

(19) DANMARK



(12) PATENTSKRIFT

(11) 169232 B1

Patentdirektoratet
TAASTRUP

-
- (21) Patentansøgning nr.: 0520/89 (51) Int.Cl.5 A 61 K 37/36
(22) Indleveringsdag: 03 feb 1989
(41) Alm. tilgængelig: 06 aug 1989
(45) Patentets meddelelse bkg. den: 19 sep 1994
(86) International ansøgning nr.: -
(30) Prioritet: 05 feb 1988 EP 88810071
- (73) Patenthaver: *Ciba-Geigy AG; Klybeckstrasse 141; 4002 Basel, CH
(72) Opfinder: Ernst Rudolf *Froesch; CH, Hans-Peter *Guler; CH, Christoph *Schmid; CH, Juergen *Zapf; CH

(74) Fuldmægtig: Dansk Patent Kontor A/S

(54) Anvendelse af IGF I til fremstilling af et farmaceutisk præparat til behandling af nyresygdomme

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

520-89

Insulinlignende vækstfaktor I (IGF I) anvendes i farmaceutiske præparater til forbedring af glomerulær filtrering og renal plasmaflow til behandling af patienter med nyresygdomme og til fremstilling af terapeutiske kombinationer til behandling af nyresygdomme.

Den foreliggende opfindelse angår anvendelse af IGF I til fremstillingen af et farmaceutisk præparat til forbedring af glomerulær filtrering og renal plasmaflow.

5 Akutte og kroniske nyresygdomme forekommer i vidt omfang hos mennesker. Som eksempler på nyresygdomme kan nævnes glomerulonephritis, interstitiel nephritis, pyelonephritis, glomerulosclerose, f.eks. Kimmelstiel-Wilson's syndrom hos diabetikere, og immunafstødning efter
10 nyretransplantation. Disse sygdomme fremkaldes af henholdsvis autoimmune processer, forskellige lægemidler, bakterieinfektioner eller degenerative læsioner. Behandlingen af nyresygdomme afhænger af årsagerne. Eksempelvis behandles bakterieinfektion ved indgift af
15 antibiotika, og som et andet eksempel kan nævnes, at immunafstødning efter nyretransplantation behandles ved immunsuppression (glucocorticoider, cyclosporin A osv.). Nedsat glomerulær filtrering og renal plasmaflow kan fremkaldes af alle de ovennævnte årsager og har som
20 sådanne hidtil ikke kunnet behandles. Hvor det har været muligt, har behandlingen af de ovenfor omtalte nyresygdomme bestået i at eliminere årsagerne til ovennævnte patogene mekanismer. Følger af den nedsatte glomerulære filtrering og nedsat renal plasmaflow er de forøgede
25 blodniveauer af nitrogenholdige metaboliter, såsom creatinin, urinstof og urinsyre, af farmaka og af deres metaboliter samt af kationer og anioner fra mineralsalte eller organiske salte. Nogle af disse metaboliter og ioner er giftige, og et overskud deraf kan være årsagen til
30 visse sygdomme eller i det mindste ubehagelige virkninger.

Hovedulemperne ved de hidtidige metoder til behandlingen af sådanne giftige virkninger er, at de for det meste er ineffektive i tilfælde af fremskreden nyresygdom. Der findes ingen lægemidler, som kan forbedre den glomerulære
35 filtrering og renal plasmaflow, og der er derfor et afgjort behov for at afhjælpe disse ulemper.

Det har overraskende vist sig, at IGF I forbedrer glomerulær filtrering og renal plasmaflow, specielt også i et længere tidsrum. Salt- og vandbalancen i hele legemet
5 forbliver på fordelagtig måde konstant under behandling med IGF I. Der konstateres ingen retention af salt eller vand med IGF I, hvilket er tilfældet med væksthormoner.

Det har fornylig vist sig, at IGF I sænker blodglucose-niveauet hos mennesker efter intravenøs bolusinjektion
10 (1). Andre virkninger ved IGF I er de vækstfremmende virkninger, som er blevet påvist ved adskillige metaboliske tilstande, som alle er forbundet med lave IGF I-niveauer, f.eks. hypofysektomiserede rotter (2), diabetiske rotter (3) og Snell-dværgmus (4). Endvidere bevirker lang-
15 varige subkutaninjektioner af IGF I til hypofysektomiserede rotter (5) en signifikant vægtforøgelse af nyrerne. Lignende resulater er opnået med Snell-dværgmus (4). Ved alle disse undersøgelser er der ingen indikation på nogen som helst forbedring af nyrefunktionen ved hjælp af IGF I.
20 Der er specielt ikke beskrevet nogen forbedring af glomerulærfiltreringen og renal plasmaflow under indgift af IGF I.

Det er formålet med opfindelsen at forbedre den glomerulære filtrering og renal plasmaflow for derved at bevirke en
25 nedsættelse af plasmakoncentrationerne af toksiske metaboliter, såsom nitrogenholdige forbindelser, f.eks. creatinin, urinstof og urinsyre, af lægemidler og lægemiddelmetaboliter og af ioner.

Da forbedring af glomerulær filtrering og renal plasmaflow
30 er meget ønskelige virkninger hos patienter, som lider af nyresygdomme, angår opfindelsen også anvendelsen af IGF I til fremstilling af et farmaceutisk præparat til behandling af glomerulonephritis, interstitiel nephritis, pyelonephritis, glomerulosclerose, f.eks. Kimmelstiel-Wilson's
35 syndrom hos diabetikere, og nyresvigt efter nyretransplan-

tation.

Det fremstillede farmaceutiske præparat til forbedring af glomerulær filtrering og renal plasmaflow kan gives til
5 såvel mennesker som dyr.

Glomerulær filtrering måles ved bestemmelse af den glomerulære filtreringsrate, der fastlægges som creatinin- eller inulin-clearancen. Renal plasmaflow måles ved bestemmelse af clearancen af ^{125}I -iodhippurat.

10 Der kan anvendes hvilken som helst kilde til IGF I, uanset at den stammer fra naturlige kilder eller er fremstillet syntetisk. Der foretrækkes rekombinant human IGF I (rhIGF I) fremstillet f.eks. i overensstemmelse med EP 123228.

En effektiv mængde defineres som en mængde, der forøger
15 den glomerulære filtreringsrate og renal plasmaflow, f.eks. med henholdsvis 30 og 25%, over normal eller subnormal.

For at opnå denne virkning indgives IGF I intravenøst, subkutant eller intramuskulært i doser på mellem 24
20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dag}$ op til $720 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{dag}$ eller i tilfælde af kontinuerlig indgift i doser på fra $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{time}$ op til $30 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{time}$, ved hjælp af henholdsvis to eller tre daglige injektioner eller kontinuerte subkutane infusioner, f.eks. via en minipumpe.

25 Dosis skal naturligvis reguleres afhængigt af graden af renal insufficiens, indgiftsmåden, patientens vægt og almentilstand og afhænger i sidste ende af et lægeskøn. Det er vigtigt at foretage måling af blodglucoseniveauet og undgå hypoglykæmi.

