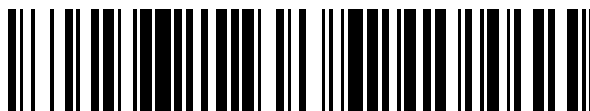


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 783**

51 Int. Cl.:  
**A61K 38/30** (2006.01)  
**A61P 5/00** (2006.01)  
**A01N 37/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04817764 .6**  
96 Fecha de presentación: **09.09.2004**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1667521**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.06.2006**

54 Título: **MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA DEFICIENCIA DE FACTOR 1 DE CRECIMIENTO SIMILAR A LA INSULINA (IGF-1).**

30 Prioridad:  
**12.09.2003 US 502579 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**08.02.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**08.02.2012**

73 Titular/es:  
**TERCICA, INC.**  
**2000 SIERRA POINT PARKWAY, SUITE 400**  
**BRISBANE, CA 94005, US**

72 Inventor/es:  
**CLARK, Ross G.**

74 Agente: **Miltenyi, Peter**

ES 2 373 783 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Métodos para el tratamiento de la deficiencia de factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGF-1)

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a métodos y composiciones para aumentar las tasas de crecimiento, aliviar los síntomas o mejorar el metabolismo de pacientes humanos que tienen deficiencia de factor 1 de crecimiento similar a la insulina.

**Antecedentes de la invención**

10 La Academia Americana de Pediatría ("*American Academy of Pediatrics*") y la Academia Americana de Endocrinología Clínica ("*American Academy of Clinical Endocrinology*") definen una talla baja basada en la altura como más de dos desviaciones estándar inferior a la altura promedio de la población. Un niño con talla baja es más bajo que el 97,5% de los niños de edad y sexo similares y normalmente alcanzan alturas adultas finales de no más de aproximadamente 5'4" para los chicos y 4'11" para las chicas. Se estima que 380.000 niños en los Estados Unidos con talla baja se derivan a endocrinólogos pediátricos para su evaluación.

15 Los niños con talla baja que se derivan para su evaluación y posible tratamiento siguen representando un dilema para los especialistas a pesar de décadas de investigación dedicada. Para pacientes sin causa demostrable para su defecto en el crecimiento, las pruebas diagnósticas que habitualmente siguen buscan en primer lugar diferenciar entre la variación normal, en la que el niño debe alcanzar una altura adulta que concuerda con la de su familia, y estados patológicos. En casos de talla baja marcada, en los que la altura adulta pronosticada es también baja, a menudo se hace necesario someter a prueba el estado del eje hormona de crecimiento (GH)-factor de crecimiento similar a la insulina (IGF).

20 Los pacientes con anomalías en el eje GH-IGF tienen varias posibles etiologías. Pueden presentar deficiencia de GH (GHD), a veces atribuibles a lesiones del sistema nervioso central (SNC) adquiridas o congénitas que afectan al hipotálamo o la hipófisis, lo que va acompañado casi invariablemente de niveles de IGF-1 bajos en niños. Alternativamente, pueden presentar "deficiencia de IGF primaria" asociada con niveles de IGF-1 bajos en medio de una secreción de GH aparentemente normal. Debido a que el IGF-1 es un mediador esencial de los efectos sobre la estatura de la GH, la deficiencia de IGF primaria puede tener desenlaces clínicos similares a la deficiencia de GH. Tales casos de deficiencia de IGF primaria, en pacientes por lo demás bien nutridos y sanos, es probable que estén provocados por un defecto en algún lugar en el eje GH-IGF posterior a la secreción de GH. Este tipo de insensibilidad a la GH está todavía sin explicar en la mayoría de casos, aunque se ha asociado con mutaciones que afectan el dominio extracelular del receptor de GH en el 1-5% de los niños y adultos con talla baja idiopática (ISS), con mutaciones en Stat5b, con mutaciones en la subunidad lábil a ácido (ALS), o con mutaciones o polimorfismos en el propio gen de IGF-1.

25 La deficiencia de GH está bien reconocida como una enfermedad que requiere de terapia sustitutiva con GH para tratar la talla baja y en adultos para lograr la composición corporal, densidad ósea, función cardíaca y para el bienestar. Por el contrario, niveles de IGF bajos, en presencia de secreción de GH normal, se han asociado previamente de manera habitual sólo con una enfermedad rara, reconocida como síndrome de Laron o síndrome de insensibilidad a la hormona de crecimiento (GHIS).

30 La mayoría de pacientes con el síndrome de Laron o GHIS carecen de actividad de unión al receptor de la hormona de crecimiento y tienen una actividad de la proteína de unión a GH (GHBP) muy baja o ausente en sangre. Tales pacientes presentan una puntuación de desviación estándar de altura media (PDE) de aproximadamente -5 a -6, son resistentes al tratamiento con GH, y tienen concentraciones séricas aumentadas de GH y concentraciones séricas bajas de factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1). De niños, muestran crecimiento en estatura como respuesta al tratamiento con IGF-1.

35 La enfermedad de talla baja debida a defectos del receptor de GH parciales se consideraba tradicionalmente como una enfermedad principalmente caracterizada por un nivel de GHBP bajo en vez de un nivel de IGF-1 bajo, estando sólo los niveles de IGF-1 en el extremo inferior del intervalo normal. Específicamente, se define que el paciente tiene una altura de al menos aproximadamente 2 desviaciones estándar o más inferior a la media normal para la edad y sexo correspondientes (al menos -2,0 DE inferior a la media), un nivel sérico de proteína de unión a hormona de crecimiento de alta afinidad que es al menos 2 desviaciones estándar inferior a los niveles medios normales, un nivel sérico de IGF-1 que es inferior a los niveles medios normales y un nivel sérico de hormona de crecimiento que es al menos normal.

40 La importancia de esta clasificación de los diversos factores que afectan a la talla baja se muestra en los números relativos de pacientes que son: 1) deficientes en IGF-1 y deficientes en GH y 2) deficientes en IGF-1 y suficientes en GH. La bibliografía actual pronostica que muchos más niños y adultos serán deficientes en IGF-1 debido a la deficiencia de GH que los que serán deficientes en IGF-1 y suficientes en GH.

A diferencia de la deficiencia de GH (GHD), la deficiencia de IGF-1 (IGFD) no se ha reconocido ni apreciado como una enfermedad con orígenes endocrinos y que necesita terapia sustitutiva. Por tanto, sigue habiendo una necesidad en la técnica de métodos de tratamiento de niños y adultos deficientes en IGF-1 que no tengan síndrome de Laron o síndrome de insensibilidad parcial a la hormona de crecimiento.

5 La presente invención aborda estas necesidades.

### Bibliografía

La bibliografía de interés incluye: la patente estadounidense n.º 5.824.642; Salmon WD Jr. *et al.*, 1957, *J Lab Clin Med*, 49: 825-36; Liu, J-L y LeRoith, D, 1999, *Endocrinology* 140: 5178-84; Lupu, F *et al.*, 2001, *Dev Biol* 229: 141-62; Zhou, Y *et al.*, 1997, *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 13215-20; y Juul, 2003, *GH and IGF Research* 13: 113-170.

10 Van Wyk JJ. *The Somatomedins: biological actions and physiological control mechanisms in Hormonal Proteins and Peptides*, ed CH Li, 12: 81-175, Orlando, FL: Academic Press; Clemmons DR *et al.*, 1984, *Clin Endocrinol Metab* 13: 113-43; Clemmons DR *et al.*, 1979, *N Engl J Med* 301: 1138-42; Clemmons DR *et al.*, 1986, *Olin Endocrinol Metab* 15: 629-51); Liu, J-L y LeRoith, D, 1999, *Endocrinology* 140: 5178-84; Lupu, F *et al.*, 2001, *Dev Biol* 229: 141-62; Zhou, Y *et al.*, 1997, *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 13215-20).

### 15 Sumario de la invención

La presente invención proporciona usos médicos para aumentar las tasas de crecimiento, aliviar los síntomas o mejorar el metabolismo de pacientes humanos que tienen deficiencia de factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGFD). La invención se refiere a usos médicos del factor 1 de crecimiento similar a la insulina para tratar a un

20 paciente que tiene una altura que, en el momento del tratamiento o antes del tratamiento inicial con IGF-1, es al menos aproximadamente 2 desviaciones estándar inferior a una media normal para la edad y sexo correspondientes, un nivel en sangre de IGF-1 que, y en el momento del tratamiento o antes del tratamiento inicial con IGF-1, es inferior a los niveles medios normales, habitualmente al menos aproximadamente 1 desviación estándar inferior a los niveles medios normales para la edad y sexo correspondientes.

La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de una población de pacientes que pueden beneficiarse de la complementación con IGF-1. Se identifican tales pacientes al tener niveles en sangre de IGF-1

25 bajos, es decir, niveles en sangre de IGF-1 inferiores a los niveles medios normales, descritos en el presente documento como deficientes en IGF-1 ("IGFD"). La presente invención establece que la talla baja está relacionada más comúnmente con un nivel de IGF-1 bajo que asociada a una secreción de GH baja. Además, la talla baja se correlaciona mejor con un nivel de IGF-1 bajo que con un nivel de GHBP bajo. Puesto que los médicos usan

30 puntuaciones de desviación estándar (PDE) para caracterizar la altura, una puntuación de desviación estándar de IGF-1 (PDE de IGF-1) indica a cuántas desviaciones estándar está un nivel de IGF-1 de una persona del nivel promedio de la población de una edad y sexo similares. Además, se ha descubierto que un número significativo de niños con talla baja grave o extrema (-3 PDE para la altura) tienen una secreción de GH al menos normal aunque son muy deficientes en IGF porque presentan niveles de IGF-1 que están en puntuaciones de -3 PDE o menos.

35 Estos pacientes se caracterizan por padecer IGFD primaria grave.

Por consiguiente, la invención muestra el uso del factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) para la fabricación de un medicamento para tratar a un sujeto pediátrico humano que presenta deficiencia primaria de factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGFD), en el que el sujeto se caracteriza por lo siguiente:

40 en el momento del tratamiento o antes del tratamiento inicial con IGF-1, tiene o tenía una altura de al menos 2 desviaciones estándar (DE) inferior a la altura media normal para un sujeto de la misma edad y sexo, y

en el momento del tratamiento o antes del tratamiento inicial con IGF-1, tiene o tenía un nivel en sangre de IGF-1 al menos 1 DE inferior a los niveles medios normales para un sujeto de la misma edad y sexo,

en el que el sujeto se caracteriza además por tener un nivel en sangre de hormona de crecimiento (GH), siendo dicho nivel en sangre de GH al menos normal para un sujeto de la misma edad y sexo,

45 en el que el sujeto no tiene un nivel en sangre de proteína de unión a hormona de crecimiento de alta afinidad que es al menos 2 DE inferior a los niveles medios normales,

en el que el sujeto no tiene síndrome de Laron o síndrome de insensibilidad parcial a la hormona de crecimiento,

50 en el que el síndrome de Laron se refiere a un paciente que presenta carencia completa de función del receptor de la hormona de crecimiento o síndrome de insensibilidad completa a la hormona de crecimiento. En realizaciones relacionadas, dicho uso alivia al menos un síntoma de IGFD. En realizaciones relacionadas adicionales, dicho uso proporciona un aumento en la tasa de crecimiento o altura.

En realizaciones relacionadas con cada uno de los aspectos de la invención anteriores, el sujeto se caracteriza además por tener niveles en sangre al menos normales de proteína de unión a hormona de crecimiento (GHBP) (por ejemplo, dentro de un intervalo de aproximadamente -2,0 hasta aproximadamente +2,0 DE de una media normal).

Todavía en otras realizaciones, el sujeto tiene un nivel en sangre de IGF-1 que es al menos aproximadamente 2,0 DE inferior a los niveles medios normales.

En una realización de particular interés, se administra IGF-1 en una dosis de aproximadamente 20 a 240  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ , IGF-1 que puede administrarse por vía subcutánea.

- 5 En realizaciones relacionadas con los aspectos anteriores de la invención, el sujeto se caracteriza además por tener un nivel en sangre al menos normal de proteína de unión a hormona de crecimiento (GHBP). Todavía en otras realizaciones, el sujeto tiene un nivel en sangre de IGF-1 que es al menos aproximadamente 2,0 DE inferior a los niveles medios normales. En una realización de particular interés, se administra IGF-1 en una dosis de aproximadamente 20 a 240  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ , IGF-1 que puede administrarse por vía subcutánea. En realizaciones relacionadas adicionales, dicha administración alivia al menos un síntoma de IGFD. Todavía en realizaciones relacionadas adicionales, dicha administración proporciona un aumento en la tasa de crecimiento o altura.

- 10 La administración de IGF-1 da como resultado el alivio de un síntoma asociado con IGFD, que incluye anomalías de lípidos, densidad ósea disminuida, obesidad, resistencia a la insulina, rendimiento cardíaco disminuido, masa muscular disminuida, tolerancia al ejercicio disminuida. Cuando el paciente con IGFD es un niño, de particular interés es la administración de IGF-1 para proporcionar un aumento en la altura y tasa de crecimiento del paciente.

- 15 La invención es útil en el tratamiento de niños de talla baja para acelerar su crecimiento para aumentar su altura.

El paciente tiene un nivel en sangre de IGF-1 de al menos -1,0 DE, en ciertas realizaciones al menos 2,0 DE inferior a los niveles medios normales.

- 20 En ciertas realizaciones, la invención proporciona métodos para aumentar la tasa de crecimiento o reducir los efectos metabólicos de la deficiencia de IGF de un paciente mediante la administración de una cantidad eficaz de IGF-1 de 20 a 240  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ . En ciertas realizaciones, se administra IGF-1 por vía subcutánea.

### Definiciones

Antes de describir la invención en mayor detalle, se exponen las siguientes definiciones para ilustrar y definir el significado y alcance de los términos usados para describir la invención en el presente documento.

- 25 Tal como se usa en el presente documento, "paciente" se refiere a cualquier mamífero, incluyendo seres humanos, bovinos, ovinos, porcinos, caninos y felinos, que necesitan tratamiento. En ciertas realizaciones, el paciente es un ser humano. En general, los métodos de la invención son aplicables a pacientes adultos y pediátricos.

