблюдаются у индивидуумов, у которых были диагностированы

LD, LR, LDLA, LRLA или нарушения накопления липидов. В некоторых аспектах изобретения такие симптомы вызываются нарушением лептиновой активности или нарушением накопления липидов, могут присутствовать в комбинации с дефицитом лептиновой активности или с нарушением накопления липидов или могут даже вызывать дефицит лептиновой активности или нарушение накопления липидов. В некоторых аспектах изобретения таким ассоциированным состоянием является LD- или LR-ассоциированная гиперлипидемия.

Термин "LD- или LR-ассоциированная гиперлипидемия" означает состояние, при котором наблюдаются аномально повышенные уровни любых или всех липидов и/или липопротеинов в крови индивидуума с LD или LR. В других аспектах изобретения таким ассоциированным состоянием является аномальное отложение липидов, вызываемое нарушением накопления липидов (LSD), например, в ткани центральной или периферической нервной системы. Липидами и липидными композициями, которые могут присутствовать у индивидуума на высоком уровне и могут снижаться после проведения описанного здесь лечения, являются, но не ограничиваются ими, хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности, липопротеины средней плотности, липопротеины низкой плотности (ЛНП), липопротеины высокой плотности (ЛВП) и сфинголипиды, а также их отложения или глобулы. В частности, известно, что повышение уровня холестерина (гиперхолестеринемия) и триглицеридов (гипертриглицеридемия) являются фактором риска развития заболеваний кровеносных сосудов и сердечно-сосудистых заболеваний и вызывают развитие атеросклероза. Повышение уровней липидов может также вызывать у индивидуума предрасположенность к другим состояниям, таким как острый панкреатит. Способы согласно изобретению могут быть также применены для лечения или профилактики состояний, ассоциированных с повышением уровней липидов, и такими состояниями являются, например, но не ограничиваются ими, гиперлипидемия, гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия, жирная печень (печеночный стеатоз), сердечно-сосудистые заболевания в комбинации с метаболическим синдромом, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, острый панкреатит, различные метаболические расстройства, такие как синдром инсулинорезистентности, диабет, синдром поликистоза яичника, жирная печень, кахексия, ожирение, атеросклероз, артериосклероз, инсульт, желчные камни, воспалительное заболевание кишечника и т.п. Кроме того, различными состояниями, ассоциированными с гиперлипидемией, являются состояния, описанные в выданных патентах США 8003795 (Liu, et al.) и 8044243 (Sharma, et al.), полное содержание которых во всей своей полноте вводится в настоящее описание посредством ссылки.

Вообще говоря, термины "профилактический" или "профилактика" относятся к снижению вероятности развития у пациента расстройства или симптома, ассоциированного с LD, такого как LDLA, или ассоциированного с LR, такого как LRLA, или с нарушением накопления липидов. Так, например, указанные способы могут быть использованы в профилактических целях для сохранения здоровья пациента и предупреждения распространения или прогрессирования заболевания у пациента. Следует также отметить, что различные способы лечения или профилактики заболевания могут означать "эффективное" лечение или предупреждение заболевания, которое включает полное, а также почти полное излечение или предупреждение, в результате которых достигается определенный биологически или клинически релевантный эффект, например ослабление и/или устранение симптомов заболевания, улучшение качества жизни и т.п. Кроме того, лечение или терапия, а также ослабление симптомов может означать терапевтическое лечение и профилактические или превентивные меры, направленные на предупреждение или замедление (снижение скорости) прогрессирования патологического состояния, расстройства или заболевания у индивидуума. Так, например, лечение считается успешным, если после введения индивидууму эффективного или терапевтического количества 25HC3S, у данного индивидуума наблюдается явное и/или заметное снижение или отсутствие одного или более признаков и симптомов LD-ассоциированного заболевания или состояния, LR-ассоциированного заболевания или состояния или нарушения накопления липидов, и/или снижения показателя заболеваемости и смертности, и/или улучшение качества жизни.

В одном из аспектов изобретения индивидуумом, подвергаемым лечению, является индивидуум, у которого отсутствует лептиновая активность в результате одной или более генетических аномалий. Так, например, индивидуумы с одной или более мутациями в гене Ob(lep), который кодирует рецептор лептина, или с мутацией в гене LEP, кодирующем лептин, могут быть подвергнуты лечению описанными здесь способами. Рецептор лептина присутствует в гипоталамусе, и индивидуумы с мутациями в этом рецепторе, в частности индивидуумы, которые являются гомозиготными по этим мутациям, обычно страдают ожирением и другими тяжелыми заболеваниями, представляющими угрозу для жизни и ухудшающими качество жизни, и такие заболевания проявляются в очень раннем возрасте. Ассоциированными симптомами являются хроническая булимия (гиперфагия); ожирение; аномальное поведение во время еды (например, борьба с другими детьми за еду; запасание еды; тайное поедание пищи и т.п.); гипогонадотропный гипогонадизм (пониженное продуцирование гормонов, ответственных за половое развитие, что может замедлять или прекращать половое созревание и может вызывать бесплодие); повышенная чувствительность к инфекциям Entamoeba histolytica и т.п. Аналогичные симптомы могут наблюдаться у индивидуумов с мутациями в гене LEP.

В одном из своих аспектов, относящихся к лечению, предупреждению или устранению этих сим-

птомов, индивидуумом, подвергаемым лечению описанными здесь способами, является ребенок (даже очень маленький ребенок, такой как новорожденный или младенец), у которого проведенный тест был положительным на мутацию в гене, кодирующем лептин или рецептор лептина, и/или ребенок, у которого наблюдались один или более дополнительных симптомов дефицита лептиновой активности. Тест на мутации рецептора лептина может быть осуществлен во время родов или до родов, например, путем амниоцентеза матки или другим подходящим методом, или после родов с применением известных методов генетического анализа. Альтернативно, генетический анализ, который был проведен у одного или обоих родителей, и результаты которого указывали на высокую вероятность наличия в плоде/у младенца мутации лептина или рецептора лептина, независимо от теста, проводимого у младенца/плода per se, может также указывать на целесообразность введения OCS, такого как 25HC3S. Введение OCS может быть осуществлено, например, сразу после родов или даже до родов. Так, например, OCS может быть введен беременной женщине, в плоде которого была диагностирована мутация рецептора лептина, в целях воздействия агента на плод или его контактирования с плодом во время беременности. Альтернативно или дополнительно, OCS может быть введен кормящей матери такого индивидуума для повышения уровней OCS в грудном молоке для кормления младенца, либо OCS может быть введен некоторыми другими подходящими способами.

Используемый здесь термин "плод" означает нерожденное потомство млекопитающего; термин "новорожденный" относится к новорожденному ребенку или младенцу в возрасте менее чем один месяц; термин "младенец" относится к ребенку в возрасте от 1 месяца до 2 лет; термин "ребенок" относится к человеку, еще не достигшему возраста половой зрелости (в начальном периоде полового развития); термин "подросток" относится к человеку, находящемуся в пубертатном периоде развития вплоть до совершеннолетия; термин "взрослый" относится к человеку зрелого возраста, полностью способному к деторождению (или к человеку, который должен быть способным к деторождению, но не может осуществлять таких функций из-за аномалий или нарушения физического состояния, такого как генетически индуцированные LD, LR или LSD), например этот термин относится к человеку в возрасте по меньшей мере приблизительно 13 лет. Для специалиста в данной области очевидно, что эти или аналогичные термины могут относиться и к млекопитающим, которые не являются человеком, и которые могут быть подвергнуты лечению описанными здесь способами.

В другом аспекте изобретения индивидуумом, подвергаемым лечению, является индивидуум, страдающий врожденным нарушением накопления липидов. Такие расстройства обычно характеризуются нежелательным или аномальным накоплением (нежелательной или аномальной аккумуляцией) липидов в клетках или тканях. Расстройствами, ассоциированными с накоплением липидов, являются, например, заболевание, ассоциированное с накоплением нейтральных липидов, болезнь Гоше, болезнь Ниманна-Пика, болезнь Фабри, болезнь Фарбера, ганглиозидозы, такие как GM1-ганглиозидоз и GM2-ганглиозидоз (например, болезнь Тея-Сакса и болезнь Сандхоффа), болезнь Краббе, метахроматическая лейкодистрофия (МЛД, включая МЛД детей позднего младенческого возраста, ювенильная MLD и MLD взрослых) и расстройства, ассоциированные с дефицитом кислой липазы, такие как болезнь Вольмана и заболевание, ассоциированное с накоплением холестерилового сложного эфира. Каждое из этих заболеваний вызывается по меньшей мере одной генетической мутацией, приводящей к образованию нефункционального фермента или фермента с нарушенной функцией, участвующего в аномальном накоплении липидов. Примеры таких заболеваний описаны ниже.

Болезнь Гоше, т. е. заболевание, ассоциированное с накоплением лизосом, вызывается дефицитом фермента глюкоцереброзидазы (глюкозилцерамидазы) и характеризуется накоплением сфинголипидов в клетках и органах.