30 Farmaceutiske præparater til behandling af nyresygdomme ved forbedring af glomerulær filtrering og renal plasma-

flow indeholder en effektiv mængde IGF I, dvs. en mængde på fra 10 til 300 mg.

Sædvanligvis indeholder det farmaceutiske præparat en effektiv mængde af den aktive bestanddel sammen med eller i blanding med uorganiske eller organiske, faste eller flydende, farmaceutisk acceptable bærestoffer, der fortrinsvis er egnede til parenteral indgift.

Den omhandlede aktive forbindelse anvendes fortrinsvis i form af præparater eller infusionsopløsninger til parenteral indgift, f.eks. subkutan, intramuskulær eller intravenøs indgift. Sådanne opløsninger er fortrinsvis isotoniske vandige opløsninger eller suspensioner, som kan fremstilles inden brugen, f.eks. ud fra lyofiliserede præparater, som indeholder den aktive bestanddel alene eller sammen med et farmaceutisk acceptabelt bærestof. De farmaceutiske præparater kan være steriliserede og/eller indeholde hjælpestoffer, f.eks. konserveringsmidler, stabiliseringsmidler, fugtemidler og/eller emulgeringsmidler, solubilisierende stoffer, salte til regulering af det osmotiske tryk og/eller puffere. De omhandlede farmaceutiske præparater, der om ønsket kan indeholde andre farmakologisk værdifulde stoffer, fremstilles på i og for sig kendt måde, f.eks. ved hjælp af konventionelle opløsnings- eller lyofiliseringsfremgangsmåder, og de indeholder fra ca. 0,1 til 100%, især fra ca. 1% til ca. 20%, og i tilfælde af lyofilisater op til 100% af den aktive bestanddel.

I det følgende anføres et eksempel på en terapeutisk kombination ifølge opfindelsen. Udtrykket IGF I i eksemplerne refererer til rekombinant human IGF I (rhIGF I), medmindre andet er anført.

Eksempel på farmaceutisk præparat.

Tørampuller indeholdende 50 mg eller 300 mg IGF I: ampuller med et rumfang på henholdsvis 8 ml og 50 ml fyldes med
5 henholdsvis 5 ml og 30 ml sterilfiltreret 1%'s (v/r) vandig IGF I-opløsning og lyofiliseres. En infusionsopløsning fremstilles ved at tilsætte de respektive rumfang (henholdsvis 5 og 30 ml) sterilt vand, fysiologisk natriumchloridopløsning eller 0,1 M eddikesyre.

- 10 Den terapeutiske kombination indeholder det ønskede antal ampuller, som er nødvendige til en behandlingskur, f.eks. 6 dage, og eventuelt brugsanvisninger, som angiver det tidsrum, hvori midlet bør gives ved infusion.

1. Eksempel på behandling af mennesker15 Forsøgspersoner

To mænd (alder/legemsvægt/højde: 1.: 38/65/172, 2.: 34/61/172) anvendes som normale forsøgspersoner ved denne kliniske test. Deres legemsvægt er ideel, og de har ingen kliniske sygdomstegn og tager ikke medicin. Rutinemæssige
20 hæmatologiske parametre, blodkemiparametre og endocrine parametre ligger inden for de normale grænser.

Forsøgsmetode

I løbet af en indledende kontrolperiode opnås basislinieværdier, hvorefter IGF I indgives ved kontinuert subkutan
25 infusion i løbet af 6 dage. Denne indgiftmåde er valgt med henblik på at nå konstante serumniveauer for IGF I. Undersøgelsen afsluttes med en anden kontrolperiode. Fødeindtagelsen kontrolleres strengt under hele forsøgsperioden og består af 2500 kcal. pr. dag (25% protein, dvs. 1,9 g
30 protein pr. kg legemsvægt, 20% fedt og 55% kulhydrat).

Forsøgsperson 1

De to kontrolperioder varer 3 dage. På den første behand-

lingsdag indgives IGF I i starten ved infusion i en arbitrær dosis på 32,0 μg pr. kg legemsvægt pr. time. Denne dosis IGF I fremkalder hypoglykæmi (se resultatafsnit).

- 5 20,0 μg pr. kg legemsvægt pr. time i løbet af de efterfølgende 5 dage viser at være sikre, og blodglucoseniveauet forbliver normalt. Den samlede mængde IGF I indgivet ved infusion i løbet af 6 dage er 184,3 mg.

Forsøgsperson 2

- 10 De to kontrolperioder udgør 5 dage. IGF I indgives ved infusion i samme dosis som til forsøgsperson 1 (20,0 μg pr. kg legemsvægt pr. time) i løbet af i alt 6 dage. Den samlede mængde IGF I indgivet ved infusion udgør 167,3 mg.

Infusionsapparat

- 15 Der anvendes et miniinsulininfusionsapparat (MRS 1 Infusor[®]/Disetronic AG, Burgdorf, Schweiz). IGF I opløses i 0,1 M eddikesyre. Der indgives 25 μl pr. time ved infusion. Infusionspatronen, som indeholder IGF I, genfyldes efter 3 dages forløb. Et mikrokateter anbringes under
20 huden på maven. Det flyttes efter 3 dage og anbringes på et sted i afstand fra det første.

Veneblod udtages hver morgen mellem kl. 6 og 7. Det anbringes straks på is og centrifugeres 1 time senere. Serum eller plasma opbevares i 1 ml-portioner ved -20°C .

- 25 Alle analyser gennemføres på prøver, som ikke er blevet optøet forinden.

24-timers urinopsamling foretages under hele undersøgelsen (kl. 6 morgen til kl. 6 næste morgen). Flere alikvoter opbevares ved -20°C .

- 30 Rekombinant human IGF I (rhIGF I) anvendt i eksemplerne er fremstillet i overensstemmelse med EP 123.228, er karakteriseret kemisk og biologisk og har vist sig at være identisk med højrenset ekstraheret human IGF I. Det samme ma-

teriale har været anvendt ved tidligere undersøgelser på mennesker (1).

Analyser

- 5 Total IGF I og fri IGF I måles ved radioimmunanalyse som beskrevet tidligere (6). Blodglucose bestemmes ved hjælp af en YSI 23A glucose analyser. Alle andre analyser foretages på afdelingen for klinisk kemi ved universitetshospitalet i Zürich.

10 Resultater

Dosisresultater hos forsøgsperson 1 (fig. 1).