- 30 Tal como se usa en el presente documento, "deficiencia de factor 1 de crecimiento similar a la insulina", "deficiencia de IGF-1", o "IGFD" se refieren a un estado asociado con las siguientes características, una altura de al menos aproximadamente 2 desviaciones estándar (DE) inferior al nivel medio normal para la edad y sexo correspondientes, un nivel en sangre de IGF-1 que es al menos 1 DE inferior a los niveles medios normales. En general, la IGFD puede deberse a una resistencia a la acción de la GH o como resultado de la deficiencia de la GH (GHD). La IGFD que se debe a la resistencia a la acción de la GH se denomina IGFD primaria, mientras la IGFD que resulta de GHD se denomina IGFD secundaria. La IGFD primaria se distingue de la IGFD secundaria porque la IGFD primaria está asociada con niveles en sangre de GH al menos normales, mientras que la IGFD secundaria está asociada con niveles en sangre de GH bajos.

- 35 Por tanto, la IGFD primaria se refiere a un estado asociado con las siguientes características, una altura de al menos aproximadamente 2 desviaciones estándar (DE) inferior a la media normal para la edad y sexo correspondientes, un nivel en sangre de IGF-1 que es inferior a los niveles medios normales, y un nivel en sangre estimulado medio o máximo de hormona de crecimiento (GH) que es al menos normal (por ejemplo, niveles en sangre de GH normales o superiores a los niveles en sangre de GH normales). Los niveles de GHBP están generalmente dentro del intervalo normal.

- 40 IGFD primaria pediátrica se refiere a pacientes pediátricos con IGFD, mientras que IGFD primaria adulta se refiere a pacientes adultos con IGFD. La IGFD primaria adulta es similar a la IGFD primaria pediátrica y está asociada con una altura de al menos 2 DE inferior a la media normal para la edad y sexo correspondientes, un nivel en sangre de IGF-1 que es al menos 2 DE inferior a la media normal para la edad y sexo correspondientes, y niveles de hormona de crecimiento normales. Los pacientes con IGFD primaria adulta tienen tensión arterial aumentada, rendimiento cardíaco disminuido, cardiopatía, enfermedad renal, rendimiento en ejercicio alterado, masa muscular disminuida, densidad ósea disminuida, obesidad y anomalías del metabolismo de lípidos e hidratos de carbono. Los pacientes pediátricos con IGFD primaria pueden tener su altura o tasa de crecimiento aumentada, mientras que los pacientes adultos ya no pueden lograr una mayor altura. En ciertas realizaciones, los métodos objeto no abarcan tratar pacientes pediátricos con IGFD primaria que tienen un nivel en sangre de proteína de unión a hormona de crecimiento de alta afinidad que es al menos 2 DE inferior a los niveles medios normales y no tienen síndrome de Laron.

La expresión "concentración en sangre", tal como en las frases "concentración en sangre de IGF-1" o "concentración en sangre de IGF-1 o IGF-1", se refiere a una concentración de un agente (por ejemplo, IGF-1 o IGF-1) obtenida en sangre completa o en un fluido obtenido de la sangre, tal como plasma o suero.

5 Tal como se usa en el presente documento, "talla baja" significa un sujeto que tiene una puntuación de desviación estándar de altura de aproximadamente  $\leq 2$  DE inferior que la media normal para un individuo de la misma edad y sexo.

10 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "síndrome de Laron" se refiere a un paciente que presenta carencia completa de función del receptor de la hormona de crecimiento (GHR) o síndrome de insensibilidad completa a la hormona de crecimiento (GHIS). Tales pacientes tienen una puntuación de desviación estándar de altura (PDE) media de aproximadamente -5 a -6 y responden al tratamiento con IGF-1. En pacientes con defectos en el dominio extracelular de la GHR, la carencia de GHBP funcional en la circulación puede servir como marcador para la insensibilidad a la GH. Los síntomas comunes adicionales del "síndrome de Laron" incluyen rostro y mandíbula pequeños, puente nasal deprimido, abombamiento frontal, obesidad, voz aguda e hipoglucemia en la primera infancia. Bioquímicamente, los pacientes con síndrome de Laron se caracterizan habitualmente por tener concentraciones de GH en sangre aumentadas y concentraciones de GHBP en sangre bajas, pero concentraciones de IGF-1 en sangre bajas.

20 Tal como se usa en el presente documento, "síndrome de insensibilidad parcial a la hormona de crecimiento", o "GHIS parcial" se refiere a un síndrome en el que el paciente responde a las mismas dosis de GH que las administradas a pacientes deficientes en GH, pero que no responden tampoco. Este síndrome se caracteriza además porque el paciente tiene una altura de al menos aproximadamente 2 desviaciones estándar inferior a la media normal para una edad y sexo correspondientes, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 desviaciones estándar o más inferior a la media normal para una edad y sexo correspondientes (por ejemplo, una DE de -2,0 o -4,0), tiene un nivel en sangre de GHBP de alta afinidad que es al menos 2 desviaciones estándar (normalmente de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 desviaciones estándar) inferior al nivel medio normal para seres humanos, tiene un nivel en sangre de IGF-1 que es inferior al nivel medio normal para seres humanos y tiene una nivel en sangre estimulado medio o máximo de GH que es al menos normal. Niveles en sangre medios son la media de las mediciones en el paciente.

30 Tal como se usa en el presente documento, "IGF-1" se refiere al factor 1 de crecimiento similar a la insulina de cualquier especie, incluyendo bovina, ovina, porcina, equina, aviar y preferiblemente ser humano, en secuencia nativa o en forma variante, y de cualquier fuente, ya sea natural, sintética o recombinante.

35 Adecuado para su uso en los métodos objeto es el IGF-1 maduro, de secuencia nativa humana, por ejemplo, sin una metionina N-terminal, preparado, por ejemplo, mediante el procedimiento descrito en el documento EP 230.869 publicado el 5 de agosto de 1987; el documento EP 128.733 publicado el 19 de diciembre de 1984; o el documento EP 288.451 publicado el 26 de octubre de 1988. Más preferiblemente, este IGF-1 de secuencia nativa se produce de manera recombinante y está disponible para investigaciones clínicas (véanse, por ejemplo, los documentos EP 123.228 y 128.733). El término "rhIGF-1" se refiere a IGF-1 humano recombinante.

40 Tal como se usa en el presente documento, la referencia a "variantes" o "análogos, homólogos y miméticos" de IGF-1 abarca compuestos que difieren de la estructura del IGF-1 nativo por tan sólo la sustitución y/o delección de uno o más residuos del mismo, con respecto a compuestos que no tienen similitud estructural aparente. Sin embargo, tales compuestos, en todos los casos, tienen sustancialmente la misma actividad que IGF-1 nativo. Por tanto, "análogos" se refiere a compuestos que tienen la misma estructura básica que IGF-1, pero difieren en varios residuos; "homólogos" se refiere a compuestos que difieren de IGF-1 nativo por la delección y/o sustitución de un número limitado de residuos; y "miméticos" se refiere a compuestos que no tienen similitud estructural específica con respecto a IGF-1 (de hecho, un mimético incluso no necesita ser un polipéptido), pero tal compuesto presentará la actividad biológica característica de IGF-1 y/o estimulará la producción de IGF-1 endógeno por el organismo o aumentará la cantidad de IGF-1 endógeno disponible para unirse a receptores de IGF-1.

50 Adecuadas para su uso en la presente invención son las variantes de IGF-1 descritas en las patentes estadounidenses n.ºs 5.077.276 publicada el 31 de diciembre de 1991; 5.164.370; 5.470.828; en el documento PCT WO 87/01038 publicado el 26 de febrero de 1987 y en el documento PCT WO 89/05822 publicado el 29 de junio de 1989, es decir, aquéllas en las que al menos el residuo de ácido glutámico está ausente en la posición 3 del extremo N-terminal de la molécula madura o aquéllas que tienen una delección de hasta cinco aminoácidos en el extremo N-terminal. La variante más preferida tiene los tres primeros aminoácidos del extremo N-terminal delecionados (de manera diversa denominada IGF cerebral, tIGF-1, des(1-3)-IGF-1 o des-IGF-1). Otros compuestos son los compuestos desplazadores de IGF-1 tal como se describen a continuación, y en la patente estadounidense n.º 6.121.416, 6.251.865 y 6.420.518.

55 Tal como se usa en el presente documento, una "proteína de unión a IGF" o "IGFBP" se refiere a una proteína o polipéptido normalmente asociado con o unido o complejo con IGF-1 o IGF-2, ya sea o no circulatorio (es decir, en sangre (por ejemplo, suero) o tisular). Tales proteínas de unión no incluyen receptores. Esta definición incluye IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-5, IGFBP-6, Mac 25 (IGFBP-7), y factor estimulante de prostaciclina

(PSF) o molécula específica de células endoteliales (ESM-1), así como otras proteínas con alta homología con IGFBP. Mac 25 se describe, por ejemplo, en Swisshelm *et al.*, 1995, Proc Natl Acad Sci USA, 92: 4472-4476 y Oh *et al.*, J Biol Chem, 271: 30322-30325 (1996). PSF se describe en Yamauchi *et al.*, 1994, Biochem J, 303: 591-598. ESM-1 se describe en Lassalle *et al.*, 1996, J Biol Chem, 271: 20458-20464. Para otras IGFBP identificadas, véanse, por ejemplo, el documento EP 375.438 publicado el 27 de junio de 1990; el documento EP 369.943 publicado el 23 de mayo de 1990; el documento WO 89/09268 publicado el 5 de octubre de 1989; Wood *et al.*, 1988, Mol Endocrinol, 2: 1176-1185; Brinkman *et al.*, 1988, EMBO J, 7: 2417-2423; Lee *et al.*, 1988, Mol Endocrinol, 2: 404-411; Brewer *et al.*, 1988, Biochem Biophys Res Comm, 152: 1289-1297; el documento EP 294,021 publicado el 7 de diciembre de 1988; Baxter *et al.*, 1987, Biochem Biophys Res Comm, 147: 408-415; Leung *et al.*, 1987, Nature, 330: 537-543; Martin *et al.*, 1986, J Biol Chem, 261: 8754-8760; Baxter *et al.*, 1988, Comp Biochem Physiol, 91B: 229-235; el documento WO 89/08667 publicado el 21 de septiembre de 1989; el documento WO 89/09792 publicado el 19 de octubre de 1989 y Binkert *et al.*, 1989, EMBO J, 8: 2497-2502.

Tal como se usa en el presente documento, IGF-1 "activo", "bioactivo", "biológicamente activo" o "libre" en el contexto de niveles tisulares y en sangre cambiantes de IGF-1 endógeno se refiere a IGF-1 que se une a un receptor de IGF o un receptor de insulina, o un receptor de IGF/insulina híbrido, o a una proteína de unión a IGF, o que provoca de otra manera que se produzca una actividad biológica de IGF-1 exógeno o endógeno.

Tal como se usa en el presente documento, "proteína de unión a hormona de crecimiento de alta afinidad" o "GHBP de alta afinidad" se refiere al dominio extracelular del GHR que circula en la sangre y funciona como GHBP en varias especies (Ymer *et al.*, 1985, Mol. Cell. Endocrinol. 41: 153; Smith *et al.*, 1988, Endocrinology 123: 1489-1494; Emtner *et al.*, 1990, Acta Endocrinologica (Copenh.), 122: 296-302), incluyendo el hombre (Baumann *et al.*, 1986, J. Clin. Endocrinol. Metab., 62: 134-141; el documento EP 366.710 publicado el 9 de mayo de 1990; Herington *et al.*, 1986, J. Clin. Invest., 77: 1817-1823; Leung *et al.*, 1987, Nature 330: 537-543. Se ha descrito también una segunda BP con menor afinidad para GH que no parece estar relacionada estructuralmente con GHR (Baumann *et al.*, 1990, J. Clin. Endocrinol. Metab. 70: 680-686). Existen diversos métodos para medir GHBP funcional en sangre, siendo el método preferido un ensayo inmunofuncional mediado por ligando (LIFA) descrito por Carlsson *et al.* (1991, J. Clin. Endocrinol. Metab. 73: 1216) y la patente estadounidense n.º 5.210.017.

Tal como se usa en el presente documento, "aumentar la tasa de crecimiento de un paciente" no sólo incluye la situación en la que el paciente logra una altura final similar a la de los pacientes deficientes en GH tratados con GH (es decir, pacientes con diagnóstico de GHD) o pacientes deficientes en IGF-1 tratados con IGF-1, sino que también se refiere a una situación en la que el paciente alcanza la altura a una tasa de crecimiento similar que los pacientes deficientes en GH tratados con GH o pacientes deficientes en IGF-1 tratados con IGF-1, o logra una altura adulta que está cerca del intervalo de altura objetivo, es decir, una altura final más de acuerdo con su potencial genético tal como se determina mediante la altura objetivo parental media.

Tal como se usa en el presente documento, "alivio de un síntoma de IGFD" se refiere a lograr un beneficio terapéutico para un síntoma asociado con la deficiencia de IGF-1. Los síntomas de los pacientes con IGFD incluyen, pero no se limitan a, tasas de crecimiento y altura disminuidas, tensión arterial aumentada, rendimiento cardíaco disminuido, cardiopatía, enfermedad renal, enfermedad neurológica, rendimiento en ejercicio alterado, masa muscular disminuida, densidad ósea disminuida, obesidad y anomalías del metabolismo de lípidos e hidratos de carbono. Por tanto, el alivio de síntomas de IGFD da como resultado un aumento de las tasas de crecimiento y altura, densidad ósea, estructura ósea, una mejora de la función cardíaca y renal y una mejora de la composición corporal y el control de la glucosa.

Tal como se usa en el presente documento, "tratamiento" o "tratar" se refiere a la inhibición de la evolución de una enfermedad o trastorno, por ejemplo, talla baja o IGFD, o al retraso de la aparición de una enfermedad o trastorno, por ejemplo, talla baja o IGFD, ya sea físicamente, por ejemplo, estabilización de un síntoma perceptible, fisiológicamente, por ejemplo, estabilización de un parámetro físico, o ambos. Tal como se usa en el presente documento, los términos "tratamiento", "tratar" y similares se refieren a obtener un efecto fisiológico y/o farmacológico deseado. El efecto puede ser profiláctico en cuanto a prevenir parcial o completamente una enfermedad o estado, o un síntoma del mismo y/o puede ser terapéutico en cuanto a una cura completa o parcial para una enfermedad o trastorno y/o efecto adverso atribuible a la enfermedad o trastorno. "Tratamiento", tal como se usa en el presente documento, cubre cualquier tratamiento de una enfermedad o trastorno en un mamífero, tal como un ser humano, e incluye: disminuir el riesgo de muerte debido a la enfermedad; prevenir que la enfermedad o trastorno se produzca en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero al que aún no se le ha diagnosticado que la tiene; inhibir la enfermedad o trastorno, es decir, detener su desarrollo (por ejemplo, reducir la velocidad de evolución de la enfermedad); y calmar la enfermedad, es decir, provocar el retroceso de la enfermedad. Los beneficios terapéuticos de la presente invención incluyen, pero no se limitan necesariamente a, la reducción del riesgo de aparición o la gravedad de la enfermedad o estados asociados con talla baja o IGFD.