Болезнь Фарбера, т.е. заболевание, ассоциированное с накоплением лизосом, вызывается дефицитом церамидазы, что приводит к накоплению жирных липидов и к развитию аномалий в суставах, печени, горле, тканях и в центральной нервной системе.

Болезнь Ниманна-Пика представляет собой заболевание, ассоциированное с накоплением лизосом, при котором жир сфингомиелин аккумулируется в лизосомах. Болезни типа A и B вызываются мутациями в гене, кодирующем фермент кислую сфингомиелиназу. Болезнь типа C вызывается мутацией в гене, кодирующем транспортный белок эндосомно-лизосомной системы.

Болезнь Вольмана вызывается мутацией в гене, кодирующем лизосомную кислую липазу (LAL или LIPA) и представляет собой нарушение накопления лизосом. Поздняя форма такого заболевания известна как заболевание, ассоциированное с аномальным накоплением холестерилового сложного эфира.

Метахроматическая лейкодистрофия, т.е. заболевание, ассоциированное с накоплением лизосом, вызывается дефектом в гене, кодирующем арилсульфатазу A, что приводит к аккумуляции жиров, называемых сульфатидами, в клетках.

Болезнь Фабри, т.е. заболевание, ассоциированное с накоплением лизосом, вызывается мутацией в гене, кодирующем α-галактозидазу A, что приводит к аккумуляции глоботриозилцерамида (Gb3, GL-3 или тригексозида церамида) в кровеносных сосудах, в других тканях и органах.

Заболевание, ассоциированное с накоплением нейтральных липидов, а именно заболевание подтипа миопатии (NLSD-M), вызывается мутациями потери функции в гене PNPLA2, кодирующем триглице-

ридлипазу жировой ткани (ATGL, известную как деснутрин).

Ганглиозидоз представляет собой заболевание, принадлежащее к субкатегории сфинголипидозов и включает расстройства, ассоциированные с накоплением липидов двух различных типов, вызываемых аккумуляцией липидов, известных как ганглиозиды. GM1-ганглиозидозы вызываются дефицитом β-галактозидазы, что приводит к аномальному накоплению кислотных липидных продуктов в клетках центральной и периферической нервной системы, в частности в нервных клетках. GM2-ганглиозидозы вызываются дефицитом β-гексозаминидазы, которая катализирует биологическое разложение производных жирных кислот, известных как ганглиозиды. Так, например, болезнь Тея-Сакса вызывается мутациями в гене HEXA (кодирующем α-субъединицу β-N-ацетилгексозаминидазы A, лизосомного фермента), что приводит к аномалиям в генном продукте.

В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является заболевание, ассоциированное с накоплением нейтральных липидов (NLSD) (также известное как "синдром Шанарина-Дорфмана"). NLSD представляет собой аутосомно-рецессивное расстройство, при котором наблюдается аномальное накопление липидов в органах и тканях всего организма, характеризующееся аккумуляцией триглицеридов в цитоплазме лейкоцитов, в мышцах, в печени, в фибробластах и в других тканях. Индивидуумы с NLSD страдают сердечной и скелетной миопатией и печеночным стеатозом, вызываемыми аккумуляцией жиров в мышечной ткани. Другими признанками NLSD являются жирная печень, "слабое сердце" и гипертрофированное сердце (кардиомиопатия), воспаление поджелудочной железы (панкреатит) и снижение активности щитовидной железы (гипотиреоидит). Мутации в белке CGI-58, регулирующем уровень триглицерид-липазы адипоцитов (ATGL), вызывают NLSD-I, а также дополнительные симптомы, ассоциированные с неврологическими дефектами (Lefevre et al., Am. J. Hum. Genet. 2001). В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является заболевание, ассоциированное с накоплением нейтральных липидов, а также миопатией (NLSD-M). Мутации в гене PNPLA2 вызывают NLSD-M, которые характеризуются более тяжелой миопатией, чем NLSD. Ген PNPLA2 кодирует фермент триглицерид-липазу жировой ткани (ATGL), который играет определенную роль в разрушении триглицеридов, т.е. главного источника запасной энергии в клетках. Мутации в гене PNPLA2 нарушают способность фермента ATGL ингибировать триглицериды, что приводит к аккумуляции этих триглицеридов в мышцах и тканях всего организма и к появлению признаков и симптомов заболевания, ассоциированного с накоплением липидов, в комбинации с миопатией. Два из шести пациентов с NLSD-M умирают от сердечной недостаточности (Fischer et al., Nat. Genet. 2007).

В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является болезнь Ниманна-Пика. Болезнь Ниманна-Пика принадлежит к группе аутосомно-рецессивных расстройств, вызываемых аккумуляцией жира и холестерина в клетках печени, селезенки, костного мозга, легких, а у некоторых пациентов в клетках головного мозга. Неврологическими осложнениями могут быть атаксия, паралич глаз, дегенерация головного мозга, проблемы с обучением, спазмы, затруднения приема пищи и ее проглатывания, невнятная речь, потеря мышечного тонуса, гиперчувствительность к прикосновениям и небольшое помутнение роговицы. У 50% пациентов с таким заболеванием вокруг центра сетчатки появляется характерное гало вишнево-красного цвета.

В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является болезнь Гоше. Болезнь Гоше представляет собой наиболее распространенное заболевание, ассоциированное с накоплением липидов, и вызывается дефицитом фермента глюкоцереброзидазы. При этом часто происходит накопление жирных веществ в селезенке, печени, почках, легких, головном мозге и в костном мозге. Симптомами могут быть увеличение селезенки и печени; печеночная недостаточность; заболевания скелета и повреждение костей, которые могут вызывать боли и переломы, тяжелые неврологические осложнения; опухание лимфоузлов и (иногда) близко расположенных суставов; увеличение объема брюшины; коричневатый оттенок кожи; анемия; низкое число тромбоцитов в крови и желтые пятна в глазах. Пациенты с наиболее тяжелой формой такого заболевания могут быть также более восприимчивыми к инфекции. Это заболевание встречается в равной степени как у мужчин, так и у женщин.

Болезнь Гоше имеет три основных клинических подтипа. Наиболее распространенной формой такого заболевания является заболевание типа 1 (или неневропатического типа). Наиболее часто оно наследуется у евреев ашкенази.

Симптомы болезни Гоше могут появляться в раннем и в зрелом возрасте, и такими симптомами являются увеличение печени и гипертрофия селезенки, которая может разрываться и давать другие осложнения. В этом случае может наблюдаться слабость скелетных мышц и обширное поражение костей. При этом головной мозг не поражается, но могут поражаться легкие и, в редких случаях, почки. У пациентов с заболеванием этой группы часто возникают гематомы из-за низкого числа тромбоцитов в крови и усталость вследствие анемии. В зависимости от начала развития и тяжести заболевания пациенты с заболеванием типа 1 могут чувствовать себя хорошо вплоть до зрелого возраста. Многие пациенты имеют легкую форму заболевания либо у них вообще могут отсутствовать какие-либо симптомы. Заболевание типа 2

(или острая невропатическая болезнь Гоше у детей) обычно проявляется у детей через 3 месяца после рождения. Симптомами являются увеличение печени и селезенки, аномальное движение глаз, обширное и прогрессирующее поражение головного мозга, спазмы, эпилептические припадки, ригидность конечностей и затруднения в сосании и проглатывании пищи. Дети с таким заболеванием обычно умирают в возрасте до 2 лет. Заболевание типа 3 (хроническая невропатическая форма) может проявляться в любом возрасте как у детей, так и у взрослых. Это заболевание, в отличие от острой формы болезни Гоше и болезни Гоше типа 2, характеризуется медленным прогрессированием и более слабыми неврологическими симптомами. Основными симптомами являются увеличение селезенки и/или печени, эпилептические припадки, плохая координация, аномалии скелета, аномальное движение глаз, болезни крови, включая анемию, и респираторные заболевания. Эти пациенты часто доживают до возраста 10-12 лет, а в некоторых случаях до зрелого возраста.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения согласно изобретению вводят в комбинации с другими методами терапии, которые, как известно, являются эффективными для лечения данного расстройства. Так, например, пациентам с болезнью Гоше типа 1 и наиболее распространенного типа 3 может быть проведена фермент-заместительная терапия, включающая внутривенное введение фермента через каждые две недели, что может способствовать резкому снижению размера печени и селезенки, устранению скелетных аномалий и других манифестаций. В редких случаях может потребоваться хирургическая операция по удалению селезенки (если пациент страдает анемией, или если увеличение размера органа негативно влияет на качество жизни пациента). У некоторых пациентов с анемией может оказаться эффективным переливание крови. Другим пациентам может потребоваться хирургическая операция по замене сустава, что будет улучшать подвижность и качество жизни.