- Efter 3 kontroldage (uden noget hormon) startes IGF I-infusionen kl. 6.30 om morgenen i en mængde på 32,0 µg pr. kg legemsvægt pr. time. Blodglucoseniveauet er 4,4 mmol
15 pr. liter, serumniveauet for total IGF I er 120 ng pr. ml, og serumniveauet for fri IGF I er 20 ng pr. ml. 13,5 timer senere efter infusion af i alt 28,1 mg IGF I og 8 timer efter det sidste måltid er blodglucoseniveauet faldet til 2,6 mmol pr. liter uden nogen kliniske tegn på hypo-
20 glykæmi. På dette tidspunkt har serumniveauet for total IGF I en værdi på 683 ng pr. ml, og serumniveauet for fri IGF I er 123 ng pr. ml. Infusionen afbrydes natten over og startes igen den efterfølgende morgen kl. 6.30 i en mængde på 20,0 µg pr. kg legemsvægt pr. time. denne dosis holdes
25 konstant i løbet af de efterfølgende 5 dage hos forsøgsperson 1 og anvendes også under den samlede 6-dages infusionsperiode hos forsøgsperson 2.

Kliniske iagttagelser

- Bortset fra den hypoglykæmiske periode hos forsøgsperson 1
30 på den første dag af IGF I-infusionen, konstateres der ikke andre perioder med hypoglykæmi. Begge forsøgspersoner føler sig normale under hele undersøgelsen. Blodtryk, pulsfrekvens, legemstemperatur og legemsvægt forbliver stabile.

Blodglucose

Blodglucoseniveauet måles dagligt efter faste natten over (mindst 12 timer) og forbliver inden for de normale
5 grænser under hele undersøgelsen. Hos forsøgsperson 2 ligger blodglucoseniveauer målt hver time i løbet af 1 nat med IGF I-infusion mellem 3,6 og 4,4 mmol pr. liter.

Serumniveauer for total IGF I (fig. 2)

I løbet af timer efter starten af infusionen stiger IGF I-
10 niveauer og når niveauer på 700 ng pr. ml efter 13-14 timer. Topniveauer hos de to forsøgspersoner er henholdsvis 980 og 920 ng pr. ml. Når infusionen afbrydes falder IGF I-niveauerne til basislinien i løbet af 1 dag.

Serumniveauer for fri IGF I

15 Fri IGF I-niveauer under kontroldagene ligger mellem 15 og 20 ng pr. ml og mellem 50 og 80 ng pr. ml under kontinuert infusion af IGF I (7).

Plasmaniveauer for creatinin og creatininclearance(fig. 3)

20 I begyndelsen har de to forsøgspersoner et plasmacreatininniveau på henholdsvis 90 og 87 μ mol pr. liter og creatininclearance på henholdsvis 122 og 111 ml pr. minut. Fra dag 2 til dag 6 med IGF I-infusionen nedsættes plasma-
creatininniveauet til 73 μ mol pr. liter hos begge forsøgs-
25 personer (svarende til 81% og 84% af basislinieværdierne), og creatininclearance stiger til 157 og 144 ml pr. minut (svarende til 129% og 130% af kontrol). Disse ændringer af nyrefunktion vender tilbage til præinfusionsniveauer kort tid efter at infusionen afbrydes.
30 Creatininudskillelse pr. 24 timer forbliver konstant under hele infusionsperioden (henholdsvis $15,8 \pm 1,1$ og $14,2 \pm 1,3$ mmol hos forsøgsperson 1 og 2).

Plasmaniveauer for urinstof og urinsyre (fig. 4)

Plasmaurinstofniveauer er henholdsvis 5,8 og 7,6 mmol pr.

liter under den indledende kontrolperiode. Værdierne falder til 3,4 og 4,2 mmol pr. liter (svarende til 59 og 55% af basislinien) i løbet af 2 dage og forbliver på disse niveauer, indtil infusionen ophører. Udskillelse af urinstof med urinen pr. 24 timer er konstant før, under og efter infusionen (henholdsvis $4,59 \pm 0,41$ og $4,76 \pm 0,61$ mmol). Plasmaniveauer for urinsyre falder fra 268 og 311 til henholdsvis 137 og 180 μmol pr. liter (51 og 58% af basislinien).

2. Eksempel på behandling af mennesker

Forsøgspersoner

To mænd (forsøgsperson 1: 39 år, 74 kg, forsøgsperson 2: 28 år, 66 kg) tjener som sunde forsøgspersoner ved dette forsøg. De har ingen kliniske tegn eller symptomer på sygdom og indtager ikke nogen form for lægemidler. Rutinemæssige laboratorietests (blod, serum, urin) ligger inden for de normale grænser. IGF I infuseres i løbet af i alt 79 timer i en mængde på 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{time}$. Forsøgspersonerne får en kost på 2000 kcal. pr. dag under forsøget, og kosten indeholder 20% protein (100 g/24 timer), 30% fedt og 50% kulhydrater. Natriumchloridindtagelsen er 8 g pr. dag. For at forhindre at skjoldbruskkirtelen fyldes med radioaktivt iod indgives ikke-mærket natriumiodid i en dosis på 10 mg p.o. pr. 24 timer. De samme forsøgspersoner anvendes til lignende forsøg, men uden infusion af IGF I i ugerne inden og efter IGF I-behandlingen.

Lyofiliseret IGF I opløses i 0,1 M eddikesyre og indgives ved subkutan infusion i en mængde på 26 $\mu\text{l}/\text{time}$ ved hjælp af et MRS-3-infusionsapparat (Disetronic AG, Burgdorf, Schweiz). Hver morgen udtages dagligt blodprøver og 24 timers urinudskillelse. Glomerulær filtreringsrate (GFR) og renal plasmaflow (RPF) måles samtidigt efter faste natten over i løbet af den 72. til 74. time. Lithium-clearance bestemmes i løbet af den 72. til 79. time,

hvorefter infusionen afbrydes.

Bestemmelse af GFR og RPF:

Kl. 7 om morgenen induceres tvungen diurese (10-15
5 ml/minut) ved progressiv peroral vandtilførsel i 80
minutter. Efter en initial intravenøs bolus af hver af
isotoperne gives en kontinuerlig intravenøs infusion af
begge isotoper. I alt indgives 57 μCi ^{125}I -iodthalamat
(IM.48P, Amersham, Buckinghamshire, England) og 63 μCi
10 ^{131}I -iodhippurat (IB.315P, Amersham, Buckinghamshire,
England) i løbet af 2 timer (8,9). Urinprøver og
serumprøver opsamles i løbet af 6 perioder på 20 minutter.
Radioaktiviteten i serum og urin tælles i portioner på 1
ml i en MR252- γ -tæller (Kontron, Zürich), og værdierne for
15 de sidste fem 20 minutters perioder anvendes til
beregningerne. Statistisk analyse gennemføres ved
anvendelse af Student's t-test.

Lithium-clearance:

Til bestemmelse af den proximale og distale tubulære
20 reabsorption af væske og natrium, bestemmes den renale
clearance af lithium. Lithium reabsorberes fuldstændigt i
den proximale tubulus, hvorimod det slet ikke reabsorberes
i den distale tubulus (10). Kl. 10 om aftenen dagen forud
for nyrefunktionsundersøgelserne indtager forsøgsperso-
25 nerne 24 mmol lithiumsulfat (2 tabletter "Lithiofor"[®],
Vifor SA, Geneve). Urin opsamles fra tidspunktet for
bolusinjektionen af isotoperne i op til 7 timer derefter.
Lithium bestemmes i serumet ved begyndelsen og afslutnin-
gen af opsamlingsperioden. Gennemsnittet af de to værdier
30 anvendes til beregninger. Beregninger foretages i over-
ensstemmelse med formlerne anført i den efterfølgende
tabel 1.