Tal como se usa en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto suficiente para tratar o gestionar una enfermedad o trastorno, por ejemplo, talla baja o IGFD. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede referirse a la cantidad de un compuesto que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o la gestión de una enfermedad o trastorno. Además, una cantidad terapéuticamente

eficaz con respecto a un compuesto de la invención significa la cantidad de compuesto solo o en combinación con otras terapias que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o la gestión de una enfermedad o trastorno. El término puede abarcar una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita efectos no deseados, o potencia la eficacia terapéutica de o experimenta sinergia con otro agente terapéutico.

5 Tal como se usa en el presente documento, una “composición farmacéutica” pretende abarcar una composición adecuada para su administración a un sujeto, tal como un mamífero, especialmente un ser humano. En general, un “composición farmacéutica” es estéril y está preferiblemente libre de contaminantes que puedan provocar una respuesta no deseada dentro del sujeto (por ejemplo, el/los compuesto(s) en la composición farmacéutica es/son de calidad farmacéutica). Las composiciones farmacéuticas pueden diseñarse para su administración a sujetos o  
10 pacientes que necesitan las mismas mediante varias vías de administración diferentes incluyendo oral, bucal, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, intratraqueal y similares. En algunas realizaciones, la composición es adecuada para su administración mediante una vía transdérmica, usando un potenciador de la penetración distinto de DMSO. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas son adecuadas para su administración mediante una vía distinta de la administración transdérmica.

15 Tal como se usa en el presente documento, la frase “portador farmacéuticamente aceptable” se refiere a un medio portador que no interfiere con la eficacia de la actividad biológica del principio activo. Dicho medio portador es de manera esencial químicamente inerte y no tóxico.

Tal como se usa en el presente documento, la frase “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o un gobierno estatal o enumerado en la farmacopea estadounidense u otra  
20 farmacopea reconocida de manera general para su uso en animales y más particularmente para su uso en seres humanos.

Tal como se usa en el presente documento, el término “portador” se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto terapéutico. Tales portadores pueden ser líquidos estériles, tales como disoluciones salinas en agua, o aceites, incluyendo los de origen del petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Una disolución salina es un portador preferido cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. Pueden emplearse también disoluciones salinas y disoluciones acuosas de dextrosa y glicerol como portadores líquidos, particularmente para disoluciones inyectables. Los excipientes farmacéuticos aceptables incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, caliza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol; agua, etanol y similares. El portador, si se desea, puede contener también cantidades minoritarias de agentes emulsionantes o humectantes, o agentes de tamponamiento del pH. Estas composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de disoluciones, suspensiones, emulsión, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida y similares. La composición puede formularse como un supositorio, con portadores y aglutinantes tradicionales tales como triglicéridos. Ejemplos de portadores farmacéuticos adecuados se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences por E. W. Martin. Ejemplos de portadores farmacéuticos adecuados son una variedad de lípidos y poliaminas catiónicas, incluyendo, pero sin limitarse a cloruro de N-(1(2,3-dioleiloxi)propil)-N,N,N-trimetilamonio (DOTMA) y diolesilfosfolidiletanolamina (DOPE). Los liposomas son portadores adecuados para usos de terapia génica de la invención. Tales composiciones farmacéuticas deben contener una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto, junto con una cantidad adecuada de portador de modo que se proporcione la forma para una administración apropiada al sujeto. La formulación debe adecuarse al modo de administración.

Tal como se usa en el presente documento, “derivados farmacéuticamente aceptables” de un compuesto de la invención incluyen sales, ésteres, enol éteres, ésteres de enol, acetales, cetales, ortoésteres, hemiacetales, hemicetales, ácidos, bases, solvatos, hidratos o profármacos del mismo. Tales derivados pueden prepararse fácilmente por los expertos en la técnica usando métodos conocidos para tal derivatización. Los compuestos producidos pueden administrarse a animales o seres humanos sin efectos tóxicos sustanciales y o bien son farmacéuticamente activos o bien son profármacos.

Tal como se usa en el presente documento, la frase “sales farmacéuticamente aceptables” se refiere a sales preparadas a partir de bases y ácidos esencialmente no tóxicos, farmacéuticamente aceptables, incluyendo bases y ácidos orgánicos e inorgánicos. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las formadas con grupos amino libres tales como las derivadas de ácidos clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, etc., y las formadas con grupos carboxilo libres tales como las derivadas de hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio, férrico, isopropilamina, trietilamina, 2-etilaminoetanol, histidina, procaína, etc.

Tal como se usa en el presente documento, la frase “nivel en sangre estimulado máximo o medio de GH” significa un nivel de GH de aproximadamente 5 ng/ml en adultos y aproximadamente 10 ng/ml en niños tal como se mide mediante un radioinmunoanálisis tras una prueba de estimulación con GH en el que se administra un compuesto que produce la liberación de GH.

“En combinación con” tal como se usa en el presente documento se refiere a usos en los que, por ejemplo, el primer compuesto se administra durante el todo el ciclo de administración del segundo compuesto; en los que el primer

5 compuesto se administra durante un periodo de tiempo que se solapa con la administración del segundo compuesto, por ejemplo en los que la administración del primer compuesto comienza antes de la administración del segundo compuesto y la administración del primer compuesto termina antes de terminar la administración del segundo compuesto; en los que la administración del segundo compuesto comienza antes de la administración del primer compuesto y la administración del segundo compuesto termina antes de terminar la administración del primer compuesto; en los que la administración del primer compuesto empieza antes de comenzar la administración del segundo compuesto y la administración del segundo compuesto termina antes de terminar la administración del primer compuesto; en los que la administración del segundo compuesto comienza antes de comenzar la administración del primer compuesto y la administración del primer compuesto termina antes de terminar la administración del segundo compuesto. Como tal, "en combinación" puede referirse también a un régimen que implica la administración de dos o más compuestos. "En combinación con" tal como se usa en el presente documento también se refiere a la administración de dos o más compuestos que pueden administrarse en las mismas o diferentes formulaciones, mediante la misma o diferentes vías y en el misma o diferente tipo de forma de dosificación.

15 Se indica adicionalmente que las reivindicaciones pueden redactarse para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta afirmación pretende servir como base de antecedentes para el uso de terminología exclusiva tal como "solamente", "sólo" y similares en conexión con la mención de elementos de las reivindicaciones, o el uso de una limitación "negativa".

20 Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta un décimo de la unidad del límite inferior a menos que el contexto dicte claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor establecido o intermedio en ese intervalo indicado, se abarca dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden estar incluidos independientemente en los intervalos más pequeños, y también se abarcan dentro de la invención, sujetos a cualquier límite excluido específicamente en el intervalo establecido. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, se incluyen también en la invención intervalos que excluyen cualquiera o ambos de los límites incluidos.

25 A menos que se defina lo contrario, todos los términos científicos y técnicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto habitual en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque puede usarse también cualquier método y material similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o las pruebas de la presente invención, se describen ahora los métodos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en el presente documento se incorporan en el presente documento como referencia para dar a conocer y describir los métodos y/o materiales en conexión con los que se citan las publicaciones.

30 Debe observarse que tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un/a" y "el/la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a "un individuo" incluye uno o más individuos, y la referencia a "el método" incluye la referencia a etapas y métodos equivalentes conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

35 Las publicaciones tratadas en el presente documento se proporcionan solamente para su descripción antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada en el presente documento debe interpretarse como una admisión de que la presente invención no tiene derecho a preceder a tal publicación en virtud de la invención previa. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales que pueden necesitar confirmarse independientemente. La mención o discusión de una referencia en el presente documento no debe interpretarse como una admisión de que la misma es técnica anterior a la presente invención.

La invención se describirá ahora en más detalle.

#### **Breve descripción de los dibujos**

45 La figura 1 es un gráfico que representa un gráfico de PDE de altura frente al nivel en sangre de IGF-1 en pacientes adultos previamente caracterizados por padecer diabetes mellitus tipo 2.

#### **Descripción detallada de la invención**

50 La presente invención se basa en el hallazgo sorprendente de que la administración de IGF-1 aumenta el crecimiento en talla de ciertas poblaciones de pacientes pediátricos que no se sabía previamente que eran susceptibles al tratamiento con IGF-1 para lograr una altura más normal (por ejemplo, hacia o dentro del intervalo normal para una edad y sexo correspondientes). Sin querer restringirse a ninguna teoría en particular, aunque se ha encontrado que el nivel de proteína de unión a hormona de crecimiento (GHBP) refleja el estado del receptor de GH real, no es un buen indicador de rutas de señalización intracelulares "posteriores" al acontecimiento de unión al receptor de GH. Por tanto, existen sorprendentemente muchos más pacientes pediátricos que tienen pruebas de resistencia a GH que los que pueden identificarse midiendo sólo el nivel de GHBP. En vista de los descubrimientos descritos en el presente documento, se estima ahora que un número sorprendentemente grande de niños, aproximadamente 60.000 niños en Estados Unidos y Europa occidental padecen deficiencia primaria de factor de



- crecimiento similar a la insulina (IGFD). Además, aproximadamente 12.000 niños en Estados Unidos y Europa están aquejados de IGFD primaria grave, definidos como niños que tienen una PDE de altura de al menos menos tres ( $\leq -3$ ) por debajo de la media normal para una edad y sexo correspondientes (es decir, al menos 3 o más DE inferior), con una PDE de IGF-1 de al menos menos tres ( $\leq -3$ ) por debajo de la media normal para una edad y sexo correspondientes (es decir, al menos 3 o más DE inferior) y niveles de hormona de crecimiento que están al menos dentro del intervalo normal. Si se deja sin tratar, estos niños que padecen IGFD primaria grave alcanzarán alturas adultas finales de no más de aproximadamente 5'1" para chicos y 4'9½" para chicas.
- Por consiguiente, un gran número de adultos padecen los efectos metabólicos adversos de la IGFD durante toda la vida. Al menos 120.000 individuos en Estados Unidos y Europa occidental padecen IGFD primaria adulta. La IGFD primaria adulta se caracteriza normalmente por deficiencia de IGF-1 durante toda la vida. Este trastorno es similar a la IGFD primaria pediátrica y está asociado con una PDE de altura de al menos menos dos ( $\leq -2$ ) por debajo de la media normal para una edad y sexo correspondientes (es decir, al menos 2 o más DE inferior), una PDE de IGF-1 de al menos menos dos ( $\leq -2$ ) por debajo de la media normal (es decir, al menos 2 o más DE inferior) y niveles de hormona de crecimiento normales. Los pacientes con IGFD adultos tienen tensión arterial aumentada, rendimiento cardíaco disminuido, cardiopatía, enfermedad renal, rendimiento en ejercicio alterado, masa muscular disminuida, densidad ósea disminuida, obesidad y anomalías del metabolismo de lípidos e hidratos de carbono. La terapia sustitutiva con rhIGF-1 tendrá efectos beneficiosos con respecto a estas anomalías metabólicas y funcionales.
- Se ha detectado una asociación entre altura adulta y la mortalidad provocada por cardiopatía coronaria (CHD) en varios estudios. El muy extenso "estudio de salud en enfermeras", una cohorte prospectiva de 121.700 enfermeras de sexo femenino estadounidenses de 30-55 años de edad mostró que la altura está inversamente relacionada con el riesgo de cardiopatía coronaria en mujeres (Rich-Edwards *et al.*, 1995, *Am J Epidemiol.* 142: 909-17). Además, un estudio reciente que relaciona la talla baja con procedimientos clínicos en 1.046 hombres, mostró que los hombres más bajos tenían una prevalencia superior y mayor gravedad de CHD verificada por angiografía (Nwasokwa *et al.*, 1997, *Am Heart J* 133: 147-52). Recientemente, se ha demostrado que la talla baja es un factor de riesgo independiente para cardiopatía coronaria (Forsen *et al.*, 2000, *J Intern Med.* 248: 326-32). Estos autores especulan sobre, aunque descartan, que una deficiencia de hormona de crecimiento sea una posible causa de la talla baja original y los efectos adversos posteriores sobre el corazón. Además, estos autores no especulan sobre la posibilidad de que la IGFD pudiera ser la causa de la talla baja y la cardiopatía coronaria en estos pacientes con talla baja.
- Otro estudio extenso en Europa demostró que la talla baja está asociada con varios trastornos metabólicos y que la desproporción esquelética está asociada con diabetes en hombres mientras que se confirma la asociación de la talla baja con cardiopatía coronaria en mujeres (Han *et al.*, 1997, *Eur J Clin Nutr.* 51: 804-9).
- Además, existe también una relación entre talla baja y enfermedad renal. Un estudio reciente midió el nivel de albumina en la orina de 3.960 pacientes que tenían 40 años de edad y más (Metcalf *et al.*, 1997, *Int Journal of Obesity* 21: 203-210). Se definió que estaba presente microalbuminuria si había más de 28 mg/dl de albumina en la orina basándose en el valor de referencia de la población normal. Se midió también la altura de los individuos. La microalbuminuria persistente es predictiva de nefropatía diabética (enfermedad renal) y de morbimortalidad aumentada por enfermedad cardiovascular. En estos pacientes la talla baja fue un factor de pronóstico significativo del aumento de excreción de albumina urinaria. Otros estudios han encontrado una relación similar (Gould *et al.*, 1993, *Br Med J* 306: 240-243). Metcalf *et al.* no explican la base de esta relación entre la altura y un marcador de enfermedad renal. Debido a la relación no esperada descrita en la presente memoria descriptiva entre el nivel en sangre de IGF-1 y la altura, puede proporcionarse una explicación para estos hallazgos.
- Existe una bibliografía extensa que muestra que IGF-1 afecta al riñón en cuanto a tanto la estructura como la función (Clark y Roelfsema, 2001, *J Am Soc Nephrol.* 12: 1297-306). Por tanto, puede observarse que la relación anterior entre altura y enfermedad renal puede explicarse mediante los niveles en sangre de IGF-1 que varían con la altura. Por tanto, pacientes que son bajos y presentan bajos niveles en sangre de IGF-1 (pacientes que son IGFD) son los pacientes que se beneficiarían más del tratamiento con IGF-1. En estos pacientes con IGFD, se esperaría que la terapia sustitutiva con IGF-1 redujese la microalbuminuria, mejorase la función renal y redujese la mortalidad.
- Está claro que no es la propia altura la que tiene estos efectos, sino los mecanismos subyacentes que afectan a la altura. Forsen *et al.* establecen que los factores y los mecanismos a través de los que los factores actúan siguen siendo desconocidos. Se ha demostrado en pacientes obesos y en diabéticos tipo 2 que los niveles en sangre de IGF-1 globales son relativamente normales (Frystyk *et al.*, 1999, *Diabetes Metab Res Rev.* 15: 314-22). Sin embargo, existe poca información sobre los niveles de IGF-1 en adultos, o en adultos bajos con enfermedad cardiovascular o cardiopatía.
- El nivel de IGF-1 bajo en presencia de niveles de GH que son al menos normales es indicativo de resistencia a GH. Este concepto de síndrome de insensibilidad a la hormona de crecimiento (GHIS), siendo un nivel de GHBP bajo indicativo de resistencia a GH, presupone que la resistencia a GH estaría asociada con un nivel en sangre bajo de GHBP y por tanto un número bajo de receptores de GH. Sin embargo, se reconoce ahora como parte de esta invención que muchos más pacientes que los descritos anteriormente son bajos debido a resistencia a GH. Esto es

debido, tal como se describe en el presente documento, a que las mediciones primarias de la resistencia a GH son la concentración en sangre de IGF-1 y el nivel en sangre de GH en vez del nivel en sangre de la GHBP. Sin querer restringirse a ninguna teoría, es más probable que la resistencia a GH se deba a defectos en la señalización de GH intracelular que a un déficit en el número o la función de los receptores de GH en las propias células.