В настоящее время болезнь Ниманна-Пика подразделяется на четыре категории. Болезнь типа А, т.е. самая тяжелая ее форма, проявляется в раннем детстве. При таком заболевании дети рождаются здоровыми, но затем у них наблюдается увеличение размера печени и селезенки, опухание лимфоузлов, появление подкожных узелков (ксантом) и прогрессирующее поражение головного мозга в возрасте 6 месяцев. В этом случае селезенка может увеличиваться в 10 раз и может разрываться. У этих детей наблюдается прогрессирующая слабость, потеря двигательной функции, может наблюдаться анемия и чувствительность к рецидивирующей инфекции. Такие дети редко живут более 18 месяцев. Эта форма заболевания часто наблюдается в еврейских семьях. Во второй группе, называемой заболеванием типа В (или ювенильным заболеванием), увеличение печени и селезенки чаще всего проявлется в возрасте до 10-12 лет. У большинства пациентов также развивается атаксия, периферическая невропатия и болезнь легких, которая прогрессирует с возрастом, но при этом головной мозг обычно не поражается. Пациенты с заболеванием типа В могут жить относительно долго, но из-за повреждения легких им может потребоваться кислород-заместительная терапия. Болезнь Ниманна-Пика типа А и В вызывается аккумуляцией жирных веществ, называемых сфингомиелином, что обусловлено дефицитом фермента сфингомиелиназы.

Болезнь Ниманна-Пика также включает две другие формы, называемые С и D. Эти заболевания могут развиваться на раннем этапе, либо они могут развиваться в возрасте 10-12 лет или даже в более зрелом возрасте. Болезнь Ниманна-Пика типа С и D вызывается не дефицитом сфингомиелиназы, а отсутствием белков NPC1 или NPC2. В результате этого внутри нервных клеток аккумулируются различные липиды, в частности холестерин, что приводит к нарушению функции этих клеток. У пациентов с болезнью типа С и D наблюдается лишь небольшое увеличение селезенки и печени. Поражение головного мозга может быть обширным, что будет приводить к неспособности переводить взгляд вверх и вниз, к затруднению передвижения и глотания и к прогрессирующей потере зрения и слуха. У пациентов с болезнью типа D неврологические симптомы обычно развиваются позже, чем у пациентов с болезнью типа С, и у этих пациентов наблюдается постепенная, но более медленная потеря нервной функции. У большинства пациентов с болезнью типа D имеются общие предки, проживающие в Новой Шотландии. Продолжительность жизни пациентов с болезнью типа С и D значительно варьируется. Некоторые пациенты умирают в детском возрасте, а другие пациенты с менее тяжелой формой заболевания могут прожить до зрелого возраста. Дети обычно умирают от инфекции или от прогрессирующей потери нервной функции.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения согласно изобретению вводят в комбинации с другими методами терапии, например пациентам с заболеванием типа С и D часто назначают диету с низким содержанием холестерина и/или прием лекарственных средств, снижающих уровень холестерина, хотя проведенные исследования показали, что такие меры не приводят к устранению аномального метаболизма холестерина или к прекращению прогрессирования данного заболевания.

В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является болезнь Фабри. Болезнь Фабри, также известная как дефицит α-галактозидазы А, приводит к накоплению жировых веществ в вегетативной нервной системе, в глазах, почках и сердечно-сосудистой системе. Болезнь Фабри представляет собой заболевание, ассоциированное с накоплением только Х-сцепленных липидов. Таким заболеванием страдают, главным образом, мужчины, хотя более слабая ее форма встречается и у женщин. Иногда у женщин с таким заболеванием наблюдаются тяжелые манифестации, аналогичные манифестациям, наблюдаемым у мужчин. Начальные симптомы обычно проявляются у детей или подростков. Неврологическими признаками являются жгучая боль в руках и

ногах, которая усиливается в жаркую погоду или после физических упражнений, а также накопление избыточного количества вещества в прозрачных слоях роговицы (приводящее к помутнению роговицы, но не влияющие на зрение). Накопление жирных веществ в стенках кровеносных сосудов может нарушать кровообращение и повышать риск развития у пациента инсульта или инфаркта. Другими манифестациями являются гипертрофия сердца, прогрессирующее поражение почек, приводящее к почечной недостаточности, нарушение функции желудочно-кишечного тракта, снижение потливости и лихорадка. У пациентов с таким заболеванием в нижней части туловища могут образовываться ангиокератомы (небольшие нераковые утолщения на коже в виде пятен красновато-пурпурного цвета), и с возрастом таких ангиокератом становится все больше. Пациенты с болезнью Фабри чаще всего умирают от осложнений, вызываемых болезнью сердца, почечной недостаточностью или инсультом.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения вводят в комбинации с другими методами терапии, например пациентам часто назначают такие лекарственные средства, как фенитоин и карбамазепин для купирования болей, появляющихся при болезни Фабри, а прием метоклопрамида или липисорба (питательной добавки) может облегчать расстройство желудочно-кишечного тракта, которое часто наблюдаются у пациентов с болезнью Фабри, тогда как некоторым индивидуумам могут потребоваться трансплантация почек или диализ. У пациентов с болезнью Фабри фермент-заместительная терапия может снижать уровень накопления липидов, облегчать боли и улучшать функцию органов.

Болезнь Фарбера, также известная как липогранулематоз Фарбера, принадлежит к группе редких аутосомно-рецессивных расстройств, вызывающих аккумуляцию жирных веществ в суставах, тканях и в центральной нервной системе. Такое расстройство встречается как у мужчин, так и у женщин. Начало заболевания обычно проявляется в раннем возрасте, но может возникать и в более старшем возрасте. У детей с классической формой болезни Фарбера, неврологические симптомы могут развиваться уже в первые несколько недель. Такими симптомами могут быть небольшое нарушение умственных способностей и затруднения при глотании. При таком заболевании может наблюдаться поражение печени, сердца и почек. Другими симптомами могут быть рвота, артрит, опухание лимфоузлов, опухание суставов, разрежение суставов (хроническое ослабление мышц или сухожилий вокруг суставов), хрипота и ксантомы, которые утолщаются вокруг суставов по мере прогрессирования заболевания. Пациентам с затруднениями дыхания может потребоваться введение дыхательной трубки. Большинство детей, страдающих таким заболеванием, умирают в возрасте 2 лет, обычно от болезни легких. В случае одной из наиболее тяжелых форм такого заболевания, увеличение печени и селезенки (гепатоспленомегалия), может диагностироваться вскоре после родов. Ребенок, родившийся с такой формой заболевания, обычно умирает в возрасте 6 месяцев.

Болезнь Фарбера вызывается дефицитом фермента, называемого церамидазой. В настоящее время какого-либо конкретного способа лечения болезни Фарбера не существует. Для ослабления боли могут быть введены кортикостероиды. Для удаления гранулем (небольших масс воспаленной ткани),у пациентов с незначительными осложнениями в области легких или нервной системы или у пациентов с отсутствием таких осложнений может быть проведена трансплантация костного мозга. У пожилых пациентов гранулемы могут быть уменьшены или удалены хирургическим путем.

В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является ганглиозидоз. Ганглиозидозы подразделяются на две различные группы генетических заболеваний. Оба эти заболевания являются аутосомно-рецессивными, и ими страдают в равной степени как мужчины, так и женщины. GM1-ганглиозидозы вызываются дефицитом фермента β-галактозидазы, что приводит к аномальному накоплению кислотных липидных веществ, в частности, в нервных клетках центральной и периферической нервной системы. GM1-ганглиозидоз имеет три клинических формы: GM1-ганглиозидоз детей раннего младенческого возраста, детей позднего младенческого возраста и взрослых. Признаками GM1-ганглиозидоза детей раннего младенческого возраста (подтипа с наиболее тяжелой формой, проявляющейся сразу после родов) могут быть нейродегенерация, эпилептические припадки, увеличение печени и селезенки, огрубление кожи лица, аномалии скелета, тугоподвижность суставов, увеличение размера брюшины, мышечная слабость, усиленный старт-ответ и проблемы с двигательной активностью. Приблизительно у половины пациентов, страдающих таким заболеванием, на глазах появляются пятна вишнево-красного цвета. У детей в возрасте 1 год может появляться глухота и слепота, а дети в возрасте 3 лет в большинстве случаев умирают от осложнений на сердце или от пневмонии. GM1-ганглиозидоз у детей позднего младенческого возраста обычно проявляется в возрасте от 1 до 3 лет. Неврологическими признаками этого заболевания являются атаксия, эпилептические припадки, деменция и затруднения речи. GM1-ганглиозидоз у детей более старшего возраста и у взрослых проявляется в возрасте от 3 до 30 лет. Симптомами этого заболевания являются атрофия мышц, неврологические осложнения, которые являются менее тяжелыми и прогрессируют более медленно, чем при других формах этого расстройства, а у некоторых пациентов наблюдаются помутнение роговицы и дистония (замедленное сокращение мышц, приводящее к конвульсивным и стереотипным движениям или к нарушению осанки).

В нижней части тела могут появляться ангиокератомы. У большинства пациентов печень и селезенка имеют нормальные размеры.