Analyser

IGF I bestemmes ved radioimmunanalyse som tidligere
35 beskrevet (6). Albumin i urin måles under anvendelse af en

immunturbidimetrisk metode (kommercielt analysesæt fra Miles Italiana S.p.A., Scientific Dept, Cavenago Brianza (Milano), Italien). Lithiummålinger i urin og serum
5 gennemføres ved anvendelse af en Varian AA-875-atomabsorber (afdelingen for klinisk kemi ved universitetshospitalet i Zürich).

Resultater

I begyndelsen er de endogene serumniveauer for IGF I på
10 mellem 93 og 177 ng/ml. Ved gennemførelsen af nyrefunktionsundersøgelserne er IGF I-serumniveauerne på henholdsvis 502 og 616 ng/ml hos forsøgsperson 1 og 2. GFR stiger fra 121 ± 12 til 159 ± 12 ml/minut/1,73 m² ($p < 0,0005$ hos forsøgsperson 1). De tilsvarende værdier hos forsøgsperson
15 2 er 120 ± 13 og 158 ± 16 ml/minut/1,73 m² ($p < 0,005$) (fig. 5). Samtidigt stiger RPF fra 548 ± 56 til 692 ± 65 ml/minut/1,73 m² ($p < 0,005$) hos forsøgsperson 1 og fra 518 ± 64 til 634 ± 72 ml/minut/1,73 m² ($p < 0,025$) hos forsøgsperson 2 (fig. 6). En lignende stigning noteres i
20 proximal og distal tubulær reabsorption af væske og natrium beregnet ud fra lithiumclearance (tabel 1). Alle parametre falder til basislinien 1 uge senere.

Udskillelse af albumin i alle urinprøver før, under og efter infusionen er mindre end 30 mg/24 timer.
25 Normalgrænse antages for tiden at være 30 mg/24 timer (11).

Legemsvægten er konstant under infusionen (74 kg hos forsøgsperson 1 og 66 kg hos forsøgsperson 2). Blodtryk, pulsfrekvens og legemstemperatur ligger inden for de
30 normale grænser og ændres ikke under infusionen.

I nedenstående tabeller 1, 2 og 3 anføres værdierne for lithiumclearance, creatininclearance, osmotisk og frit vand-clearance samt for nogle serumparametre.

Tabel 1

Proximal og distal tubulær reabsorption af væske og natrium bestemt ved hjælp af lithium-clearance inden (b),
 5 under [når infusionen har varet 72 timer] (d) og efter (a)
 konstant subkutan infusion af IGF I til to sunde forsøgs-
 personer.

	Person 1			Person 2		
	b	d	a	b	d	a
10 Prox. væskereabsorption						
[GFR - C _{Li} , ml/min]	87	112	87	93	114	95
Dist. væskereabsorption						
[C _{Li} - V _U , ml/min]	29	41	18	20	38	20
Prox. Na-reabsorption						
15 [(GFR - C _{Li}) x P _{Na} ,						
mmol/min]	12	16	12	13	16	11
Dist. Na-reabsorption						
[(C _{Li} - C _{Na}) x P _{Na} ,						
mmol/min]	4	6	3	3	6	3

20

Tabel 2

Clearance-beregninger inden (b), under (d) [når infusionen
 har varet 72 timer] og efter (a) konstant subkutan
 infusion af IGF I til to sunde forsøgspersoner.

	Person 1			Person 2		
	b	d	a	b	d	a
25 Creatinin-clearance ml/min	111	140	126	114	144	120
Osmol.-clearance, ml/min						
[C _{osm} = U _{osm} ·P _{osm} x V]	2,78	2,67	3,31	2,97	2,32	2,32
Frit vand-clearance, ml/min						
30 [C _{frit vand} = V _U - C _{osm}]	2,60	3,57	2,84	2,98	4,16	2,71

GFR: glomerulær	C_{Osm}	: osmolær clearance
filtreringsrate	U_{Osm}	: urinosmolaritet
C_{Li} : Li-clearance	P_{Osm}	: plasmaosmolaritet
5 V_{u} : urinvolumen/min.	$C_{\text{frit vand}}$: frit vand- clearance
P_{Na} : plasmakoncentration af Na		
C_{Na} : Na-clearance		

Tabel 3

- 10 Serumparametre før (b), under (d) [når infusionen har varet 72 timer] og efter (a) konstant subkutan infusion af IGF I til to sunde forsøgspersoner.

	Person 1			Person 2		
	b	d	a	b	d	a
15 Natrium [mmol/l]	138	140	138	138	139	136
Kalium [mmol/l]	4,1	4,2	4,3	4,8	4,9	4,8
Phosphat [mmol/l]	1,21	1,06	1,28	0,88	0,73	0,95
Urinstof [mmol/l]	5,2	2,8	5,2	4,2	2,9	4,2
Creatinin [$\mu\text{mol/l}$]	102	86	100	96	84	90

- 20 Patienter med nyresygdomme kan behandles på samme måde som de sunde forsøgspersoner.

3. Eksempel med behandling af minipudler

Dyr

- Alle minipudler indkøbes fra den samme opdrætter. De er
- 25 afkom af én han (skulderhøjde 34 cm) og to hunner (skulderhøjde henholdsvis 30 og 32 cm). 60 dage gamle overføres pudlerne til forsøgsområdet. Et kuld anvendes til IGF I-infusionen, og et andet kuld tjener som kontrol.
- Dyr fra et kuld anbringes sammen fra fødselen til forsø-
- 30 gets afslutning ved en alder på 221 dage, når de radiale epifyseplader er forbenede. Hundene har fri adgang til vand og får proteinrigt standardhundefoder ad libitum to

gange dagligt. Hundene vejes dagligt mellem kl. 7 og 9 om morgenen. De venstre forben røntgenfotograferes hveranden uge af de samme to personer under anvendelse af det samme
5 røntgenapparat. Længden af radius måles på filmen. Blod udtages ved venepunktur på forbenet hveranden uge.