5 Por tanto, está claro que el nivel en sangre de GHBP es sólo indicativo del grado de resistencia a GH en una minoría de pacientes. Un mejor indicador, o marcador sanguíneo, o característica bioquímica de un paciente, del grado de resistencia a GH (tal como se observa en individuos que padecen talla baja) es el nivel en sangre de IGF-1. Por tanto, la terapia sustitutiva con IGF-1 se calcula y se administra mejor a pacientes que son deficientes en IGF-1 que a los que son deficientes en GHBP.

10 El nivel de IGF-1 en sangre también tiene efectos metabólicos profundos. Por tanto, a medida que los niños con IGFD se hacen adultos, continúan padeciendo los efectos de la deficiencia de IGF-1. Puesto que tras la pubertad las placas de crecimiento en los huesos largos se fusionan y ya no puede producirse crecimiento de hueso y cartílago adicional, ni aumento en altura, la terapia sustitutiva con rhIGF-1 no provoca crecimiento en adultos. Sin embargo, niveles bajos de IGF-1 en sangre también están asociados frecuentemente con otros trastornos metabólicos, incluyendo anomalías de lípidos, densidad ósea disminuida, obesidad, resistencia a la insulina, rendimiento cardíaco disminuido, masa muscular disminuida, disminución de la tolerancia al ejercicio y el bienestar. Estos trastornos normalmente se hacen cada vez más evidentes después de un período prolongado de deficiencia de IGF-1, tal como se produce en la adultez. Por consiguiente, este trastorno se denomina IGFD adulta.

20 Es un objeto de la presente invención proporcionar métodos y composiciones para aumentar la altura y las tasas de crecimiento y mejorar el metabolismo y la función de pacientes con IGFD. En el caso de sujetos con IGFD, el objetivo de tratamiento es restaurar los niveles de IGF-1 biológicamente activo o aumentar la exposición del tejido a IGF-1, con respecto a la encontrada dentro de sujetos normales de la misma edad y sexo, y, en niños, aumentar de ese modo las alturas y la tasa de crecimiento de estos sujetos hasta dentro del intervalo normal para sujetos de la misma edad y sexo, mientras que, en adultos, reducir la incidencia de defectos funcionales y metabólicos adversos que caracterizan a la IGFD.

#### Administración de IGF-1

25 La presente invención proporciona usos para aumentar la altura y las tasas de crecimiento y mejorar el metabolismo de pacientes con IGFD administrando a los pacientes una cantidad eficaz de IGF-1. En algunas realizaciones, se usa IGF-1 humano nativo. En otras realizaciones, se usan variantes de IGF-1. Aún en otras realizaciones, se usan desplazadores de IGF-1.

30 Adecuadas para su uso en los métodos objeto son variantes de IGF-1. Pueden diseñarse variantes de IGF-1 que conservan una unión eficaz al receptor de IGF de tipo I, teniendo aún una unión reducida a proteínas portadoras séricas, por ejemplo IGFBP. En un aspecto, el diseño de estas variantes se basa en la observación de que la insulina no se une a proteínas portadoras séricas. Véase la patente estadounidense n.º 4.876.242, publicada el 24 de octubre de 1989, en el presente documento incorporada de manera expresa como referencia en su totalidad. Las pruebas de análogos de cadena doble similares a la insulina, sintéticos sugieren que los aminoácidos de IGF-1 responsables de la unión a la proteína portadora están en la región B de IGF-1. Por tanto, puede modificarse un gen sintético para IGF-1 humano para que codifique una variante de IGF-1 en la que los primeros 16 aminoácidos de hIGF-1 se sustituyen por los primeros 17 aminoácidos de la cadena B de la insulina humana. Entonces, se coloca el gen sintético en un sistema de expresión de ADN recombinante de levadura y el análogo peptídico que se produce mediante las células de levadura modificadas se extrae de las mismas y se purifica. Se han llevado a cabo modificaciones adicionales de la molécula de IGF-1 que conducen a análogos adicionales, todos los cuales tienen una unión sustancial a receptor de tipo I de IGF-1 y una unión reducida a proteínas portadoras séricas.

45 Otras variantes y análogos de IGF-1 bien conocidos en la técnica son adecuados también para su uso en los métodos objeto. Tales variantes incluyen, por ejemplo, la variante que tiene los residuos 1-69 de IGF-1 auténtico, descrito adicionalmente en el documento WO 96/33216, y los superagonistas de IGF-1 de cadena doble que son derivados del IGF-1 de cadena sencilla que se produce de manera natural que tiene un dominio C abreviado, descrito adicionalmente en el documento EP 742.228. Análogos de IGF-1 son de fórmula: BC<sup>n</sup>,A en la que B es el dominio B de IGF-1 o un análogo funcional del mismo, C es el dominio C de IGF-1 o un análogo funcional del mismo, n es el número de aminoácidos en el dominio C y es de desde aproximadamente 6 hasta aproximadamente 12 aminoácidos, incluyendo de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 aminoácidos, y A es el dominio A de IGF-1 o un análogo funcional del mismo.

55 También adecuados para su uso en los métodos objeto son mutantes funcionales de IGF-1 que se conocen bien en la técnica. Tales mutantes funcionales incluyen los descritos en Cascieri *et al.* (1988, *Biochemistry* 27: 3229-3233), que da a conocer cuatro mutantes de IGF-1, tres de los cuales tienen afinidad reducida por el receptor de IGF de tipo I. Estos mutantes son: (Phe<sup>23</sup>, Phe<sup>24</sup>, Tyr<sup>25</sup>)IGF-1 (que es equipotente con respecto a IGF-1 humano en su afinidad por los receptores de insulina e IGF tipos 1 y 2), (Leu<sup>24</sup>)IGF-1 y (Ser<sup>24</sup>)IGF-1 (que tienen una menor afinidad que IGF-1 por el receptor de IGF de tipo I placentario humano, el receptor de insulina placentario y el receptor de IGF de tipo I de células de rata y ratón) y desoctapéptido (Leu<sup>24</sup>)IGF-1 (en el que la pérdida de aromaticidad en la

posición 24 se combina con la delección de la región D carboxilo-terminal de hIGF-1, que tiene menor afinidad que (Leu<sup>24</sup>)IGF-1 por el receptor tipo I y mayor afinidad por el receptor de insulina). Estos cuatro mutantes tienen afinidades normales para proteínas de unión séricas humanas.

5 También adecuados para su uso con los métodos objeto incluyen análogos estructurales de IGF-1 bien conocidos en la técnica. Tales análogos estructurales incluyen los descritos en Bayne *et al.* (1988, J Biol Chem 264: 11004-11008), que dan a conocer tres análogos estructurales de IGF-1: (1-62)IGF-1 que carece de la región D de 8 aminoácidos carboxilo-terminal de IGF-1; (1-27,Gly<sup>4</sup>,38-70)IGF-1, en el que se sustituyen los residuos 28-37 de la región C de IGF-1 por un puente de cuatro residuos de glicina; y (1-27,Gly<sup>4</sup>, 38-62)IGF-1 con una sustitución de glicina de la región C y una delección de la región D. Peterkofsky *et al.* (1991, Endocrinology, 128: 1769-1779) dan a  
10 conocer datos usando el mutante Gly<sup>4</sup> de Bayne *et al.*, citado anteriormente. La patente estadounidense n.º 5.714.460 se refiere al uso de IGF-1 o un compuesto que aumenta la concentración activa de IGF-1 para tratar el daño neural.

Otros análogos estructurales incluyen los descritos en Cascieri *et al.* (1989, J Biol Chem, 264: 2199-2202), que dan a conocer tres análogos de IGF-1 en los que se sustituyen residuos específicos en la región A de IGF-1 por los correspondientes residuos en la cadena A de la insulina. Los análogos son: (Ile<sup>41</sup>, Glu<sup>45</sup>, Gln<sup>46</sup>, Thr<sup>49</sup>, Ser<sup>50</sup>, Ile<sup>51</sup>, Ser<sup>53</sup>, Tyr<sup>55</sup>, Gln<sup>56</sup>)IGF-1, un mutante de cadena A en el que se cambia el residuo 41 de treonina a isoleucina y se sustituyen los residuos 42-56 de la región A; (Thr<sup>49</sup>, Ser<sup>50</sup>, Ile<sup>51</sup>)IGF-1 y (Tyr<sup>55</sup>, Gln<sup>56</sup>)IGF-1.

Las variantes puntuales de IGF-1 que se unen a IGFBP-1 o IGFBP-3, inhibiendo así la interacción de IGF-1 endógeno con IGFBP, son adecuadas también para su uso con los métodos objeto y se describen en la patente estadounidense n.º 6.509.443.

En otra realización, se aumenta el nivel de IGF-1 administrando un compuesto que previene o inhibe la interacción de IGF-1 con sus proteínas de unión, tales como moléculas agonistas de IGF-1 que pueden inhibir eficazmente la interacción de IGF-1 con sus proteínas de unión, permitiendo de ese modo que IGF-1 se una al receptor de IGF para llevar a cabo su actividad. Tales agonistas de IGF-1 adecuados para su uso en los métodos objeto incluyen los descritos en véase la patente estadounidense n.º 6.251.865, publicada el 26 de junio de 2001, expresamente incorporada en el presente documento como referencia en su totalidad. Estas moléculas agonistas de IGF-1 pueden desplazar eficazmente el IGF-1 unido a IGFBP. Las proteína de unión a IGF (IGFBP) son una familia de al menos seis proteínas (véanse Jones y Clemmons, 1995, Endocr Rev, 16: 3-34; Bach y Rechler, 1995, Diabetes Reviews, 3: 38- 61), uniéndose también posiblemente otras proteínas relacionadas a IGF. Las IGFBP se unen a IGF-1 e IGF-2 con especificidades y afinidades variables. Véanse Jones y Clemmons, citado anteriormente; Bach y Rechler, citado anteriormente. Por ejemplo, la IGFBP-3 se une a IGF-1 e IGF-2 con una afinidad similar, mientras que IGFBP-2 e IGFBP-6 se unen a IGF-2 con una afinidad muy superior con la que se unen a IGF-1. Véanse Bach y Rechler, citado anteriormente; Oh *et al.*, 1993, Endocrinology, 132,1337-1344.

También adecuadas para su uso en los métodos objeto se incluyen moléculas de unión, distintas de IGFBP natural, como se describe en el documento WO 94/04569, que pueden prevenir la unión de IGF-1 a una IGFBP uniéndose a IGF-1 y potenciando de ese modo la actividad biológica de IGF-1. Además, otras moléculas que pueden prevenir o inhibir la interacción de IGF-1 con sus proteínas de unión incluyen inhibidores de ligandos de IGF-1, tal como se da a conocer en el documento WO 97/39032.

También adecuadas para su uso en los métodos objeto se incluyen variantes puntuales de IGF-1 que se unen a IGFBP-1 o IGFBP-3, inhibiendo así la interacción de IGF-1 endógeno con IGFBP, que se describen adicionalmente en la patente estadounidense n.º 6.509.443.

También adecuados para su uso en los métodos objeto se incluyen desplazadores de IGF que son péptidos descubiertos mediante presentación en fagos que pueden inhibir la interacción de un IGF con una cualquiera de sus proteínas de unión, tal como se describe adicionalmente en, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.ºs 6.420.518; 6.251.865 y 6.121.416, todas las cuales se incorporan expresamente por el presente documento como referencia en su totalidad.

Inhibidores no peptídicos de molécula pequeña también pueden liberar IGF-1 biológicamente activo del complejo IGF-1/IGFBP-3. Por ejemplo, se ha encontrado que análogos de isoquinolina son eficaces (véase Chen *et al.*, 2001, J Med Chem 44: 4001-10). Pueden encontrarse compuestos adicionales usando selección de alto rendimiento y el ensayo de unión a radioligando de IGFBP tal como se describe en Chen *et al.*, 2001.

Otros agonistas de IGF-1 incluyen, pero no se limitan a, moléculas pequeñas; fármacos sintéticos; péptidos; polipéptidos; proteínas; ácidos nucleicos (por ejemplo, nucleótidos de ADN y ARN incluyendo, pero sin limitarse a, secuencias de nucleótidos antisentido, hélices triples y secuencias de nucleótidos que codifican para proteínas, polipéptidos o péptidos biológicamente activos); anticuerpos; moléculas inorgánicas naturales o sintéticas; agentes miméticos y moléculas orgánicas naturales o sintéticas.

Además, la presente invención contempla el uso de terapia génica para administrar IGF-1 a pacientes. Generalmente, la terapia génica puede usarse para aumentar (o sobreexpresar) niveles de IGF-1 en el mamífero

usando un vector recombinante para expresar un gen de IGF-1. Además, la terapia génica puede usarse para expresar un ácido nucleico que codifica para un compuesto agonista de IGF, si es un péptido. Como otro ejemplo, pueden usarse oligonucleótidos antisentido para reducir la expresión de una IGFBP. Un experto en la técnica puede contemplar otros ejemplos de terapia génica.