GM2-ганглиозидозы также вызывают накопление в организме избыточного количества кислотных жировых веществ в тканях и клетках, а чаще всего в нервных клетках. Эти расстройства вызываются дефицитом фермента β-гексозаминидазы. GM2-расстройствами являются болезнь Тея-Сакса и Сандхоффа.

Болезнь Тея-Сакса (также известная как GM2-ганглиозидоз варианта B). Болезнь Тея-Сакса и ее варианты вызываются дефицитом фермента гексозаминидазы A. В частности, случаи заболевания такой болезнью были зарегистрированы, в основном, у жителей Восточной Европы и у евреев ашкенази, а также в некоторых регионах французской Канады и у каджунов, т.е. у жителей штата Луизиана. Дети с таким заболеванием развиваются нормально в первые несколько месяцев жизни. Симптомы начинают проявляться в возрасте 6 месяцев, и такими симптомами являются прогрессирующая потеря умственных способностей, деменция, пониженный визуальный контакт, повышенный старт-рефлекс на шум, прогрессирующая потеря слуха, приводящая к глухоте, затруднения глотания, слепота, вишнево-красные пятна на сетчатке глаза и частичный паралич. У детей на втором году жизни могут появляться эпилептические припадки. В конечном счете, таким детям может потребоваться питание через трубку, а в возрасте 4 года они могут умереть от рецидивирующей инфекции. Какого-либо конкретного способа лечения такого заболевания не существует. Для снятия эпилептических припадков на ранней стадии заболевания могут потребоваться противосудорожные препараты. Другая поддерживающая терапия включает правильное питание и терапию с целью предотвращения обезвоживания организма и средства для поддерживания дыхания. Более редкая форма расстройства Тея-Сакса, называемая болезнью Тея-Сакса позднего развития, встречается у пациентов в двадцать лет и в начале их тридцатилетия и характеризуется неустойчивостью походки и прогрессирующим неврологическим расстройством.

Болезнь Сандхоффа (вариант AB). Это заболевание представляет собой тяжелую форму болезни Тея-Сакса. Обычно такое заболевание развивается в возрасте 6 месяцев и не ограничивается какой-либо этнической группой. Неврологическими признаками могут быть прогрессирующее разрушение центральной нервной системы, снижение двигательной активности, ранняя слепота, быстрый старт-ответ на звук, спазмы, синдром пляшущих глаз (сокращение мышц, напоминающее состояние шока), эпилептические припадки, макроцефалия (аномальное увеличение размера головы) и вишнево-красные пятна на сетчатке глаза. Другими симптомами могут быть частые респираторные инфекции, шумы в сердце, "кукольное личико" и увеличенная печень и селезенка. Какого-либо конкретного способа лечения такого заболевания не существует. Как и в случае болезни Тея-Сакса, поддерживающая терапия включает правильное питание и меры по предотвращению обезвоживания организма. Для снятия эпилептических припадков на ранней стадии заболевания могут потребоваться противосудорожные препараты. Обычно дети с таким заболеванием умирают в возрасте 3 лет от респираторных инфекций.

В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является болезнь Краббе. Болезнь Краббе (также известная как глобоидно-клеточная лейкодистрофия и галактозилцерамидный липидоз) представляет собой аутосомно-рецессивное расстройство, вызываемое дефицитом фермента галактоцереброзидазы. Это заболевание часто появляется у детей в возрасте до 6 месяцев, но оно может наблюдаться у подростков или взрослых. Накопление нерасщепленных жиров приводит к увеличению миелинового протективного слоя нервной ткани и вызывает тяжелое расстройство умственных способностей и двигательной активности. Другими симптомами являются мышечная слабость, гипертония (пониженный мышечный тонус), синдром пляшущих глаз (внезапное сокращение мышц, напоминающее состояние шока), спазмы, раздражительность, повышение температуры по неизвестным причинам, глухота, атрофия зрительного нерва, слепота, паралич и затруднение глотания. Может также наблюдаться постепенная потеря массы тела. Это заболевание может быть диагностировано по характерной способности клеток образовывать глобоидные тельца в белом веществе головного мозга, по демиелинизации нервов и по дегенерации и деструкции клеток головного мозга. У детей с таким заболеванием, смерть обычно наступает в возрасте до 2 лет. У пациентов с более поздним началом развития заболевания наблюдается более легкая форма заболевания, и эти пациенты живут значительно дольше.

В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является метахроматическая лейкодистрофия (MLD). MLD принадлежит к группе расстройств, характеризующихся избыточным накоплением липидов в белом веществе центральной нервной системы, в периферических нервах и в некоторой степени в почках. По аналогии с болезнью Краббе MLD поражает миелиновую оболочку, которая покрывает нервы и обеспечивает их защиту. Это аутосомно-рецессивное расстройство вызывается дефицитом фермента арилсульфатазы A. Таким заболеванием страдают как мужчины, так и женщины.

MLD имеет три характерных фенотипа: MLD детей позднего младенческого возраста, ювенильная MLD и MLD взрослых. Наиболее распространенная форма такого заболевания наблюдается у детей позднего младенческого возраста, которая проявляется обычно через 12-20 месяцев после рождения. Младенцы сначала выглядят здоровыми, но уже в возрасте до 2 лет у них появляются затруднения в передвижении и частые падения, а затем периодические боли в руках и ногах; прогрессирующая потеря зрения, приводящая к слепоте; задержка развития; затруднение глотания; судороги и деменция. У таких детей также наблюдается постепенное истощение мышечной массы и слабость мышц и в конечном счете

утрата способности к передвижению. Большинство детей с этой формой расстройства умирает в возрасте 5 лет. Симптомы ювенильной формы заболевания обычно проявляются в возрасте от 3 до 10 лет. Такими симптомами являются снижение успеваемости в школе, ухудшение познавательной способности, атаксия, эпилептические припадки и деменция. Эти симптомы прогрессируют и приводят к летальному исходу через 10-20 лет после начала развития заболевания. В случае заболевания у взрослых симптомы проявляются после 16 лет, и такими симптомами могут быть пониженная концентрация внимания, депрессия, психические расстройства, атаксия, эпилептические припадки, тремор и деменция. Смерть обычно наступает через 6-14 лет после начала проявления этих симптомов.

В некоторых случаях для замедления прогрессирования заболевания может быть проведена трансплантация костного мозга. Значительный прогресс был достигнут после разработки методов генотерапии, проводимой на животных с моделью MLD.

В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является болезнь Вольмана. Болезнь Вольмана, также известная как дефицит кислой липазы, представляет собой тяжелое расстройство, ассоциированное с накоплением липидов, которое обычно приводит к летальному исходу в возрасте 1 года. Это аутосомно-рецессивное расстройство вызывается аккумуляцией холестериловых сложных эфиров (обычно транспортной формы холестерина) и триглицеридов (химической формы, ответственной за отложение жиров в организме), которые могут накапливаться в большом количестве в клетках и тканях и способствовать их разрушению. Таким расстройством страдают как мужчины, так и женщины. После родов младенцы выглядят здоровыми и активными, но впоследствии у них быстро развивается прогрессирующее ухудшение умственных способностей, увеличение печени и резкое увеличение селезенки, увеличение размера брюшины, нарушение функции желудочно-кишечного тракта, включая стеаторею (присутствие избыточного количества жиров в стуле), желтуха и анемия, а также появляются рвота и отложение кальция в коре надпочечников, что приводит к их отверждению.

В одном из вариантов осуществления изобретения расстройством, ассоциированным с накоплением липидов, является заболевание, ассоциированное с накоплением холестерилового сложного эфира и характеризующееся дефицитом кислой липазы. Заболевание, ассоциированное с накоплением холестерилового сложного эфира, вызывается накоплением холестериловых сложных эфиров и триглицеридов в клетках крови и лимфы, а также в лимфоидной ткани. У детей с таким заболеванием наблюдается увеличение печени, приводящее к циррозу и к хронической печеночной недостаточности уже до наступления зрелого возраста. У этих детей могут также образовываться отложения кальция в коре надпочечника и впоследствии может развиваться желтуха.

Лечение индивидуумов, страдающих расстройствами, ассоциированными с накоплением накоплением липидов, желательно начинать как можно раньше, и такое лечение и мониторинг его результатов обычно проводят, как описано выше для других заболеваний, характеризующихся аномальной аккумуляцией липидов. Лечение может быть также проведено в комбинации с фермент-заместительной терапией.