Subkutan infusion af IGF I

Fire minipudler (to hanner og to hunner) gives subkutane infusioner af IGF I fra de er 91 dage gamle til de er 221
10 dage gamle, dvs. i løbet af i alt 130 dage. MRS 3-Infuserer (fremstillet af Disetronic AG, Burgdorf, Schweiz) anbringes på hundenes hals i et særligt udformet dækken, som dækker og beskytter det subkutane kateter (Abboath-T[®], 24 Gx19mm, Abbot Ireland Ltd). Kateteret er
15 fæstnet ved hjælp af klæbestrimmel til den barberede hud på hunden og skiftes hver fjerde dag. Peptidet opløses i 0,1 M eddikesyre og infuseres i en mængde på 24-26 μ l/time/dag. Dosis af IGF I holdes konstant på 6 mg/dag pr. puddel. I starten anvendes en dosis af IGF I på 2 mg
20 pr. kg legemsvægt, og denne dosis falder til ca. 1 mg ved afslutningen af infusionsperioden. Korrekt funktion af infusionssystemet kontrolleres hver 12. time. Fire kontrolminipudler (1 han og 3 hunner) behandles på samme måde som hundene, som gives IGF I-infusion, bortset fra at
25 dækkenet ikke indeholder infusionsapparatet. Der konstateres ingen uheldige tegn eller symptomer og ingen ændringer i rutinemæssige hematologiske og blodkemiske analyser under hele IGF I-infusionsperioden.

Analyser

30 Radioimmunanalyse for IGF I: Denne analyse gennemføres efter fjernelse af bindingsproteinerne ved hjælp af SEP-PAK C₁₈-patroner (Waters Associates, Milford MA). Der anvendes polyklonale kaninantistoffer mod et human-IGF I, som krydsreagerer med hund-IGF I, og human-IGF I anvendes som
35 standard (6). Gennemsnitsniveauer for IGF I er tre gange højere i de med IGF I infuserede dyr end i kontroldyrene.

Serumniveauer for creatinin

Gennemsnitsserumniveauer for creatinin er signifikant lavere under hele IGF I-infusionsperioden end i kontrolgruppen (fig. 7).

Figurforklaring

Fig. 1 viser blodglucoseniveauer og fri IGF I-serumniveauer på den første dag med kontinuert subkutan infusion af rekombinant IGF I i en mængde på 32,0 μg pr. kg legemsvægt pr. time hos forsøgsperson 1. Infusionen startes kl. 6.30 om morgenen og afbrydes kl. 8.00 om aftenen, når blodglucoseniveauet er faldet til 2,6 mmol pr. liter. Serumniveauer for fri IGF I er på det tidspunkt steget fra basisværdier på 20 ng pr. ml til 123 ng pr. ml. M angiver 15 tidspunktet for måltiderne.

Fig. 2 viser serumniveauer for total IGF I hos de to forsøgspersoner før, under og efter 6 dage med konstant subkutan infusion af rekombinant IGF I i en dosis på 20,0 μg pr. kg legemsvægt pr. time.

20 Fig. 3 viser plasmaniveauer og creatinin (Δ) og creatinin-clearance (repræsenteret ved søjler) hos to forsøgspersoner før, under og efter 6 dage med konstant subkutan infusion af rekombinant IGF I i en dosis på 20,0 μg pr. kg legemsvægt pr. time.

25 Fig. 4 viser plasmaniveauer for urinstof og urinsyre hos to forsøgspersoner under konstant subkutan infusion af rekombinant IGF I i en dosis på 20,0 μg pr. kg legemsvægt pr. time.

30 Fig. 5 viser glomerulær filtreringsrate (GFR) bestemt ved ^{125}I -iodtalamat-clearance inden, under og efter konstant subkutan infusion af IGF I hos to sunde forsøgspersoner. Gennemsnitsværdier fra fem 20 minutters iagttagelsesperio-

der er angivet. Numeriske gennemsnitsværdier \pm standardafvigelse er anført i afsnittet med resultater.

5 Fig. 6. viser renal plasmaflow (RPF) bestemt ved hjælp af ^{125}I -iodhippurat-clearance inden, under og efter konstant subkutan infusion med IGF I hos to sunde forsøgspersoner. Gennemsnitsværdier af fem 20 minutters observationsperioder er anført. Numeriske gennemsnitsværdier \pm standardafvigelse er anført i afsnittet med resultater.

10 Fig. 7 viser serumniveauer for creatinin hos fire minipudler indgivet IGF I ved infusion (\blacktriangle) og i fire kontrol-dyr (\triangle). Gennemsnitsværdier \pm SEM.

Litteraturhenvisninger

- 15 1. H.P. Guler, J. Zapf, E.R. Froesch. Short-term metabolic effects of recombinant human insulin-like growth factor I in healthy adults. N. Engl. J. Med. 1987, 317:137-40.
- 20 2. H.P. Guler, P. Zenobi, J. Zapf et al. IGF I and II and recombinant human IGF I are hypoglycemic in the rat, mini-pig, and men. Endocrinology 1986, 118:Suppl:129, abstract.
- 25 3. E. Scheiwiller, H.P. Guler, J. Merryweather, C. Scandella, W. Maerki, J. Zapf, E.R. Froesch. Growth restoration of insulin-deficient diabetic rats by recombinant human insulin-like growth factor I. Nature 1986, 323:169-71.
4. S. van Buul-Offers, I Ueda, J.L. Van den Brandle. Biosynthetic somatomedin C (SM-C/IGF-I) increases the length and weight of Snell dwarf mice. Pediatr. Res. 1986, 20:825-7.

5. H.P. Guler, J. Zapf, E.R. Froesch. S.c.infusion of recombinant human insulin-like growth factor I (rhIGF I) stimulates growth of hypophysectomized rats continuously during 18 days. Proceedings of the 1st European Congress of Endocrinology, Copenhagen 1987, 103, abstract 12-390.
6. J. Zapf, H. Walter, E.R. Froesch. Radioimmunological determination of insulin-like growth factors I and II in normal subjects and in patients with growth disorders and extrapancreatic tumor hypoglycemia. J. Clin. Invest. 1981, 68:1321-30.
7. J. Zapf, C. Hauri, M. Waldvogel, E.R. Froesch. Acute metabolic effects and half-lives of intravenously administered insulin-like growth factors I and II in normal and hypophysectomized rats. J. Clin. Invest. 1986, 77:1768-75.
8. C.E. Mogensen: Glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term and long-term juvenile diabetes mellitus. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 28:91-100, 1971.
9. M. Marre, H. Leblanc, L. Suarez, T.T. Guyenne, J. Menard, P. Passa: Converting enzyme inhibition and kidney function in normotensive diabetic patients with persistent microalbuminuria. Br. Med. J. 294:1448-1452, 1987.
10. K. Thomsen: Lithium clearance: A new method for determining proximal and distal tubular reabsorption of sodium and water. Nephron 37:217-223, 1984.
11. T. Jensen, E.A. Richter, B. Feldt-Rasmussen, H. Kellbaek, T. Deckert: Impaired aerobic work capacity in insulin dependent diabetics with increased urinary albumin excretion. Br. Med. J. 296:1352-1410, 1988.

P A T E N T K R A V .