5 Existen dos enfoques principales para introducir el ácido nucleico (opcionalmente contenido en un vector) en las células del sujeto para fines de terapia génica: *in vivo* y *ex vivo*. Para la administración *in vivo*, el ácido nucleico se inyecta directamente en el sujeto, habitualmente en el lugar en el que se requieren niveles de IGF-1 aumentados. Para el tratamiento *ex vivo*, se extraen células del sujeto, se introduce el ácido nucleico en estas células aisladas y se administran las células modificadas al sujeto o bien directamente o bien, por ejemplo, encapsuladas dentro de  
10 membranas porosas que se implantan en el sujeto. Véanse, por ejemplo las patentes estadounidenses n.<sup>os</sup> 4.892.538 y 5.283.187, ambas de las cuales se incorporan expresamente en el presente documento como referencia en su totalidad.

15 Existen una variedad de técnicas disponibles para introducir ácidos nucleicos en células viables. Las técnicas varían dependiendo de si se transfiere el ácido nucleico a células cultivadas *in vitro* o *in vivo* en las células del huésped pretendido. Las técnicas adecuadas para la transferencia del ácido nucleico en células mamíferas *in vitro* incluyen el uso de liposomas, electroporación, microinyección, fusión celular, DEAE-dextrano, el método de precipitación con fosfato de calcio, etc. Un vector comúnmente usado para la administración *ex vivo* del gen es un retrovirus.

20 Un ejemplo de una técnica de transferencia de ácido nucleico *in vivo* incluye la transfección con vectores virales (tales como adenovirus, virus del herpes simple I o virus adenoasociado) y sistemas basados en lípidos (lípidos útiles para la transferencia mediada por lípidos del gen son DOTMA, DOPE y DC-Chol, por ejemplo). En algunas situaciones es deseable dotar a la fuente de ácido nucleico de un agente que selecciona como diana las células diana, tal como un anticuerpo específico para una proteína de membrana de superficie celular o la célula diana, un ligando para un receptor en la célula diana, etc. Cuando se emplean liposomas, pueden usarse proteínas que se unen a una proteína de membrana de superficie celular asociada con endocitosis para el direccionamiento y/o  
25 facilitar la captación, por ejemplo, proteínas de la cápsida o fragmentos de la misma trópicos para un tipo de célula particular, anticuerpos para proteínas que experimentan internalización en ciclos, y proteínas que seleccionan como diana la localización intracelular y potencian la semivida intracelular. La técnica de endocitosis mediada por receptor se describe, por ejemplo, por Wu *et al.*, 1987, J Biol Chem, 262: 4429-4432; y Wagner *et al.*, 1990, Proc Natl Acad Sci USA, 87: 3410-3414. Para una revisión del marcaje génico conocido actualmente y protocolos de terapia génica, véanse Anderson *et al.*, 1992, Science, 256: 808-813 y el documento WO 93/25673 y las referencias citadas en el mismo.

#### Terapia de combinación

35 La terapia de combinación con IGF-1 y otros uno o más reactivos apropiados, tales como los que aumentan el nivel de IGF-1 total en la sangre o potencian el efecto del IGF-1, también se contempla por esta invención. En una realización, estos reactivos adicionales permiten generalmente un exceso de IGF-1 en sangre con respecto a la cantidad de IGFBP en sangre o que se libere IGF-1 de las IGFBP, e incluyen agentes promotores del crecimiento.

40 Los agentes promotores del crecimiento para este fin incluyen, pero no se limitan a, secretagogos de GH que promueven la liberación de GH endógena en mamíferos para aumentar las concentraciones del IGF en la sangre. Los ejemplos incluyen TRH, dietilestilbestrol, teofilina, encefalinas, prostaglandinas de la serie E, péptidos de la familia VIP-secretina-glucagón-GRF y otros secretagogos de GH tales como GHRP-6, GHRP-1 tal como se describe en la patente estadounidense n.<sup>o</sup> 4.411.890, y lactamas benzo-condensadas tales como las dadas a conocer en la patente estadounidense n.<sup>o</sup> 5.206.235. Véase también, por ejemplo, el documento WO 96/15148 publicado el 23 de mayo de 1996. Otros agentes promotores del crecimiento incluyen GHRP, GHRH, GH y sus análogos. Por ejemplo, se describen GHRP en los documentos WO 95/17422 y WO 95/17423 ambos publicados el 29 de junio de 1995; Bowers, J, 1993, *Pediatr Endocrinol*, 6: 21-31; y Schoen *et al.*, 1993, *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 28: 177-186. Se describen GHRH y sus análogos, por ejemplo, en el documento WO 96/37514 publicado el 28 de noviembre de 1996.

50 El reactivo puede coadministrarse secuencial o simultáneamente con IGF-1, y puede administrarse en una dosis igual, superior o inferior que si se usase solo dependiendo de factores tales como, por ejemplo, el tipo de reactivo usado, el fin para el que están usándose el reactivo y el compuesto, y las consideraciones clínicas. Además, otros medios de manipulación del estado de IGF, tales como regímenes de dieta o ejercicio, se considera también que son tratamientos de combinación como parte de esta invención.

55 En otra realización, se administra IGF-1 de manera apropiada junto con una cualquiera o más de sus proteínas de unión, por ejemplo, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-5 o IGFBP-6. Sin querer restringirse a ningún mecanismo, la coadministración de IGF-1 y una IGFBP puede proporcionar una mayor respuesta que IGF-1 solo aumentando la semivida de IGF-1.

Una proteína de unión adecuada para su uso es IGFBP-3, que se describe en la patente estadounidense n.<sup>o</sup> 5.258.287 y por Martin y Baxter, 1986, J Biol Chem, 261: 8754-8760. Esta proteína IGFBP-3 glicosilada es un

componente estable a ácido de aproximadamente 53 Kd en un gel de SDS-PAGE no reductor de un complejo de glicoproteína de 125-150 Kd hallado en el plasma humano que porta la mayoría de los IGF endógenos y también está regulada por GH.

5 La administración de la proteína de unión a IGF con IGF-1 puede lograrse mediante el método descrito en la patente estadounidense n.º 5.187.151. En resumen, se administran el IGF-1 y la IGFBP en cantidades eficaces mediante inyección en bolo subcutánea en una razón molar de desde aproximadamente 0,5:1 hasta aproximadamente 3:1, incluyendo desde aproximadamente 0,75:1 hasta aproximadamente 2:1, tal como aproximadamente 1:1.

Sujetos adecuados para el tratamiento

10 Los sujetos adecuados para el tratamiento con los usos dados a conocer en el presente documento incluyen sujetos que padecen IGFD. En general, la población de pacientes con IGFD tiene, por ejemplo, las siguientes características: 1) una altura de al menos aproximadamente 2 desviaciones estándar (DE) inferior a la media normal para la edad y sexo correspondientes, y 2) un nivel en sangre de IGF-1 que es al menos 1 DE inferior a los niveles medios normales. La presente invención abarca usos para tratar niños con IGFD que no tienen un nivel en sangre de proteína de unión a hormona de crecimiento de alta afinidad que es al menos 2 DE inferior a los niveles medios normales, y no tienen síndrome de Laron, y no tienen síndrome de insensibilidad parcial a la hormona de crecimiento (GHIS parcial).

En una realización, la presente invención abarca usos para tratar niños con IGFD que tienen un nivel en sangre estimulado máximo o medio de hormona de crecimiento que está al menos dentro del intervalo normal.

20 El sujeto que padece IGFD tiene una altura de al menos aproximadamente 2,0 DE inferior a la media normal para una edad y sexo correspondientes, por ejemplo, al menos aproximadamente 2,5 DE inferior a la media normal para una edad y sexo correspondientes (es decir, -2,5 DE), o al menos aproximadamente 3,0 DE inferior a la media normal para una edad y sexo correspondientes, al menos aproximadamente de manera habitual entre aproximadamente 2,0 DE y aproximadamente 3,0 DE inferior a la media normal para una edad y sexo correspondientes, entre aproximadamente 2,5 DE y aproximadamente 3,0 DE inferior a la media normal para una edad y sexo correspondientes, o al menos aproximadamente 3,0 DE inferior a la media normal para una edad y sexo correspondientes. El sujeto que padece IGFD presenta un nivel en sangre de IGF-1 al menos 1 DE inferior al intervalo normal para su edad y sexo correspondientes. Sujetos deficientes en IGF-1 pueden tener niveles en sangre de IGF-1 que son, por ejemplo, al menos aproximadamente 2,0 DE inferiores a los niveles medios normales para una edad y sexo correspondientes, al menos aproximadamente 3,0 DE inferiores a los niveles medios normales para una edad y sexo correspondientes, habitualmente desde aproximadamente 2,0 DE hasta aproximadamente 3,0 DE inferiores a los niveles medios normales para la edad y sexo correspondientes. Un paciente con IGFD puede tener también niveles en sangre de proteína de unión a hormona de crecimiento de alta afinidad inferiores a la media normal, pero no más de 2 DE inferiores a la media normal. En ciertas realizaciones, el nivel en sangre de proteína de unión a hormona de crecimiento de alta afinidad está entre los niveles medios normales y -0,5 DE inferior a los niveles medios normales, entre los niveles medios normales y 0,5 DE inferior a los niveles medios normales, entre 0,5 DE y 1,0 DE inferior a los niveles medios normales, entre 1,0 DE y 1,5 DE inferior a los niveles medios normales, o entre 1,5 DE y 2,0 DE inferior a los niveles medios normales.

40 Pueden identificarse pacientes de talla baja que se beneficiarán del aumento de los niveles de IGF-1 usando métodos de rutina conocidos en la técnica. Pueden detectarse los niveles de IGF-1 en sangre. Puede detectarse una anomalía genética asociada con IGF-1 usando ensayos genéticos convencionales. Puede detectarse un marcador para un déficit de IGF-1 local (tal como niveles de IGFBP-1) usando ensayos de rutina.

45 La medición de los niveles de IGF en un fluido biológico tal como un fluido corporal o sangre puede realizarse mediante cualquier medio, incluyendo RIA y ELISA. Por ejemplo, puede determinarse IGF-1 total en sangre mediante radioinmunoanálisis disponibles comercialmente (Medgenix Diagnostics, Bruselas, Bélgica; kit de RIA de IGF-1, Nichols Institute, San Juan Capistrano, CA) especialmente tras la extracción de la muestra de sangre usando etanol ácido para eliminar proteínas de unión que interfieren con la detección del IGF-1 compitiendo con anticuerpo anti-IGF-1. La IGFBP puede medirse usando ensayos inmunoradiométricos disponibles comercialmente (IRMA) para medir IGFBP-1 e IGFBP-3 (Diagnostic System Laboratories Inc., Webster, TX).

50 Otro método implica la medición del nivel de IGF en sangre activo o "libre". Por ejemplo, se describe un método en la patente estadounidense n.º 5.198.340. Se describe un método adicional en la patente estadounidense n.º 6.251.865, publicada el 26 de junio de 2001, para detectar IGF exógeno o endógeno unido a una proteína de unión a IGF o la cantidad de un compuesto que se une a una proteína de unión a IGF y no se une a un receptor de IGF humano unido a una proteína de unión a IGF o detectar el nivel de IGF no unido en un fluido biológico. Este método comprende: (a) poner en contacto el fluido con 1) un medio para detectar el compuesto que es específico para el compuesto (tal como un primer anticuerpo específico para epítomos en el compuesto) unido a un portador de fase sólida, de manera que en presencia del compuesto los sitios de unión a IGF permanecen disponibles en el compuesto para unirse a la proteína de unión a IGF, formando de ese modo un complejo entre los medios y la proteína de unión a IGF; y 2) el compuesto durante un periodo de tiempo suficiente para saturar todos los sitios de unión a IGF disponibles en la proteína de unión a IGF, formando de ese modo un complejo saturado; (b) poner en

5 contacto el complejo saturado con un segundo medio marcado de manera detectable que es específico para la proteína de unión a IGF (tal como un segundo anticuerpo específico para epítomos en la IGFBP) que están disponibles para unirse cuando el compuesto está unido a la proteína de unión a IGF; y (c) analizar de manera cuantitativa la cantidad de los medios marcados unidos como una medida de la IGFBP en el fluido biológico; y por tanto como una medida de la cantidad de compuesto unido y proteína de unión a IGF, IGF unido y proteína de unión a IGF o IGF activo presente en el fluido.

10 Las patentes estadounidenses n.º 5.593.844 y 5.210.017 dan a conocer un método de ensayo de proteína de unión inmunofuncional mediado por ligando que puede usarse para cuantificar la cantidad de IGFBP en una muestra líquida mediante el uso de anticuerpos, en el que tiene lugar la formación de un complejo entre una de estas proteínas de unión y el ligando que se une a la misma.

La técnica cuantitativa mencionada anteriormente usando anticuerpos, denominada método inmunofuncional mediado por ligando (LIFA), se describe para determinar la cantidad de IGFBP mediante el contacto con IGF en la patente estadounidense n.º 5.593.844.

#### Dosificación y programa de administración

15 El experto, tal como un médico o un doctor, puede determinar la selección de la dosis terapéuticamente eficaz (por ejemplo, mediante ensayos clínicos), basándose en la consideración de varios factores que conocerá un experto habitual en la técnica. Tales factores incluyen, por ejemplo, la forma particular de IGF-1 y los parámetros farmacocinéticos del compuesto tales como biodisponibilidad, metabolismo, semivida y similares, que se establecen durante los procedimientos de desarrollo normalmente empleados en la obtención de una aprobación regulatoria de un compuesto farmacéutico. Factores adicionales al considerar la dosis incluyen la enfermedad o el estado que va a tratarse, el beneficio que va a lograrse en un sujeto, la masa corporal del sujeto, el estado inmunitario del sujeto, la vía de administración, si la administración del compuesto o agente terapéutico de combinación es aguda o crónica, medicamentos concomitantes y otros factores conocidos por el experto para afectar a la eficacia de los agentes farmacéuticos administrados.