В некоторых аспектах изобретения группы индивидуумов, подвергаемых лечению описанными здесь способами, могут иметь или не иметь симптомы заболевания, и/или у них могут быть диагностированы высокие уровни одного или более холестеринов (гиперхолестеринемия, например уровни холестерина в сыворотке в пределах приблизительно 200 мг/дл или более), или состояние, ассоциированное с высоким уровнем холестерина, такое как, например, гиперлипидемия, атеросклероз, болезнь сердца, инсульт, болезнь Альцгеймера, желчекаменные болезни, холестаз печени и т.п. В некоторых аспектах изобретения, группы индивидуумов, подвергнутых лечению описанными здесь способами, могут иметь или не иметь симптомы, и/или у них могут быть диагностирована гипертриглицеридемия или состояние, ассоциированное с гипертриглицеридемией. В некоторых аспектах изобретения группы индивидуумов, подвергаемых лечению описанными здесь способами, не имеют симптомов, и/или у этих индивидуумов не были диагностированы высокие уровни холестерина (гиперхолестеринемия, например уровни холестерина в сыворотке в пределах приблизительно 200 мг/дл или более), или состояние, ассоциированное с высоким уровнем холестерина, такое как, например, гиперлипидемия, атеросклероз, болезнь сердца, инсульт, болезнь Альцгеймера, желчекаменные болезни, холестаз печени и т.п.

В других аспектах изобретения группы индивидуумов, подвергаемых лечению описанными здесь способами, могут иметь или не иметь симптомы, и/или у них могут быть диагностированы расстройства печени, такие как гепатит, воспаление печени, вызываемое, главным образом, различными вирусами, а также некоторыми ядами (например, спиртом); аутоиммунное состояние (аутоиммунный гепатит) или наследственные состояния; неалкогольная жирная печень, т.е. спектр заболеваний, ассоциированных с ожирением и характеризующихся избытком жира в печени, который может приводить к гепатиту, т.е. к стеатогепатиту и/или циррозу; цирроз, т.е. образование фиброзных тканевых рубцов в печени вследствие замещения омертвевших клеток печени (где гибель клеток печени может вызываться, например, вирусным гепатитом, алкоголизмом или контактом с другими химическими веществами, оказывающими токсическое действие на печень); гемохроматоз, т.е. наследственное заболевание, приводящее к аккумуляции железа в организме и, в конечном счете, к поражению печени; рак печени (например, первичная ге-

патоцеллюлярная карцинома или холангиокарцинома и метастазирующий рак, обычно наблюдаемые в других частях желудочно-кишечного тракта); болезнь Вильсона, т.е. наследственное заболевание, вызывающее отложение меди в организме; первичный склерозирующий холангит, т.е. воспалительное заболевание желчных протоков, которое по своей природе, вероятно, является аутоиммунным; первичный билиарный цирроз, т.е. аутоимунное заболевание небольших желчных протоков; синдром Бадда-Киари (закупорка печеночных вен); синдром Гилберта, т.е. генетическое заболевание, ассоциированное с нарушениями метаболизма билирубина и наблюдающееся приблизительно у 5% населения; заболевание, ассоциированное с накоплением гликогена типа II; а также различные детские заболевания печени, включая, например, билиарную атрезию; заболевание, ассоциированное с дефицитом α-1-антитрипсина; синдром Аладжилля и прогрессирующий наследственный холестаз печени и т.п.

Кроме того, может быть также подвергнуто лечению повреждение печени в результате травмы, например повреждение печени в результате несчастных случаев, огнестрельных ран и т.п.

Кроме того, могут быть проведены профилактика или лечение повреждения печени, вызываемого некоторыми лекарственными препаратами, например, такими как лекарственное средство против аритмии, а именно амиодарон, различные противовирусные лекарственные средства (например, нуклеозидные аналоги), аспирин (который употребляется, но редко, при синдроме Рейе у детей), кортикостероиды, метотрексат, тамоксифен, тетрациклин и т.п., которые, как известно, вызывают поражения печени.

В других аспектах изобретения группы индивидуумов, подвергаемых лечению описанными здесь способами, не имеют симптомов, и/или у них могут быть диагностированы расстройства печени, такие как гепатит, воспаление печени, вызываемое, главным образом, различными вирусами, а также некоторыми ядами (например, спиртом); аутоиммунное состояние (аутоимунный гепатит) или наследственные состояния; неалкогольная жирная печень, т.е. спектр заболеваний, ассоциированных с ожирением и характеризующихся избытком жира в печени, который может приводить к гепатиту, т.е. к стеатогепатиту и/или циррозу; цирроз, т.е. образование фиброзных тканевых рубцов в печени вследствие замещения омертвевших клеток печени (где гибель клеток печени может вызываться, например, вирусным гепатитом, алкоголизмом или контактом с другими химическими веществами, оказывающими токсическое действие на печень); гемохроматоз, т.е. наследственное заболевание, приводящее к аккумуляции железа в организме и, в конечном счете, к поражению печени; рак печени (например, первичная гепатоцеллюлярная карцинома или холангиокарцинома и метастазирующий рак, обычно наблюдаемые в других частях желудочно-кишечного тракта); болезнь Вильсона, т.е. наследственное заболевание, вызывающее отложение меди в организме; первичный склерозирующий холангит, т.е. воспалительное заболевание желчных протоков, которое по своей природе, вероятно, является аутоиммунным; первичный билиарный цирроз, т.е. аутоимунное заболевание небольших желчных протоков; синдром Бадда-Киари (закупорка печеночных вен); синдром Гилберта, т.е. генетическое заболевание, ассоциированное с нарушениями метаболизма билирубина и наблюдающееся приблизительно у 5% населения; заболевание, ассоциированное с накоплением гликогена типа II; а также различные детские заболевания печени, включая, например, билиарную атрезию; заболевание, ассоциированное с дефицитом α-1-антитрипсина; синдром Аладжилля; и прогрессирующий наследственный холестаз печени и т.п. Кроме того, может быть также подвергнуто лечению повреждение печени в результате травмы, например повреждение печени в результате несчастных случаев, огнестрельных ран и т.п. Кроме того, могут быть проведены профилактика или лечение повреждения печени, вызываемого некоторыми лекарственными препаратами, например, такими как лекарственное средство против аритмии, а именн, амиодарон, различные противовирусные лекарственные средства (например, нуклеозидные аналоги), аспирин (который употребляется, но редко, при синдроме Рейе у детей), кортикостероиды, метотрексат, тамоксифен, тетрациклин и т.п., которые, как известно, вызывают поражения печени.

В других аспектах изобретения группы индивидуумов, подвергаемых лечению описанными здесь способами, могут иметь или не иметь симптомы заболевания, такого как неалкогольная жирная печень (NAFLD) и/или неалкогольный стеатогепатит (NASH). В других аспектах изобретения группы индивидуумов, подвергаемых лечению описанными здесь способами, не имеют таких симптомов, как неалкогольная жирная печень (NAFLD) и/или неалкогольный стеатогепатит (NASH).

В других аспектах изобретения группы индивидуумов, подвергнутых лечению описанными здесь способами, могут иметь или не иметь симптомы одного или более заболеваний и состояний, вызывающих и/или приводящих к развитию заболеваний, или заболеваний, ассоциированных с такими заболеваниями, как дисфункция/недостаточность органа или системы органов, например дисфункция или недостаточность одного или более органов или систем органов, таких как печень, почки, сердце, головной мозг, поджелудочная железа, сердечно-сосудистая система, органы дыхания, почки, кроветворные органы, нервная система, органы желудочно-кишечного тракта, печень, легкие, тонкий кишечник, толстый кишечник и селезенка, включая такие заболевания, как синдром дисфункции многих органов (MODS) и/или острая печеночная недостаточность и/или почечная недостаточность и дисфункция или недостаточность органов, вызываемая ацетаминофеном (ATMP); ишемия, такая как ишемия сердца, головного мозга, кишечника, конечностей и кожи; воспаление, некроз ткани, некроз органов, инсульт и реперфузи-

онные повреждения; или дисфункция/недостаточность органов, ассоциированная с хирургической операцией на сердечно-сосудистой системе, хирургической операцией на сердце, хирургической операцией по устранению аневризмы, хирургической операцией на печени и хирургической операцией по трансплантации. В других аспектах изобретения группы индивидуумов, подвергнутых лечению описанными здесь способами, не имеют симптомов, и/или у них не были диагностированы симптомы одного или более заболеваний и состояний, вызывающих и/или приводящих к развитию других заболеваний, или заболеваний, ассоциированных с такими заболеваниями, как дисфункция/недостаточность органа или системы органов, например дисфункция или недостаточность одного или более органов или систем органов, таких как печень, почки, сердце, головной мозг, поджелудочная железа, сердечно-сосудистая система, органы дыхания, почки, кроветворные органы, нервная система, органы желудочно-кишечного тракта, печень, легкие, тонкий кишечник, толстый кишечник и селезенка, включая такие заболевания, как синдром дисфункции многих органов (MODS) и/или острая печеночная недостаточность и/или почечная недостаточность и дисфункция или недостаточность органов, вызываемая ацетаминофеном (ATMP); ишемия, такая как ишемия сердца, головного мозга, кишечника, конечностей и кожи; воспаление, некроз ткани, некроз органов, инсульт и реперфузионные повреждения; или дисфункция/недостаточность органов, ассоциированная с хирургической операцией на сердечно-сосудистой системе, хирургической операцией на сердце, хирургической операцией по устранению аневризмы, хирургической операцией на печени и хирургической операцией по трансплантации.