1. Anvendelse af IGF I til fremstillingen af et farmaceutisk præparat til forbedring af glomerulær filtrering og renal plasmaflow.
5
2. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1 til fremstilling af et farmaceutisk præparat til behandling af glomerulonephritis.
3. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1 til fremstillingen af et farmaceutisk præparat til behandling af interstitiel nephritis.
10
4. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1 til fremstillingen af et farmaceutisk præparat til behandling af pyelonephritis.
- 15 5. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1 til fremstillingen af et farmaceutisk præparat til behandling af glomerulosclerose.
6. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1 til fremstillingen af et farmaceutisk præparat til behandling af
20 Kimmelstiel-Wilson's syndrom hos diabetikere.
7. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1 til fremstillingen af et farmaceutisk præparat til behandling af nyresvigt efter nyretransplantation.
8. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1, kendetegnet
25 ved, at man anvender rekombinant human IGF I.
9. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1 til fremstilling af et farmaceutisk præparat, som tillader indgift af IGF I i en mængde på fra 24 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dag}$ op til 720 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dag}$.

10. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1 til fremstilling af et farmaceutisk præparat til subkutan eller intravenøs infusion via en minipumpe.
- 5 11. Anvendelse af IGF I ifølge krav 1 til fremstilling af et farmaceutisk præparat, som tillader subkutan, intravenøs eller intramuskulær kontinuert administration af IGF I i en dosis på fra 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{time}$ op til 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{time}$.

FIG. 1

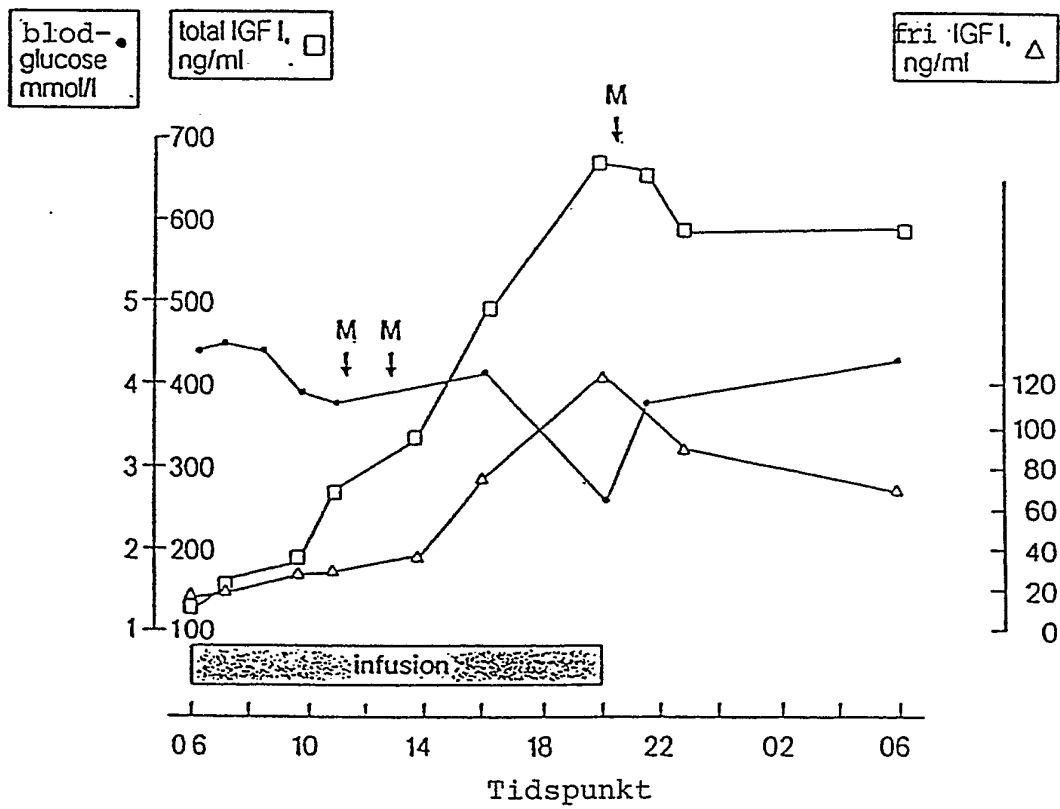


FIG. 2

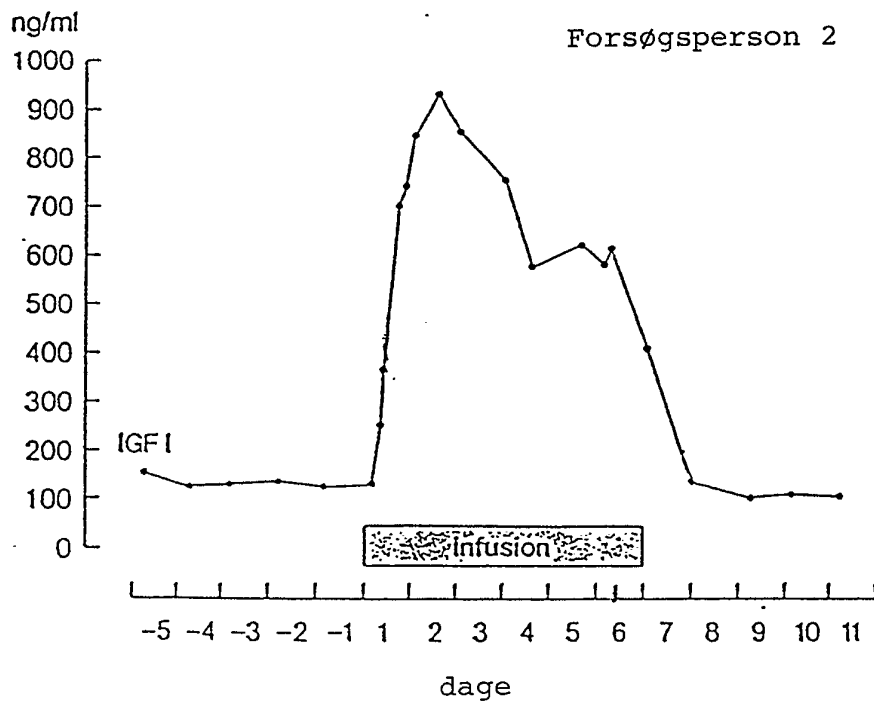
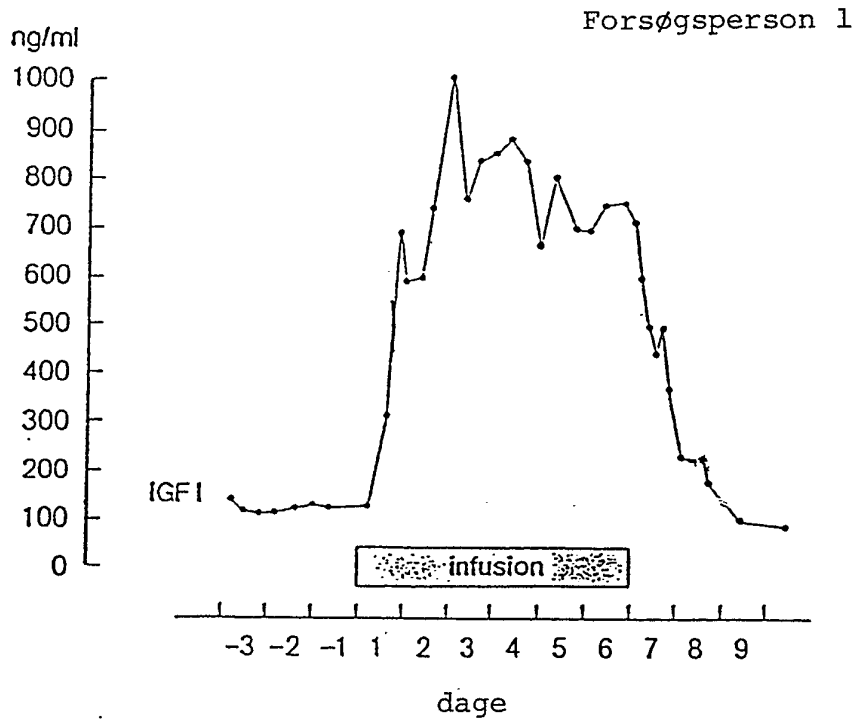
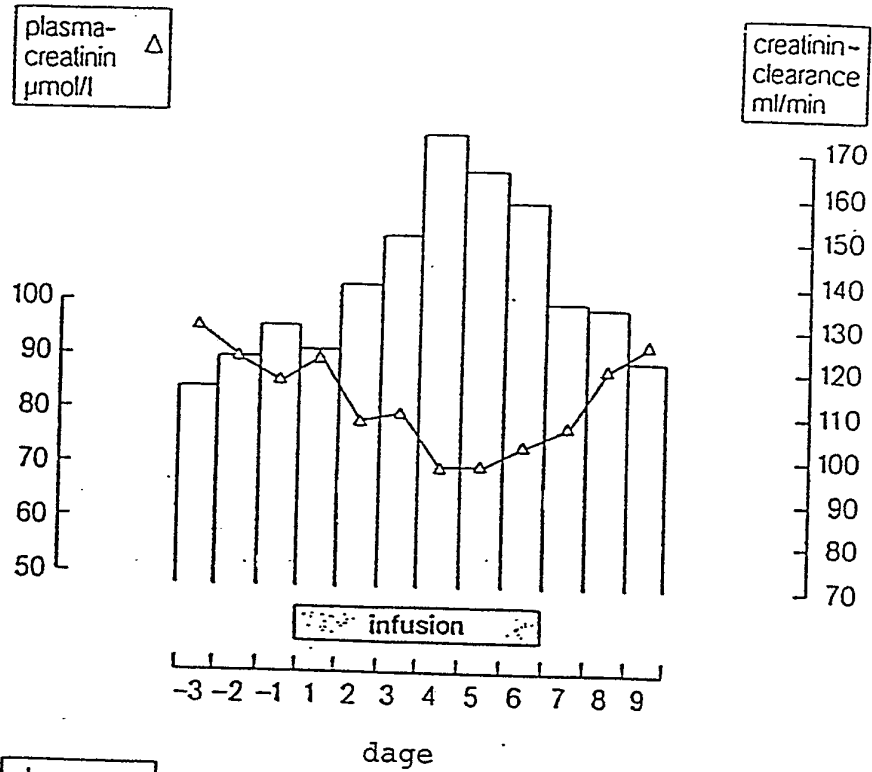