25 La identificación y el tratamiento de IGFD como un nuevo estado tienen paralelismos directos con la identificación y el tratamiento de GHD. Otros han observado (Drake *et al.*, 2001, *Endocrine Reviews* 22: 425-450) que fue sólo la llegada de las técnicas de obtención de imágenes neurorradiológicas modernas en 1989 la que permitió que se estableciera el diagnóstico de la deficiencia de GH en adultos con certeza. Fue esta identificación de pacientes con hipófisis dañadas o pequeñas y niveles de IGF-1 bajos y niveles de GH bajos la que ayudó en gran medida en el establecimiento de un diagnóstico de GHD adulta. Fue también por tanto sólo relativamente reciente que se reconociera que existe un síndrome clínico característico asociado con el defecto de secreción de GH espontánea y que se ha establecido el uso de GH recombinante para revertir muchas de sus características.

30 En cuanto a cómo tratar con IGF-1, es instructivo considerar los métodos mediante los que se pone en práctica la terapia sustitutiva con GH. En adultos no existe ningún marcador biológico de la acción de la GH que sea el equivalente de la altura o el crecimiento en un niño. Por tanto, es difícil juzgar la eficacia de la sustitución con GH en adultos. La evaluación de la sustitución con GH óptima se hace difícil por la aparición de efectos secundarios si se administran dosis demasiado altas. El tratamiento con GH se inicia por tanto a dosis bajas, aumentándose entonces las dosis hasta la dosis que es la dosis de mantenimiento final. Adicionalmente, es muy instructivo que la dosificación de GH apropiada en adultos se determina de la mejor manera mediante la medición de los niveles en sangre de IGF-1, de modo que se evitan niveles suprafisiológicos de IGF-1 .

35 Además, el uso de antagonistas de la hormona de crecimiento ha sido también instructivo. En estados de exceso de GH (tal como acromegalia), el objetivo actual del tratamiento con antagonistas de la hormona de crecimiento es reducir los niveles de IGF-1 al intervalo normal. La medición de los niveles en sangre de IGF-1 se ha caracterizado como un indicador específico y sensible para la presencia de acromegalia y la persistencia de la enfermedad tras la terapia (Freda, 2003, *GH and IGF Research* 13: 171-184).

40 Existen ahora datos normativos sobre los niveles en sangre de IGF-1 que se han medido en muchos miles de pacientes, de modo que se han establecido puntuaciones de desviación estándar de IGF-1 (PDE de IGF-1) (Juil, *GH and IGF Research* 13, 113-170, 2003). Al igual que en los niños, estos datos normativos se ajustan a la edad y el sexo para establecer el intervalo normativo para un sujeto a una edad y sexo dados.

45 Es claramente un argumento paralelo que la terapia sustitutiva apropiada en adultos (y en niños) es establecer las dosis de IGF-1 que elevan los niveles de IGF-1 al intervalo normal ajustado a la edad. Ha habido mucho trabajo reciente para establecer el intervalo normal de los niveles de IGF-1 en niños y adultos (Juil, *GH and IGF Research* 13, 113-170, 2003).

55 En algunas realizaciones, la cantidad farmacéuticamente eficaz de IGF-1 total administrada vía parenteral por dosis estará en el intervalo de aproximadamente 10 µg/kg/día a aproximadamente 400 µg/kg/día, incluyendo de aproximadamente 20 µg/kg/día a aproximadamente 200 µg/kg/día, tal como, de aproximadamente 40 µg/kg/día a aproximadamente 100 µg/kg/día, del peso corporal del sujeto, aunque, esto estará sujeto a un gran acuerdo de

5 criterio terapéutico. Las dosis preferidas para adultos están en el intervalo de aproximadamente 10 µg/kg/día a aproximadamente 160 µg/kg/día. Otras dosis de interés para adultos están en el intervalo de aproximadamente 10 µg/kg/día a aproximadamente 180 µg/kg/día. En algunas realizaciones de particular interés, se administran de 20 a 240 µg/kg/día de IGF-1 al sujeto. El IGF-1 puede administrarse mediante cualquier medio, incluyendo inyecciones (únicas o múltiples, por ejemplo, 1-4 al día) o infusiones. En ciertas realizaciones, el IGF-1 se administra una o dos veces al día mediante inyección subcutánea. Si se usa una formulación de liberación lenta, normalmente las dosificaciones usadas (calculadas en una base diaria) serán menores, hasta la mitad de las descritas anteriormente.

10 La presente invención proporciona además usos para aumentar la tasa de crecimiento usando una composición farmacéutica de IGF-1, y un portador farmacéuticamente aceptable. Los portadores farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen composiciones farmacéuticas químicamente inertes y no tóxicas esencialmente que no interfieren con la eficacia de la actividad biológica de la composición farmacéutica. Los ejemplos de portadores farmacéuticos adecuados incluyen, pero no se limitan a, disoluciones salinas, disoluciones de glicerol, etanol, cloruro de N-(1(2,3-dioleiloxi)propil)-N,N,N-trimetilamonio (DOTMA), diolesilfosfotidiletanolamina (DOPE) y liposomas. Tales composiciones farmacéuticas deben contener una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto, junto con una cantidad de portador adecuada de modo que se proporciona la forma para una administración apropiada al sujeto. La formulación debe adecuarse al modo de administración. Por ejemplo, la administración oral requiere recubrimientos entéricos para proteger los compuestos de la invención frente a la degradación dentro del tubo digestivo. En otro ejemplo, los compuestos de la invención pueden administrarse en una formulación liposomal, particularmente para ácido nucleicos, para proteger los compuestos frente a enzimas degradativas, facilitar su transporte en el sistema circulatorio y efectuar la administración a través de las membranas celulares a sitios intracelulares.

15 En otra realización, una composición farmacéutica comprende una proteína IGF-1, y/o uno o más agentes terapéuticos; y un portador farmacéuticamente aceptable. En una realización, una composición farmacéutica, que comprende una proteína IGF-1, con o sin otros agentes terapéuticos; y un portador farmacéuticamente aceptable, está en una dosis eficaz.

20 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse como formas de sales o neutras. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las formadas con grupos amino libres tales como las derivadas de ácidos clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico tartárico, etc., y las formadas con grupos carboxilo libres tales como las derivadas de hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio, férrico, isopropilamina, trietilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína, etc.

25 En algunas realizaciones, la composición se formula según procedimientos de rutina como una composición farmacéutica adaptada para inyección subcutánea o administración intravenosa a seres humanos. Normalmente, las composiciones farmacéuticas para inyección subcutánea o administración intravenosa son disoluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Cuando es necesario, la composición puede incluir también un agente solubilizante y un anestésico local tal como lidocaína para aliviar el dolor en el lugar de la inyección. Generalmente, se suministran los componentes o bien de manera separada o bien mezclados entre sí en forma farmacéutica unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado libre de agua en un recipiente sellado herméticamente tal como una ampolla o sobre indicando la cantidad de principio activo. Cuando la composición va a administrarse mediante infusión, puede dispensarse con una botella, bolsa u otro recipiente aceptable de infusión, que contiene agua de calidad farmacéutica estéril, solución salina u otros diluyentes aceptables. Cuando la composición se administra mediante inyección, puede proporcionarse en una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de modo que los componentes pueden mezclarse antes de la administración.

30 En ciertas realizaciones, la formulación para IGF-1 es la descrita en la patente estadounidense n.º 5.681.814. Esta formulación es tal como sigue: de aproximadamente 2 a aproximadamente 20 mg/ml de IGF-1, de aproximadamente 2 a aproximadamente 50 mg/ml de un osmolito, de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 mg/ml de al menos un estabilizador y un tampón (tal como un tampón de sal de ácido acético o acetato de sodio) en una cantidad tal que la composición tiene un pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 5,5. Opcionalmente, la formulación puede contener también un tensioactivo, preferiblemente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mg/ml, tal como de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 mg/ml.

35 En algunas realizaciones, el osmolito es una sal inorgánica a una concentración de aproximadamente 2-10 mg/ml o un alcohol de azúcar a una concentración de aproximadamente 40 a aproximadamente 50 mg/ml, el estabilizador es alcohol bencílico, fenol o ambos, y la disolución tamponada es una disolución tamponada de sal de ácido acético. En realizaciones adicionales, el osmolito es una sal inorgánica, tal como cloruro de sodio.

40 Aún en realizaciones adicionales, la formulación incluye de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 mg/ml de IGF-1, de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 mg/ml de cloruro de sodio, alcohol bencílico como estabilizador en una cantidad de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 mg/ml y/o fenol en una cantidad de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 mg/ml, y aproximadamente tampón de acetato de sodio 50 mM de modo que el pH sea de aproximadamente 5,4. Opcionalmente, la formulación contiene polisorbato como tensioactivo en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 mg/ml.

- 5 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral pueden proporcionarse, por ejemplo, como cápsulas o comprimidos; como polvos o gránulos; como disoluciones, jarabes o suspensiones (en líquidos acuosos o no acuosos); como espumas comestibles o batidos; o como emulsiones. Los comprimidos o cápsulas de gelatina dura pueden comprender, por ejemplo, lactosa, almidón o derivados de los mismos, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio, ácido esteárico o sales de los mismos. Las cápsulas de gelatina blanda pueden comprender, por ejemplo, aceites vegetales, ceras, grasas, polioles líquidos o semisólidos, etc. Las disoluciones y jarabes pueden comprender, por ejemplo, agua, polioles y azúcares.
- 10 Un principio activo del que se desea administración oral puede recubrirse con o mezclarse con un material (por ejemplo, monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo) que retarda la disgregación o afecta a la absorción del principio activo en el tracto gastrointestinal. Por tanto, por ejemplo, la liberación sostenida de un principio activo puede lograrse a lo largo de muchas horas y, si es necesario, el principio activo puede protegerse frente a la degradación dentro del tracto gastrointestinal. Aprovechando las diversas condiciones enzimáticas y de pH a lo largo del tracto gastrointestinal, las composiciones farmacéuticas para la administración oral pueden formularse para facilitar la liberación de un principio activo en una ubicación gastrointestinal particular.
- 15 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen, pero no se limitan a, disoluciones o suspensiones inyectables estériles acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen que las composiciones farmacéuticas sean sustancialmente isotónicas con la sangre de un receptor deseado. Otros componentes que pueden estar presentes en tales composiciones farmacéuticas incluyen agua, alcoholes, polioles, glicerina y aceites vegetales, por ejemplo. Las composiciones adaptadas para la administración parenteral pueden presentarse en recipientes de dosis unitarias o dosis múltiples, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que requiere la adición de un vehículo líquido estéril, por ejemplo, solución salina estéril para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Las disoluciones y suspensiones de inyección extemporáneas pueden prepararse a partir de comprimidos, gránulos y polvos estériles. Tales composiciones farmacéuticas deben contener una cantidad terapéutica o cosméticamente eficaz de un compuesto que aumente los niveles en sangre de IGF-1, junto con una cantidad de vehículo adecuada para proporcionar la forma para administración apropiada al sujeto. La formulación debe ajustarse al modo de administración.
- 20 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica pueden proporcionarse como parches discretos destinados a mantenerse en contacto íntimo con la epidermis durante un periodo de tiempo prolongado. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden proporcionarse como, por ejemplo, pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, disoluciones, pastas, geles, pulverizadores, aerosoles o aceites. Una pomada o crema tópica se usa preferiblemente para la administración tópica a la piel, boca, ojo u otros tejidos externos. Cuando se formula en una pomada, el principio activo puede emplearse con o bien una base para pomada parafínica o bien una miscible en agua. Alternativamente, el principio activo puede formularse en una crema con una base de aceite en agua o una base de agua en aceite.
- 25 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica al ojo incluyen, por ejemplo, colirios o composiciones farmacéuticas inyectables. En estas composiciones farmacéuticas, el principio activo puede disolverse o suspenderse en un vehículo adecuado, que incluye, por ejemplo, un disolvente acuoso con o sin carboximetilcelulosa. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica en la boca incluyen, por ejemplo, pastillas de disolución oral, pastillas y enjuagues bucales.
- 30 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal pueden comprender vehículos sólidos tales como polvos (preferiblemente que tengan un tamaño de partícula en el intervalo de 20 a 500 micrómetros). Los polvos pueden administrarse de la manera en que se ingiere el rapé, es decir, mediante inhalación rápida a través de la nariz desde un recipiente de polvo sostenido cerca de la nariz. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas aceptadas para la administración nasal pueden comprender vehículos líquidos tales como, por ejemplo, pulverizadores nasales o gotas nasales. Estas composiciones farmacéuticas pueden comprender disoluciones acuosas u oleosas del principio activo. Las composiciones para la administración mediante inhalación pueden suministrarse en dispositivos adaptados especialmente que incluyen, pero no se limitan a, aerosoles presurizados, nebulizadores o insufladores, que pueden construirse de modo que se proporcionen dosificaciones predeterminadas del principio activo.
- 35 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración rectal pueden proporcionarse como supositorios o enemas. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración vaginal pueden proporcionarse, por ejemplo, como formulaciones en óvulos, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizadores.
- 40 Los supositorios generalmente contienen principios activos en el intervalo del 0,5% al 10% en peso. Las formulaciones orales preferiblemente contienen del 10% al 95% del principio activo en peso.
- 45 Aun en otra realización, el IGF-1 puede administrarse usando formulaciones de IGF-1 de acción prolongada que o bien retrasan el aclaramiento del IGF-1 del sitio o bien producen una liberación lenta de IGF-1 de, por ejemplo, un sitio de inyección o administración. La formulación de acción prolongada que prolonga el aclaramiento en plasma de IGF-1 puede estar en la forma de IGF-1 complejo o conjugado de manera covalente (mediante uniones
- 50
- 55



reversibles o irreversibles) a una macromolécula tal como un polímero soluble en agua seleccionado de homopolímeros de propilenglicol y PEG y polioles de polioxietileno, es decir, que son solubles en agua a temperatura ambiente. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.824.642. Alternativamente, el IGF-1 puede complejarse o unirse a un polímero para aumentar su semivida circulatoria. Ejemplos de polioles de polietileno y polioles de polioxietileno útiles para este fin incluyen polioxietilenglicerol, polietilenglicol, polioxietilensorbitol, polioxietilenglucosa o similares. La estructura principal del glicerol de polioxietilenglicerol es la misma estructura principal que se produce en, por ejemplo, animales y seres humanos en mono, di y triglicéridos. No es necesario que el polímero tenga ningún peso molecular en particular, pero se prefiere que el peso molecular sea de entre aproximadamente 3.500 y 100.000, más preferiblemente entre 5.000 y 40.000. Preferiblemente, el homopolímero de PEG no está sustituido, pero también puede estar sustituido en un extremo con un grupo alquilo. Preferiblemente, el grupo alquilo es un grupo alquilo C1-C4, y lo más preferiblemente un grupo metilo. Lo más preferiblemente, el polímero es un homopolímero de PEG no sustituido, un homopolímero de PEG sustituido por monometilos (mPEG), o polioxietilenglicerol (POG) y tiene un peso molecular de aproximadamente 5.000 a 40.000.