В других аспектах изобретения введение OCS индивидууму, как описано в настоящей заявке, может быть введено отдельно или в комбинации, и в результате такого введения проводят лечение другого вторичного состояния, такого как гиперлипидемия, и/или такое введение может давать благоприятный эффект, а именно снижение уровней внутриклеточных липидов, устранение аккумуляции липидов при NAFLD, ослабление воспаления, ингибирование биосинтеза холестерина, снижение аккумуляции жира в клетках печени, стимуляция пролиферации печени или регенерации ткани печени, ингибирование биосинтеза липидов, снижение уровня холестерина, ослабление воспаления или эффективное лечение, например, диабета, гиперлипидемии, атеросклероза, жирной печени и/или воспалительного заболевания. Однако описанные здесь способы применяются, главным образом, для лечения симптомов заболеваний, ассоциированных с расстройствами, ассоциированными с пониженной лептиновой активностью и/или накоплением липидов у индивидуума, нуждающегося в этом, где указанные симптомы были диагностированы описанными здесь способами независимо от того, имеет ли данный индивидуум другие расстройства или симптомы, и были ли эти "другие расстройства" формально диагностированы.

Используемая здесь транзитивная конструкция "состоящий, в основном, из…" (и другие ее грамматические формы) интерпретируется как включение цитируемых элементов или стадий, которые фактически не влияют на базовый(ые) и новый(ые) признак(и) заявленного изобретения. См., MPEP 2111.03. Таким образом, используемый здесь термин "состоящий, по существу, из…" не является эквивалентным термину "включающий".

Настоящее изобретение более подробно проиллюстрировано на нижеследующих примерах. Эти примеры не ограничивают объем изобретения. Если это не оговорено особо, то все проценты, части и т.п., представленные в примерах, даны по массе.

Примеры

Влияние введения 25HC3S in vivo на симптомы и состояния, ассоциированные с резистентностью к лептину.

Методы.

Испытания на животных.

Для оценки влияния 25HC3S на аккумуляцию липидов в сыворотке и в печени у животных с моделью дефицита лептина (у крыс fa/fa с ожирением) (крыс Zucker), 11-недельные крысы Zucker (Charles River, Wilmington, MA) были произвольно распределены на четыре группы. Крысы fa/fa Zucker имели дефектный рецептор лептина и служили в качестве общей модели дефицита лептиновой активности, вызываемого либо низким уровнем лептина, либо наследственными дефектами рецептора лептина, либо приобретенной резистентностью к лептину, поскольку все эти факторы способствуют ухудшению или нарушению лептиновой активности. Кроме того, у этих животных в первые несколько недель жизни развивается нежелательная аккумуляция липидов, вызываемая генетической мутацией в рецепторе лептина. Все эти крысы содержались в одинаковых условиях смены дня и ночи 12 ч - дневное освещение/12 ч - темнота и имели свободный доступ к воде и корму. Этим крысам (n=5 в каждой экспериментальной группе) перорально через зонд вводили носитель (10% целлюлозу) или 25HC3S (10 мг/кг, 30 мг/кг и 100 мг/кг) один раз в день в течение 21 дня, оставляли на ночь в условиях голодания (14 ч) до сбора образцов. Для сравнения эффектов введения через зонд другим крысам (n=10-17 в каждой экспериментальной группе) внутрибрюшинно вводили раствор носителя (этанол/PBS; носитель) или 25HC3S (50 мг/кг) через каждые три дня в течение 6 недель и оставляли на ночь в условиях голодания (14 ч). Перед умерщвлением крыс брали пробы крови. Затем оценивали уровни триглицерида (TG), общего холестерина (CHOL), холестерина липопроотеина высокой плотности (HDL-C), щелочной фосфатазы (ALK), аланинаминотрансферазы (ALT) и аспартатаминотрансферазы (AST) в сыворотке стандартными методами фер-

ментного анализа. Профили липопротеина в сыворотке анализировали с помощью ВЭЖХ как описано ниже.

ВЭЖХ-анализ профилей липопротеина в сыворотке.

Уровни липопротеинов, триглицеридов и холестерина липопротеина очень низкой плотности (ЛОНП), липопротеина низкой плотности (ЛНП) и липопротеина высокой плотности (ЛВП) оценивали посредством гель-фильтрации с помощью ВЭЖХ, как описано в литературе (Bai et al., 2012). Вкратце, сыворотку крыс (100 мкл) элюировали растворителем 154 мМ NaCl с 0,1 мМ EDTA (pH 8,0) со скоростью потока 0,2 мл/мин на колонке Pharmacia Superose 6 HR 10/30 FPLC, сигнал считывали на длине волны 280 нм. Фракции собирали через каждые 1-2 мин в течение 20-100 мин. 180 мкл каждой фракции плюс 20 мкл 10× раствора реагента на общий холестерин E, Wako (Wako Chemicals USA, Richmond, VA), инкубировали в 96-луночном планшете при 37°C в течение 3 ч в темноте для оценки уровня холестерина и оптическую плотность считывали на длине волны 595 нм. 2 мкл каждой фракции плюс 200 мкл реагента на триглицериды Infinity™ (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) инкубировали в 96-луночном планшете при 37°C в течение 5 мин в темноте для оценки уровней триглицеридов, оптическую плотность считывали на длине волны 500 нм. Мониторинг профилей липопротеина служил в качестве внутреннего контроля.

Гистоморфологический анализ.

Три образца, взятых из различных областей печени каждой крысы, собирали и фиксировали в 4% параформальдегиде в 0,1М фосфатном буфере при комнатной температуре в течение ночи. Области, из которых были взяты образцы, стандартизировали для всех крыс. Залитые в парафин срезы тканей (4 мкм) окрашивали гематоксилином и эозином (HE). В качестве хромогена использовали 3-3'-диаминобензидин (DAB), а в качестве красителя для контрастного окрашивания ядра использовали гематоксилин.

Определение уровня общих внутриклеточных липидов. Окрашивание внутриклеточных нейтральных липидов масляным красным O проводили следующим образом: предметные стекла с образцами печени фиксировали 3,7% формальдегидом в PBS в течение 30 мин, а затем два раза промывали забуференным фосфатом физиологическим раствором (PBS). Клетки окрашивали 0,2% масляным красным O в 60% 2-пропаноле в течение 10 мин и три раза промывали PBS. Изображения получали под микроскопом (Olympus, Tokyo, Japan), снабженным воспроизводителем изображений с линзами 40X.

Все предметные стекла с тканью были качественно оценены под оптическим микроскопом патологом, которому было выдано разрешение Регуляторных органов на проведение экспериментов на животных. Затем оценивали число и тяжесть поражений. Поражения также оценивали на длительность и распределение.

Количественная оценка липидов в печени.

Ткани печени гомогенизировали, и общие липиды печени экстрагировали смесью хлороформа и метанола (2:1, об:об). После фильтрации экстрактов 0,2 мл каждого экстракта выпаривали досуха и растворяли в 100 мкл изопропанола, содержащего 10% Тритон™ X-100 для анализа на холестерин (Wako Chemicals USA, Richmond, VA), 100 мкл раствора NEFA (0,5 г EDTA-Na_2, 2 г Тритона™ X-100, 0,76 мл 1N NaOH и 0,5 г азида натрия/л, pH 6,5) для анализа на свободные жирные кислоты (Wako Chemicals USA, Richmond, VA) или 100 мкл изопропанола для анализа только на тригицериды (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA). Концентрацию каждого липида нормализовали по массе печени.

Статистический анализ.

Все результаты выражали как среднее ± ср. кв.откл. Статистический анализ проводили с использованием непарного t-критерия Стьюдента. Величина $p<0,05$ рассматривается как статистически значимая.

Результаты.

Лечение in vivo с использованием 25HC3S приводило к предупреждению или устранению симптомов LR у индивидуумов с заболеванием. В частности, введение 25HC3S приводило к снижению уровней липидов в сыворотке и к снижению накопления жира в печени индивидуумов. Влияние введения 25HC3S на гомеостаз липидов у крыс Zucker.

Было обнаружено, что 25HC3S снижает аккумуляцию липидов в первичных гепатоцитах и в макрофагах THP-1 (Ma et al., 2008; Ren et al., 2007; Xu et al., 2010). Для исследования влияния введения 25HC3S на уровень гиперлипидемии у резистентных к лептину крыс Zucker, этих крыс обрабатывали 25HC3S или носителем в течение 21 дня и оставляли на ночь в условиях голодания. Обработка путем введения 25HC3S через зонд приводила к значительному снижению уровня триглицеридов (TG) и холестерина (CHOL) в плазме на 30% и 17% соответственно, как показано на фиг. 1, но не оказывала значительного влияния на уровни ЛВП (фиг. 1A) и ЛНП (фиг. 1B). Интересно отметить, что внутрибрюшинное введение приводило к значительному снижению уровней общего холестерина и триглицерида, а также ЛВП (фиг. 1A, C и D), и оказалось более эффективным, чем введение через зонд. Полученные результаты показали, что 25HC3S снижает уровни этих липидов не только в ткани печени, но также и в периферических тканях.