FIG. 3

Forsøgsperson 1



Forsøgsperson 2

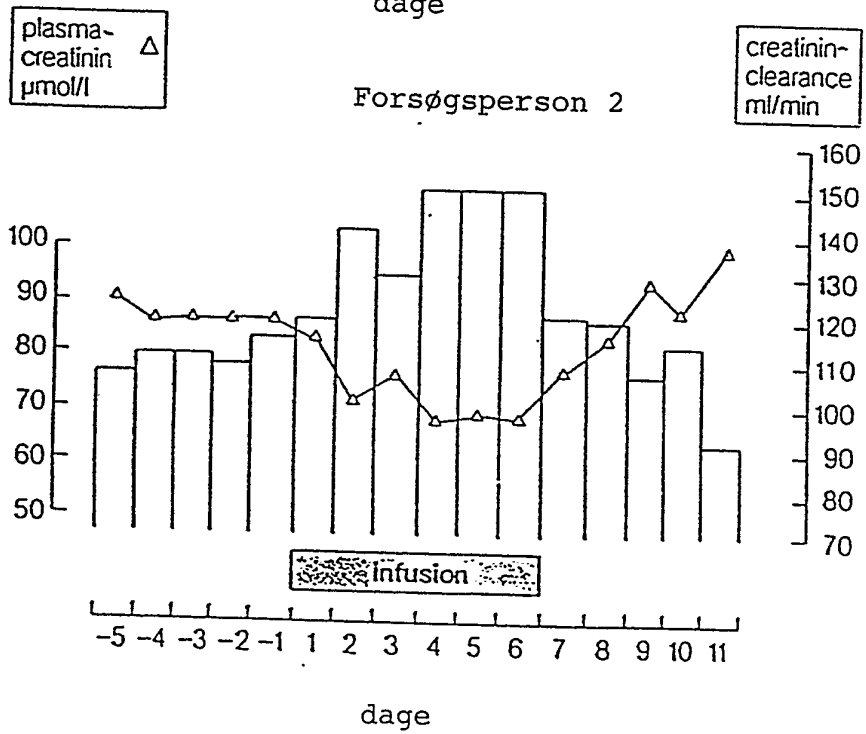
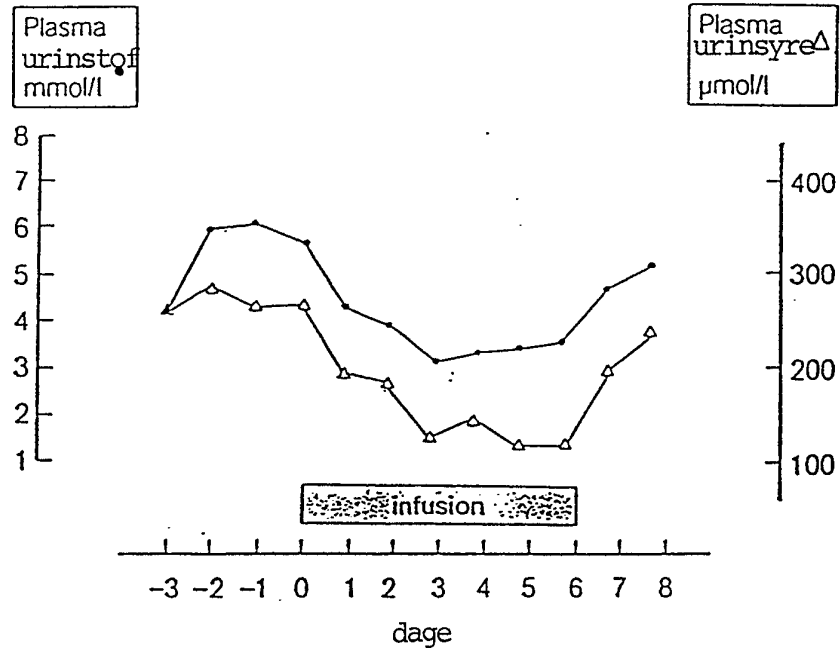