El IGF-1 puede acoplarse también a un receptor o anticuerpo o fragmento de anticuerpo para la administración.

La administración de las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen, pero no se limitan a, oral, infusión intravenosa, inyección subcutánea, intramuscular, tópica, inyección depo, implantación, modo de liberación a lo largo del tiempo, intracavitaria, intranasal, inhalación, intratumoral, intraocular y de liberación controlada. Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden introducirse por vía parenteral, por vía transmucosa (por ejemplo, por vía oral), por vía nasal, por vía rectal, por vía intravaginal, por vía sublingual, por vía submucosa o por vía transdérmica. Preferiblemente, la administración es parenteral, es decir, no a través del canal de alimentación sino más bien a través de alguna otra vía, por ejemplo, administración intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intraorbital, intracapsular, intraespinal, intraesternal, intraarterial o intradérmica. El experto puede apreciar las ventajas y desventajas específicas que deben considerarse al escoger un modo de administración. La invención abarca múltiples modos de administración. Por ejemplo, una proteína IGF-1 se administra mediante inyección subcutánea, mientras que un agente terapéutico de combinación se administra mediante infusión intravenosa. Además, la administración de una o más especies de proteínas IGF-1, con o sin otros agentes terapéuticos, puede producirse de manera simultánea (es decir, coadministración) o de manera secuencial. Por ejemplo, una proteína IGF-1 se administra en primer lugar para aumentar la sensibilidad a la administración posterior de un segundo agente terapéutico o terapia. En otra realización, pueden solaparse los periodos de administración de una o más especies de proteína IGF-1, con o sin otros agentes terapéuticos. Por ejemplo, una proteína IGF-1 se administra durante 7 días, y se introduce un segundo agente terapéutico empezando en el quinto día de tratamiento con la proteína IGF-1, y el tratamiento con el segundo agente terapéutico continua más allá del tratamiento con proteína IGF-1 de 7 días. El IGF-1 también puede administrarse de manera intermitente de una manera cíclica tal como se describe en la patente estadounidense n.º 5.565.428.

En una realización, una composición farmacéutica de la invención se administra mediante un sistema de liberación sostenido o controlado. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede administrarse usando infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche transdérmico, liposomas u otros modos de administración. En una realización, puede usarse una bomba (véanse, por ejemplo, Langer, 1990, *Science* 249: 1527-33; Sefton, 1987, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14: 201; Buchwald *et al.*, 1980, *Surgery* 88: 507; Saudek *et al.*, 1989, *N. Engl. J. Med.* 321: 574). En otra realización, el compuesto puede administrarse en una vesícula, en particular un liposoma (véanse, por ejemplo, Langer, *Science* 249: 1527-33 (1990); Treat *et al.*, 1989, in *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer*, Lopez-Berestein y Fidler (eds.), Liss, New York, págs. 353-65; Lopez-Berestein, *ibid.*, págs. 317-27 publicación de patente internacional n.º WO 91/04014; patente estadounidense n.º 4.704.355). En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos (véanse, por ejemplo, *Medical Applications of Controlled Release*, Langer y Wise (eds.), CRC Press: Boca Raton, Florida, 1974; *Controlled Drug Bioavailability Drug Product Design and Performance*, Smolen y Ball (eds.), Wiley: New York (1984); Ranger y Peppas, 1953, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23: 61; Levy *et al.*, 1985, *Science* 228: 190; During *et al.*, 1989, *Ann. Neurol.* 25: 351; Howard *et al.*, 1989, *J. Neurosurg.* 71: 105). Ejemplos adecuados de composiciones de liberación sostenida incluyen matrices de polímero semipermeable en la forma de artículos conformados, por ejemplo, películas, o microcápsulas. Las matrices de liberación sostenida incluyen ácidos polilácticos (patente estadounidense n.º 3.773.919, el documento EP 58.481), los copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato (véase Sidman *et al.*, 1983, *Biopolymers*, 22: 547-556), poli(metacrilato de 2-hidroxietil) (Langer *et al.*, 1981, *J. Biomed Mater Res*, 15: 167-277), y Langer, 1982, *Chem Tech*, 12: 98-105), acetato de etilenvinilo (Langer *et al.*, citado anteriormente) o ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico (documento EP 133.988). Las composiciones de IGF-1 de liberación sostenida también incluyen IGF-1 atrapado de manera liposómica. Los liposomas que contienen IGF-1 se preparan mediante métodos conocidos *per se*: documento DE 3.218.121; Epstein *et al.*, 1985, *Proc Natl Acad Sci USA*, 82: 3688-3692; Hwang *et al.*, 1980, *Proc Natl Acad Sci USA*, 77: 4030-4034; los documentos EP 52.322; EP 36.676; EP 88.046; EP 143.949; EP 142.641; solicitud de patente japonesa n.º 83-118008; patentes estadounidenses n.ºs 4.485.045 y 4.544.545 y documento EP 102.324. De manera ordinaria, los liposomas son del tipo unilaminar pequeño (desde 0 de aproximadamente 200 hasta 800 Angstroms) en los que el contenido en lípidos es superior a aproximadamente 30 por ciento en moles de colesterol, ajustándose la proporción seleccionada para la terapia con IGF-1 óptima.

Aún en otra realización, puede ubicarse un sistema de liberación controlada en las proximidades de la diana. Por

ejemplo, una microbomba puede administrar dosis controladas directamente en el cerebro, requiriendo de ese modo sólo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, 1984, en Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, págs. 115-138). El IGF-1 podría administrarse directamente en la cavidad peritoneal para exponer preferiblemente la grasa visceral al fármaco.

- 5 En una realización, puede ser deseable administrar la composición farmacéutica de la invención de manera local a la zona en la que se necesita el tratamiento; esto puede lograrse, por ejemplo, y no a modo de limitación, mediante infusión local durante cirugía, aplicación tópica (por ejemplo, conjuntamente con un apósito para heridas tras cirugía), inyección, mediante un catéter, mediante un supositorio o mediante un implante. Un implante puede ser de material gelatinoso, no poroso o poroso, incluyendo membranas, tales como membranas o fibras sialásticas.
- 10 El IGF-1 puede administrarse antes, durante y/o después de la administración de uno o más agentes terapéuticos. Aún en otra realización, puede haber un periodo de superposición entre la administración de IGF-1 y/o uno o más agentes terapéuticos.

- 15 La presente invención puede entenderse mejor como referencia a los siguientes ejemplos no limitativos, que se proporcionan sólo a modo de ejemplo de la invención. Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar de manera completa las realizaciones preferidas de la invención. Sin embargo, no deben interpretarse en modo alguno como limitativos del alcance de la invención.

## EJEMPLOS

- 20 Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos habituales en la técnica una descripción y divulgación completas de cómo preparar y usar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención ni pretenden representar que los experimentos a continuación son todos o los únicos experimentos realizados. Se han hecho esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo cantidades, temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunas desviaciones y algunos errores experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio en peso, la temperatura es en grados centígrados, y la presión es a o cerca de la atmosférica.

### EJEMPLO 1

#### Interrelaciones entre diversas medidas relacionadas con el eje GH-IGF

- 30 Los datos de estudios de vigilancia amplios del uso de GH, tal como el estudio cooperativo nacional del crecimiento (National Cooperative Growth Study, NCGS) pueden ser útiles para determinar las poblaciones de pacientes que responderán al tratamiento con IGF-1, especialmente con subestudios asociados que examinan pacientes derivados pero no tratados y que usan resultados de ensayos centralizados. En un subestudio de este tipo del NCGS (subestudio VI) se observó que los niños de baja talla que se sometían a pruebas hormonales se encontraban como un grupo que tenía niveles de IGF-1 bajos (PDE de IGF-1 =  $-1,7 \pm 1,7$ , media  $\pm$  DE) a pesar de los niveles de GH estimulada máxima relativamente normales. Uno de los objetivos de este subestudio era explorar las interrelaciones
- 35 entre diversas medidas relacionadas con el eje GH-IGF, incluyendo proteína de unión a IGF 3 (IGFBP-3), IGF-1, GHBP, GH estimulada. Los datos mostraron sorprendentemente que una proporción sustancial de los niños de baja talla derivados tienen IGFD primaria, es decir, son suficientes en GH pero deficientes en IGF-1.

- 40 El subestudio VI de NCGS se diseñó para evaluar la base hormonal de la talla baja. Este estudio se limitó a sujetos no tratados que se sometían a evaluación para determinar la base hormonal de la talla baja. Los objetivos establecidos en el protocolo eran 1) identificar pacientes con niveles de GHBP en sangre indetectables o por debajo de lo normal para una posible evaluación posterior, así como determinar los niveles de GHBP para subgrupos de niños con talla baja; y 2) definir la relación de los niveles en sangre de GHBP con respecto a los de GH, IGF-1 y IGFBP-3.

#### Población de pacientes

- 45 Los sujetos incluidos en el estudio se evaluaron para determinar la base hormonal de su talla baja. Sólo se incluyeron los pacientes para los cuales se suministraron muestras iniciales para la(s) prueba(s) de estimulación de GH, IGF-1, IGFBP-3 y GHBP. Se excluyeron los pacientes que recibían actualmente terapia con GH.

#### Diseño del estudio

- 50 Tras la inclusión, se tomó una única muestra de plasma para las mediciones de GHBP, IGF-1 y IGFBP-3. A ésta le siguieron hasta 8 muestras de sangre para la medición de los niveles de GH de una o dos pruebas de estimulación por provocación de GH convencionales. Una enmienda al protocolo proporcionó una única muestra de sangre de seguimiento para las mediciones repetidas de GHBP, IGF-1 y IGFBP-3 aproximadamente un año tras el nivel inicial para sujetos no tratados, o tras aproximadamente un año de terapia en sujetos tratados posteriormente con GH.

Métodos de laboratorio

Se enviaron todas las muestras a un único laboratorio (Nichols Institute) para la determinación centralizada de los niveles de hormonas. Se midió la hormona de crecimiento usando el ensayo inmunorradiométrico Hybritech (IRMA) usando un anticuerpo monoclonal para GH. Tales ensayos IRMA devolvieron valores que son aproximadamente la mitad del valor obtenido usando radioinmunoanálisis para GH (un valor de GH de 5 ng/ml en un IRMA equivale aproximadamente a un valor de 10 ng/ml en un RIA). Se midió IGF-1 usando un radioinmunoanálisis (RIA, Nichols Institute) tras extracción con ácido-etanol. Se midió la IGFBP-3 mediante RIA con patrón recombinante y marcador. Se midió la GHBP mediante ensayo inmunofuncional mediado por ligando (LIFA) (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.210.017).

10 Análisis estadístico

Los sujetos se incluyeron en los análisis si la edad de inclusión estaba entre 0 y 20 años y se disponía de las cuatro mediciones de laboratorio de nivel inicial. Los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estándar (DE) excepto cuando se indica. Los datos se presentan como puntuaciones de DE (PDE), ajustando para edad y sexo usando los datos normativos proporcionados para cada medición o ensayo.

15 Resultados

Un total de 6447 sujetos se evaluaron en cuatro cohortes:

- 1) los 6447 sujetos;
- 2) sujetos con PDE de altura  $< -2$ , PDE de IGF-1  $< -2$ , y GH estimulada máxima  $< 10$  ng/ml;
- 3) sujetos con PDE de altura  $< -2$ , PDE de IGF-1  $< -2$ , y GH estimulada máxima  $> 10$  ng/ml; y
- 20 4) sujetos con PDE de altura  $< -3$ , PDE de IGF-1  $< -3$ , y GH estimulada máxima  $> 10$  ng/ml.

*Todos los sujetos*

Para la cohorte completa en el estudio (n=6447), la edad media en el momento de la evaluación de diagnóstico de nivel inicial fue de  $10,1 \pm 4,0$  años, con una edad ósea media de  $8,0 \pm 3,8$  años y un retraso de edad ósea media =  $2,2 \pm 1,6$  años. La PDE de altura media fue de  $-2,5 \pm 1,1$  y la PDE de BMI media fue de  $-0,5 \pm 1,4$ . En el nivel inicial, el 68% de los sujetos eran hombres y el 76% estaban en la etapa prepuberal. Tal como se esperaba, el 77% de los sujetos no tenían etiología definida de su talla baja en un nivel inicial. Sólo el 75% de los sujetos que se derivaron por talla baja tenían una PDE de altura  $< -2$  (n=4663), y el 87% tenía IGF-1 sérico que era inferior a la PDE normal  $< 0$  (media normal) y el 39% de estos niños con talla baja, o 1955 niños, tenían un IGF-1 sérico de PDE  $< -2$ .

La mediana del nivel máximo (pico) de GH estimulada para los 6447 sujetos fue de  $7,5 \mu\text{g/l}$ , usando el ensayo Hybritech, equivalente a  $15 \mu\text{g/l}$  mediante radioinmunoanálisis (RIA). El valor medio para PDE de IGF-1 fue de  $-1,7 \pm 1,7$  y para PDE de IGFBP-3 fue de  $-1,0 \pm 1,6$ . Sin embargo, la PDE de GHBP media fue de  $-0,2 \pm 1,2$ . El logaritmo de los niveles máximos de GH se correlacionó positivamente con la PDE de IGF-1 y la PDE de IGFBP-3 ( $r=0,29$ ,  $0,28$ , respectivamente) y negativamente con la PDE de GHBP ( $r=-0,19$ ). Una correlación más fuerte existió entre la PDE de IGF-1 y la PDE de IGFBP-3 ( $r=0,65$ ). La PDE de GHBP se correlacionó positivamente de manera débil con la PDE de IGF-1 y la PDE de IGFBP-3 ( $r=0,15$ ,  $0,12$ , respectivamente).

*Sujetos de baja talla con IGF-1 bajo y GH baja*

Los sujetos en la cohorte 2 tenían PDE de altura  $< -2$ , PDE de IGF-1  $< -2$  y GH estimulada máxima  $< 10$  ng/ml. Estos sujetos constituyen el grupo "deficiente en GH" (n=776 de 1955, o el 39% del grupo de talla baja deficiente en IGF). En esta cohorte, el 64% eran hombres y el 82% estaban en la etapa prepuberal. La PDE de IGF-1 media fue de  $-3,8 \pm 1,8$ , teniendo el 58% la PDE de IGF-1  $< -3$ . Este grupo es el grupo deficiente en hormona de crecimiento y se denominan GHD.