Для исследования влияния 25HC3S на метаболизм липидов в печени была проведена оценка уровней липидов в тканях печени. Полученные результаты показали, что введение 10 мг/кг 25HC3S через

зонд приводило к значительному снижению уровней липидов в тканях печени, например к снижению уровней триглицерида, общего холестерина и свободных жирных кислот на 43, 25 и 26% соответственно (фиг. 2A, B и C). Интересно отметить, что введение 25HC3S не влияло на концентрацию свободного холестерина (фиг. 2D). Снижение уровней липидов было дополнительно подтверждено с помощью морфологического анализа (фиг. 3 и 4). Ткани печени контрольных крыс имели бледный оттенок и увеличивались в объеме за счет крупных включений цитоплазматических липидов (фиг. 3A), что позволяет предположить, что модель дефицита лептина дает хорошие результаты. Однако введение 25HC3S приводило к значительному снижению липидных включений в гепатоцитах (фиг. 3B, C и D). Аккумуляцию липидов подтверждали по окрашиванию масляным красным O, как показано на фиг. 4. Эти результаты были систематизированы в таблице.

Данные гистологического анализа на липидоз печени

Группа No*	Животное No.	25HC3S (мг/кг/день, за исключением IP)	Тяжесть липидоза печени	Оценка интенсивности** (масляный красный O)
1	1001-1005	0	От умеренного до тяжелого	5
2	2001-2005	10	От слабого до умеренного	4
3	3001-3005	30	От слабого до умеренного	3
4	4001-4005	50 (IP через каждые 3 дня)	Слабый	2
5	5001-5005	100	Слабый	1

* N=5 самцов

** 1=наименее тяжелый, 5=наиболее тяжелый.

Таким образом, это исследование впервые показало, что введение in vivo 25HC3S индивидуумам, резистентным к лептину, позволяет осуществлять эффективное лечение или предупреждение симптомов и состояний, ассоциированных с LR (например, повышенных уровней липидов в сыворотке и аккумуляции липидов в печени).

Библиография

Bai, Q., Zhang, X., Xu, L., Kakiyama, G., Heuman, DM., Sanyal, A., Pandak, WM., and Ren, S. Oxysterol sulfation by overexpression of hydroxysteroid sulfotransferase SULT2B1b suppresses SREBP-1c signaling and reduces hepatic lipids in mouse models of nonalcoholic fatty liver diseases. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 61, 836-845, 2012.

Ma, Y., Xu, L., Rodriguez-Agudo, D., Li, X., Heuman, D., Hylemon, P., Pandak, WM., and Ren, S. 25-Hydroxycholesterol-3-Sulfate (25HC3S) regulates macrophage lipid metabolism via the LXR/SREBP-1 Signaling Pathway. AJP-Endocrinology and Metabolism, 295, E1369, 2008.

Ren, S., Li, X., Rodriguez-Agudo, D., Gil, G., Hylemon, P., and Pandak, WM. Sulfated Oxysterol, 25HC3S, is a Potent Regulator of Lipid Metabolism in Human Hepatocytes. Biochem. Biophysic. Res. Commun., 6, 802, 2007.

Xu, L., Bai, Q., Rodriguez-Agudo, D., Hylemon, P., Heuman, DM., Pandak, WM., and Ren, S. Regulation of hepatocyte lipid metabolism and inflammatory response by 25-Hydroxycholesterol and 25-Hydroxycholesterol-3-Sulfate, Lipids, 45, 821-832, 2010.

Zhang, Z., Li, D., Blanchard, D.E., Lear S.R., Erickson, S.K., and Spencer T.A. Key regulatory oxysterols in liver: analysis as Δ4-3-ketone derivatives by HPLC and response to physiological perturbations. *J. Lipid Res*. 42, 649-658, 2001.

Если это не оговорено особо, то ссылка на соединение или компонент включает само соединение или сам компонент, а также их комбинацию с другими соединениями или компонентами, такую как смесь соединений.

Используемые здесь существительные в единственном числе могут относиться к существительным во множественном числе, если из контекста описания не следует обратное.

Хотя настоящее изобретение описано здесь на предпочтительных вариантах его осуществления, однако для специалиста в данной области очевидно, что в настоящее изобретение могут быть внесены модификации, не выходящие за рамки сущности и объема прилагаемой формулы изобретения. В соответствии с этим настоящее изобретение не ограничивается описанными выше вариантами его осуществления, и в настоящее изобретение могут быть также включены все модификации и эквиваленты, не выходящие за рамки существа и объема описанного здесь изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения пониженной лептиновой активности, которая представляет собой дефицит лептина или резистентность к лептину или вызывается дефицитом лептина или резистентностью к лептину, у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества по меньшей мере одного сульфата окисленного холестерина (OCS), выбранного из

5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S);
5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS);
5-холестен-3,27-диол-3-сульфата;
5-холестен-3,27-диол-3,27-дисульфата;
5-холестен-3,7-диол-3-сульфата;
5-холестен-3,7-диол-3,7-дисульфата;
5-холестен-3,24-диол-3-сульфата;
5-холестен-3,24-диол-3,24-дисульфата и
5-холестен-3-ол-24,25-эпокси-3-сульфата,
или его фармацевтически приемлемой соли.

2. Способ по п.1, где по меньшей мере один OCS или его фармацевтически приемлемую соль вводят в количестве, составляющем от 0,1 до 100 мг/кг по массе тела индивидуума.

3. Способ по п.2, где по меньшей мере один OCS или его фармацевтически приемлемую соль вводят в количестве, составляющем от 10 до 30 мг/кг по массе тела индивидуума.

4. Способ по любому из пп.1-3, где введение включает по меньшей мере одно из перорального вве-

дения, внутрикишечного введения, подъязычного введения, трансдермального введения, внутривенного введения, внутрибрюшинного введения, парентерального введения, введения путем инъекции, подкожной инъекции и внутримышечной инъекции.

5. Способ по любому из предшествующих пунктов, который включает лечение одного или более симптомов, ассоциированных с аккумуляцией липидов, вызываемой снижением лептиновой активности.

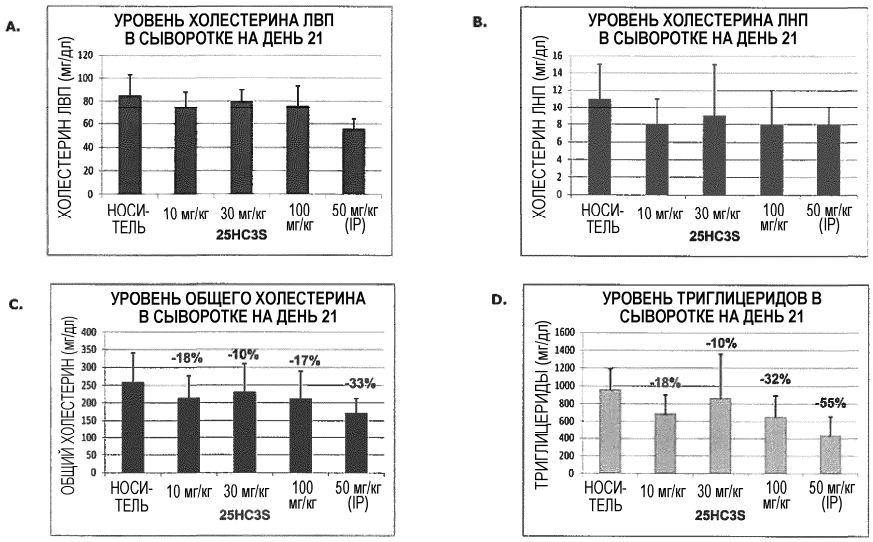
6. Способ по п.5, где аккумуляция липидов, вызываемая снижением лептиновой активности, представляет собой резистентность к лептину, индуцированную мутацией в гене, кодирующем рецептор лептина у индивидуума.

7. Способ по п.6, где у индивидуума наблюдается снижение уровня связывания лептина с его рецептором, обусловленное мутацией.