FIG. 4

Forsøgsperson 1



Forsøgsperson 2

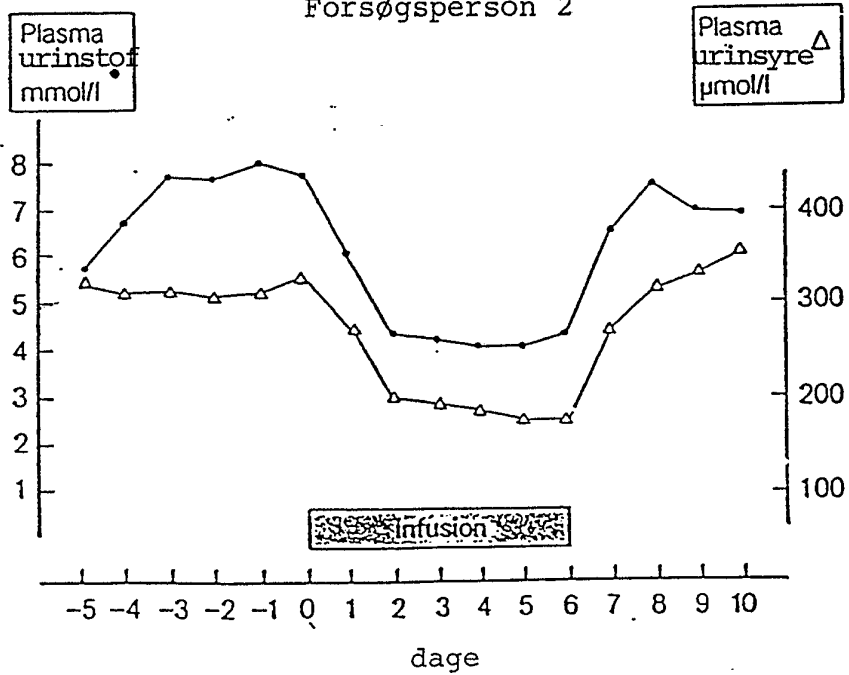
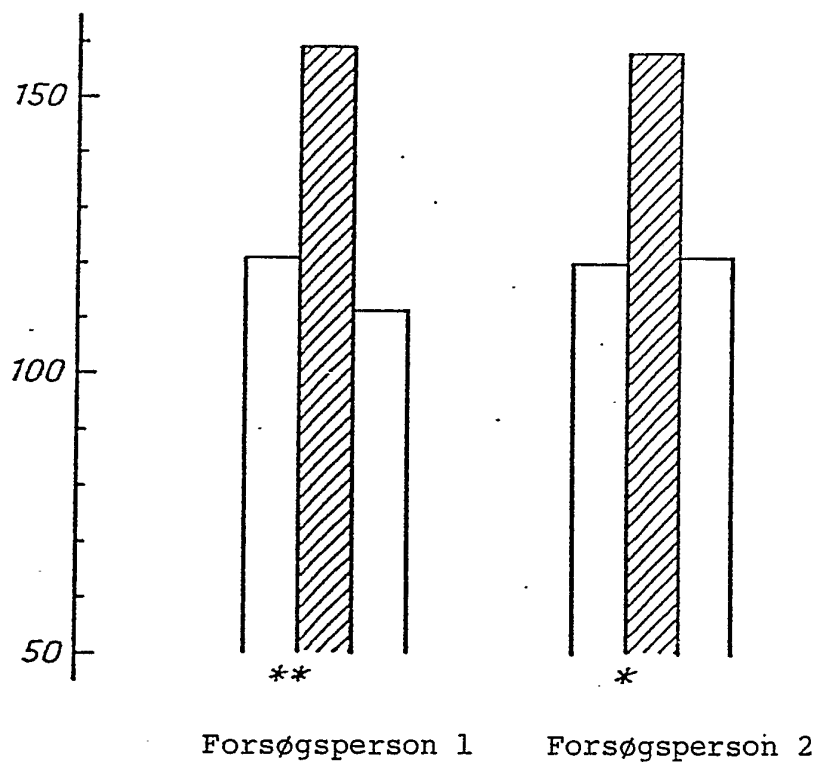


FIG. 5

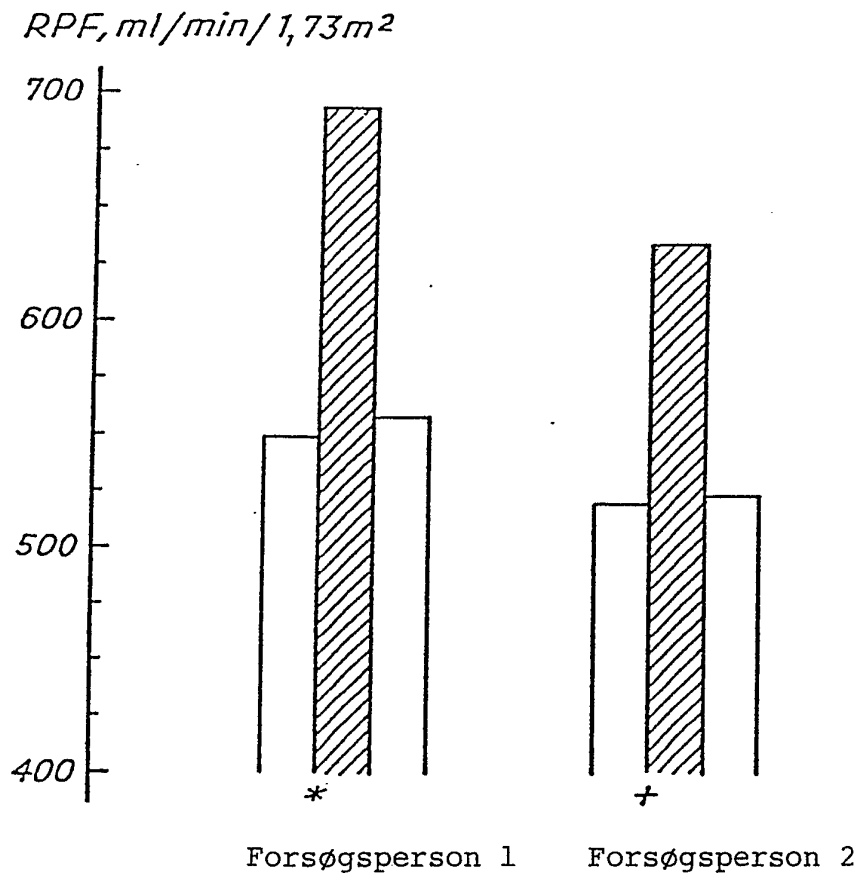
GFR, ml/min/1,73m²



□ før, efter
 ▨ under

** $p < 0,0005$
 * $p < 0,005$

FIG. 6



□ før, efter
▨ under

* $p < 0,005$

+ $p < 0,025$

FIG. 7