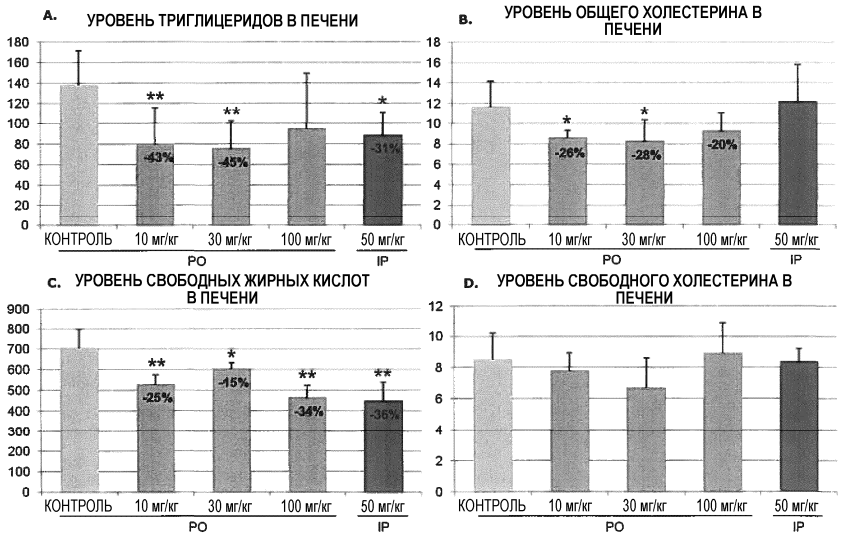
8. Применение по меньшей мере одного сульфата окисленного холестерина (OCS), выбранного из
5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S);
5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS);
5-холестен-3,27-диол-3-сульфата;
5-холестен-3,27-диол-3,27-дисульфата;
5-холестен-3,7-диол-3-сульфата;
5-холестен-3,7-диол-3,7-дисульфата;
5-холестен-3,24-диол-3-сульфата;
5-холестен-3,24-диол-3,24-дисульфата и
5-холестен-3-ол-24,25-эпокси-3-сульфата,
или его фармацевтически приемлемой соли для лечения пониженной лептиновой активности, которая представляет собой дефицит лептина или резистентность к лептину или вызывается дефицитом лептина или резистентностью к лептину.

9. Применение по п.8, где сульфат окисленного холестерина (OCS) выбран из группы, состоящей из 5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S) и 5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS), или его фармацевтически приемлемой соли.

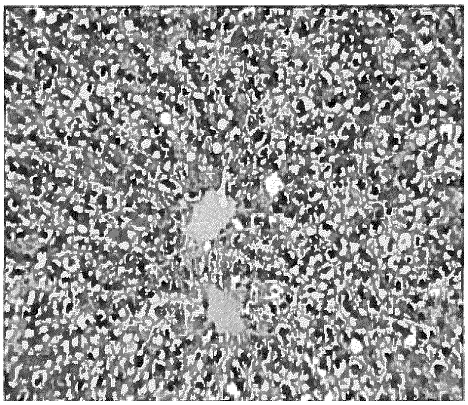
10. Применение сульфата окисленного холестерина (OCS), выбранного из
5-холестен-3,25-диол-3-сульфата (25HC3S);
5-холестен-3b,25-диол-дисульфата (25HCDS);
5-холестен-3,27-диол-3-сульфата;
5-холестен-3,27-диол-3,27-дисульфата;
5-холестен-3,7-диол-3-сульфата;
5-холестен-3,7-диол-3,7-дисульфата;
5-холестен-3,24-диол-3-сульфата;
5-холестен-3,24-диол-3,24-дисульфата и
5-холестен-3-ол-24,25-эпокси-3-сульфата,
или его фармацевтически приемлемой соли в приготовлении лекарственного средства для лечения пониженной лептиновой активности, которая представляет собой дефицит лептина или резистентность к лептину или вызывается дефицитом лептина или резистентностью к лептину.



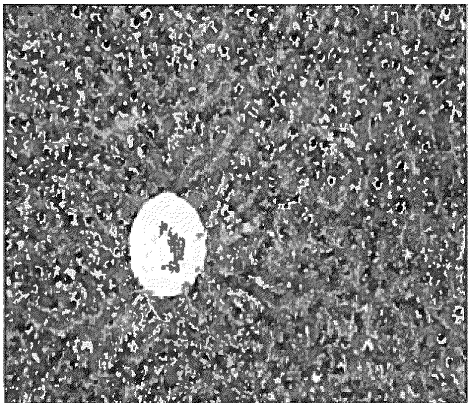
Фиг. 1A-D



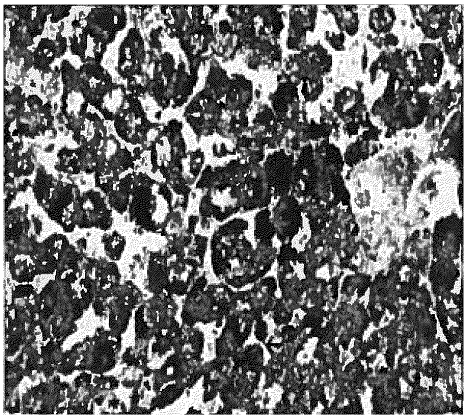
Фиг. 2A-D



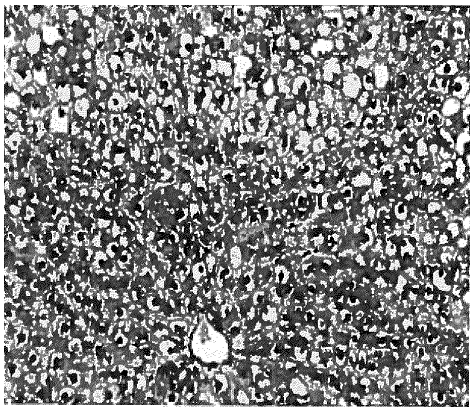
Фиг. 3A



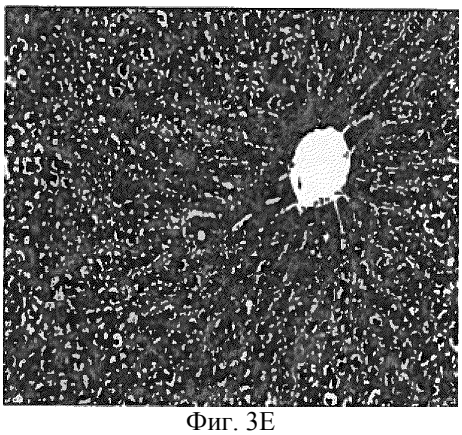
Фиг. 3B



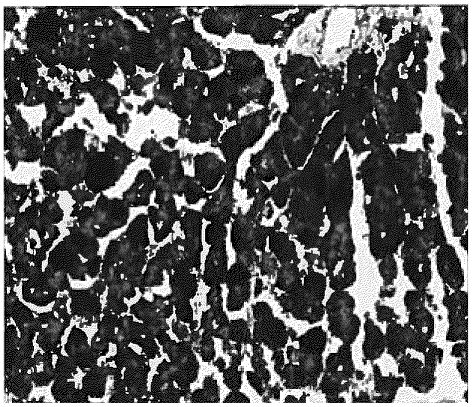
Фиг. 3C



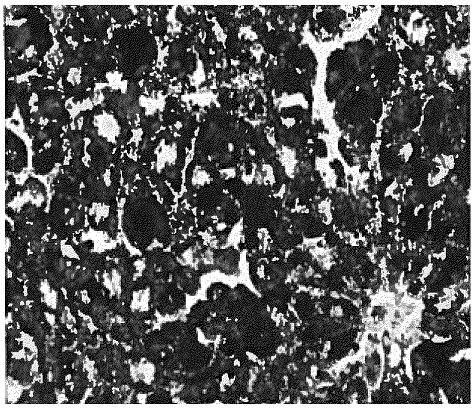
Фиг. 3D



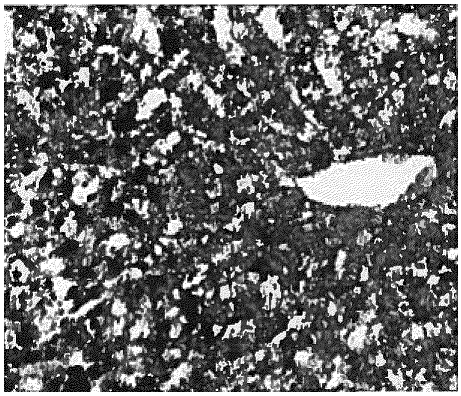
Фиг. 3E



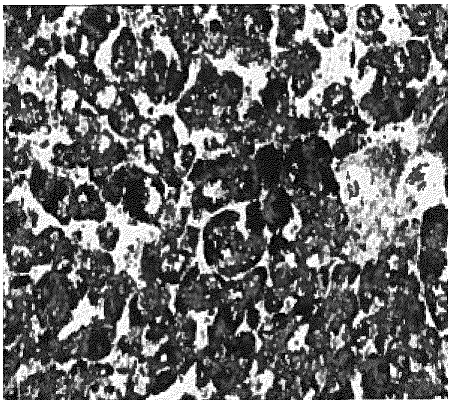
Фиг. 4A



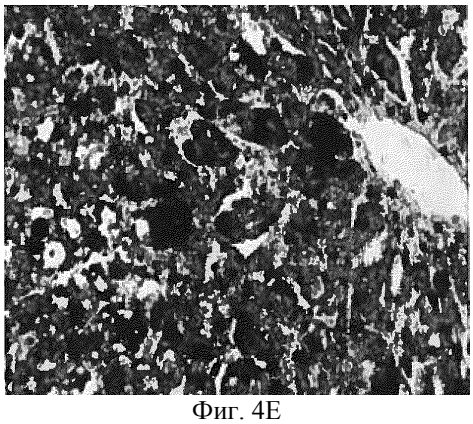
Фиг. 4B



Фиг. 4C



Фиг. 4D



Фиг. 4E