*Sujetos de baja talla con niveles bajos de IGF-1 y GH que al menos son normales*

Los sujetos en la cohorte 3 tenían PDE de altura  $< -2$ , PDE de IGF-1  $< -2$  y GH estimulada máxima  $> 10$  ng/ml. Estos sujetos constituyen el grupo "deficiente en IGF/suficiente en GH" (n=1179 de los 1955 pacientes, o el 61% del grupo de talla baja deficiente en IGF). Esta cohorte tenía un mayor porcentaje de hombres (71%) en comparación con la cohorte 2. La PDE de IGF-1 media fue de  $-3,0 \pm 0,9$ , teniendo el 41% la PDE de IGF-1  $< -3$ . La PDE de altura fue de  $< -3$  en el 39%. Éste es el grupo denominado en este estudio de IGFD primaria.

*Sujetos de muy baja talla con niveles muy bajos de IGF-1 y GH que al menos son normales*

Los sujetos en la cohorte 4 tenían PDE de altura  $< -3$ , PDE de IGF-1  $< -3$  y GH estimulada máxima  $> 10$  ng/ml. Estos sujetos constituyen un grupo de talla baja extrema y deficiencia de IGF extrema (n=212, o el 18% de sujetos con

IGFD). Este es el grupo denominado en este estudio de IGFD primaria grave.

Discusión

5 El tratamiento de niños con talla baja marcada, a pesar de décadas de estudio, sigue siendo una tarea enormemente subjetiva que varía entre países, entre instituciones e incluso entre los médicos que trabajan en la misma institución. Los criterios para usar terapias estimuladoras del crecimiento, que actualmente consisten principalmente en agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y la hormona de crecimiento humana recombinante (rhGH), han incluido factores hormonales, auxológicos, radiográficos, genéticos, éticos y económicos. Aparte de tratar un estado subyacente causal (tal como hipotiroidismo o pubertad precoz) o de usar rhGH para indicaciones específicas aprobadas (tales como el síndrome de Turner), la cuestión de la intervención a menudo se resume en 1) ¿existe un defecto en el eje GH-IGF?; y 2) ¿la altura final adulta se verá comprometida de manera significativa sin tratamiento?

15 Las pruebas para la deficiencia de GH habitualmente incluyen estímulos farmacológicos que difieren en su mecanismo de estimular la liberación de GH. Sólo una proporción muy pequeña (aproximadamente el 5-10% de los que se derivan a clínicas por talla baja) de los niños con talla baja son deficientes en GH. Sin embargo varios estudios han sugerido que otras anomalías en el sistema GH/IGF podrían contribuir a la talla baja en un número significativo de pacientes sin GHD. Por ejemplo, en muchos pacientes con talla baja los niveles de IGF-1 bajos no están asociados con deficiencia de GH.

20 Los datos de grandes estudios de vigilancia tras la comercialización, tales como el estudio cooperativo nacional del crecimiento de Genentech (NCGS) o el estudio internacional de crecimiento de Kabi (KIGS) indican que algunos niños no deficientes en GH están recibiendo terapia con rhGH, y que representan un grupo seleccionado de pacientes con un grado de talla baja similar a los clasificados como deficientes en GH. Muchos en el campo piensan que la terapia de estimulación del crecimiento para estos pacientes no es necesaria partiendo de la base de que tienen una talla baja de “variante normal”, o simplemente alguna combinación de “retraso constitucional de crecimiento y pubertad” y “talla baja familiar”. Sin embargo, cada una de estas clasificaciones depende de la demostración de que el eje GH-IGF sea normal y además, de que altura adulta final esté (o esté en un futuro) dentro del intervalo diana parental medio. Por el contrario, los pacientes que se consideran para el tratamiento con GH normalmente no obtienen su potencial de altura genético, con o sin tratamiento con GH a dosis convencionales. Además, parece que muchos tienen niveles de IGF-1 bajos.

30 En última instancia, la deficiencia del factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-1), el mediador clave de la mayoría de acciones biológicas de la GH, es crítico para el entendimiento de las anomalías a lo largo del eje GH/IGF. Ciertamente, el síndrome de insensibilidad a la hormona de crecimiento grave (Laron) puede producir falta de crecimiento igual a la observada en formas graves de deficiencia de GH, debido al resultado final similar de la deficiencia de IGF-1 profunda. Mientras que los niveles de IGF-1 normales se consideran inusuales en casos confirmados de deficiencia de GH, los niveles de IGF-1 bajos son posiblemente más comunes que los que se esperaría en pacientes que son claramente suficientes en GH. En contraposición, este estudio muestra que GH normal y IGF-1 anómalo es relativamente común. Dicho de otra forma, la deficiencia de IGF-1 es relativamente común en niños que son suficientes en GH.

40 En la ausencia de desnutrición o enfermedad hepática, la deficiencia de IGF en un individuo por lo demás sano puede explicarse por un defecto en el eje GH-IGF. En pacientes suficientes en GH, puede existir insensibilidad parcial a la GH al nivel del receptor de GH o posterior. En el 1-5% de niños con la denominada talla baja idiopática, se han encontrado lesiones demostrables en el dominio extracelular del receptor de GH. También se han indicado anomalías en la transducción de señales del receptor de GH, tal como se mide por fosforilación de tirosina. Teóricamente, otras causas de deficiencia o resistencia de IGF aisladas podrían deberse a defectos genéticos que afectan al gen Stat5B, a la proteína de unión a IGF, o al receptor de IGF.

45 No se entiende bien la causa de deficiencia de IGF en la mayoría de niños por lo demás sanos. En los casos en que la secreción de GH es claramente normal o incluso elevada, la causa es necesariamente alguna forma de insensibilidad a la GH parcial, aunque se desconoce la naturaleza exacta de esta resistencia a GH en la mayoría de casos. Los pacientes con ISS incluidos en estudios clínicos de terapia con GH tienden a tener niveles de GHBP bajos y a responder mal a dosis convencionales de rhGH en comparación con otros grupos de talla baja. Sin embargo, en este subestudio se observaron niveles de GHBP normales de pacientes no tratados aún. Claramente, cualquiera que sea el proceso de selección que los médicos inicien antes de asignar a estos niños a terapia con rhGH, que puede haber incluido niveles de IGF-1 bajos, edad ósea retrasada y otros factores, dan como resultado un grupo con signos clínicos de resistencia a GH.

55 La terapia con IGF-1 humano recombinante (rhIGF-1) por tanto se ha usado satisfactoriamente en tres formas extremadamente poco comunes de deficiencia de IGF profunda, incluyendo defectos del gen del receptor de GH, el gen de GH o el gen de IGF-1. Este estudio establece que existe un número sustancialmente superior de niños con talla baja inexplicable que presentan algún grado de deficiencia de IGF-1, pero que sin embargo son suficientes en GH. Como la deficiencia de GH se trata hoy en día con terapia sustitutiva de rhGH, la terapia sustitutiva con rhIGF-1 desempeña un papel en los pacientes que son deficientes en IGF.

**EJEMPLO 2**

**Relación entre altura y concentración en sangre de IGF-1**

El objetivo de este estudio fue examinar la relación en adultos entre altura y la concentración en sangre de IGF-1 y luego tratar a los pacientes con rhIGF-1.

5 **Sujetos**

Se seleccionaron para el estudio individuos que se habían diagnosticado previamente como que padecían diabetes mellitus (DM) tipo II. Los 44 sujetos eran hombres y mujeres de 30 a 70 años de edad con un nivel de hemoglobina A1c superior al 8,0%. Todos los sujetos recibieron el tratamiento para hiperglucemia con medicación oral únicamente.

10 Se tomaron muestras de sangre y se midió la altura. Se midió el IGF-1 total mediante radioinmunoanálisis después de extraer la muestra con ácido-etanol. También se midieron los niveles de hemoglobina A1c. Se midió también la tensión arterial sistólica.

Luego se trató a los pacientes con rhIGF-1, tal como se describe en el ejemplo 1, a o bien 20 o bien 40 microgramos por kilogramo dos veces al día mediante inyección subcutánea durante 12 semanas.

15 **Resultados**

La figura 1 muestra la relación estadísticamente significativa de manera positiva ( $r=+0,45$ ) y alta ( $p=0,002$ ) entre la puntuación de desviación estándar de altura (PDE de altura) y la concentración en sangre de IGF-1 antes del tratamiento con rhIGF-1. Los valores de IGF-1 se expresan como logaritmos debido a que las concentraciones no se distribuyen normalmente.

20 El tratamiento con rhIGF-1 redujo los niveles de glucosa en sangre y redujo los niveles de hemoglobina A1c desde el 9,9 hasta el 9,1 %, una disminución significativa ( $p < 0,001$ ).

El tratamiento con rhIGF-1 a 20 microgramos/kg dos veces al día redujo la tensión arterial sistólica desde 140,4 hasta 130,9 tras el tratamiento una disminución de 9 mm de Hg, una disminución altamente significativa ( $p < 0,001$ )

**Conclusión**

25 Se obtuvo un resultado inesperado en el que la concentración sérica de IGF-1 se correlacionó positivamente con la altura del paciente. Una revisión exhaustiva y reciente de los factores que afectan a los niveles de IGF-1 en sangre establece que “en adultos, el IGF-1 no se correlaciona con la secreción de GH endógena...” (Juil, 2003, GH and IGF Research 13: 113-170). La revisión continúa estableciendo que “deben considerarse otros reguladores de IGF-1 en adultos”. Los factores considerados por estos autores son “composición corporal, actividad física, hábitos de estilo de vida y cambios en los niveles de esteroides sexuales”. No se menciona una relación entre la altura y los niveles de IGF-1 en adultos.

Este descubrimiento sorprendente proporciona la primera evidencia de que muchos de los factores tales como enfermedad cardiovascular, enfermedad renal, diabetes y enfermedad ósea que se ha demostrado que están asociados con la talla baja están asociados con niveles de IGF-1 bajos o IGFD.

35 Además, los datos muestran que la terapia sustitutiva en estos pacientes tiene un efecto significativo sobre la glucosa en sangre, hemoglobina A1c y tensión arterial. Estas son todas mediciones que reflejan las enfermedades asociadas con talla baja en adultos. Por tanto, está claro que la terapia sustitutiva con IGF-1 en estos pacientes es eficaz e indicada. Por tanto se esperaría que la terapia sustitutiva con IGF-1 tenga un impacto significativo sobre las muchas enfermedades que resultan de IGFD y talla baja.

40 **EJEMPLO 3**

**Administración de rhIGF-1**

Se realizó un estudio con animales administrando rhIGF-1 durante toda la vida de los animales para estudiar los efectos a largo plazo de rhIGF-1 en animales normales.

45 Se ha demostrado que la eficacia de GH está limitada en seres humanos con la secreción de GH normal. Tales niños con secreción de GH normal (los denominados pacientes con talla baja idiopática) muestran respuestas de crecimiento muy pequeñas a la GH. Podría preverse que la eficacia a largo plazo de rhIGF-1 podría limitarse por efectos tales como que rhIGF-1 produce una aceleración de la edad ósea, lo que haría que las epífisis de los huesos largos se cerraran de manera temprana, lo que limitaría la capacidad de crecer, o de rhIGF-1 que inhibe la secreción de GH y teniendo de ese modo un efecto auto-limitante en el crecimiento.

50 Este ejemplo muestra un estudio a largo plazo en animales que es equivalente al tratamiento a largo plazo similar en

niños en crecimiento. Debido a que las epífisis de los huesos largos de ratas permanecen abiertas durante un periodo muy largo con respecto a la duración de su vida, es posible que las ratas crezcan durante la mayor parte de sus vidas. El ejemplo usó un amplio intervalo de dosis de rhIGF-1 en un número muy grande de animales durante un periodo muy largo de tiempo.

## 5 Animales

Se obtuvieron ratas macho y hembra CrI:CD®(SD)BR VAF/Plus® de Portage, Michigan, instalación de Charles River Laboratories, Inc. Los animales tenían de 41 a 44 días de edad al inicio de tratamiento. Los machos pesaban desde 178 hasta 264 gramos y las hembras pesaban desde 131 hasta 199 gramos al inicio de tratamiento.

10 Se albergaron los animales individualmente (excepto durante los primeros 3 días de aclimatación en los que los animales se albergaron en grupo) en jaulas de fondo de rejilla de acero inoxidable. Se colocaron algunos animales en jaulas de policarbonato durante el estudio debido a problemas de salud.

Se proporcionó alimentación de roedores certificada (harina n.º 5002, PM® Feeds, Inc. ) excepto cuando los animales ayunaban. La alimentación se analizó de manera rutinaria por el fabricante para determinar la presencia de componentes nutricionales y contaminantes ambientales.

15 Se proporcionó agua a voluntad. Se analizaron las muestras de agua para determinar la presencia de microorganismos específicos y contaminantes ambientales.

### Aclimatación

20 Se aclimataron cuatrocientas cincuenta ratas macho y cuatrocientas cincuenta ratas hembra durante 14 días (con respecto a los animales macho) o 15 días (con respecto a los animales hembra) antes del inicio del tratamiento. En general, los animales parecían sanos. Durante la aclimatación, se examinó a los animales para determinar la presencia de anomalías indicativas de problemas de salud, se realizó una exploración oftálmica y se registraron los pesos corporales para todos los animales aproximadamente 1 semana antes de la aleatorización y en la aleatorización. El consumo de alimento se registró para todos los animales durante aproximadamente 1 semana durante la aclimatación.

### 25 Designaciones de grupos y niveles de dosis

30 Se examinaron los animales por un veterinario de animales de laboratorio y se encontró que eran apropiados para la inclusión en el estudio. La selección de animales para el estudio se basó en observación clínica, pesos corporales, exploraciones oftálmicas y otros datos según fue apropiado. Se asignaron los animales a grupos de tratamiento usando un procedimiento de bloqueo diseñado para lograr un equilibrio de peso corporal con respecto al grupo tratamiento. En el momento de la aleatorización, la variación en peso de los animales no excedió  $\pm 2$  desviaciones estándar del peso corporal medio para cada sexo. Se analizaron los pesos corporales medios del grupo usando la prueba de Levene para homogeneidad de varianzas en el nivel de probabilidad del 5% y se encontró que eran homogéneos. Se asignaron los animales al estudio según el siguiente diseño.

**Tabla 1**

Grupo	Nivel de dosis (mg/kg/día) <sup>a</sup>	Concentración de dosis (mg/ml)	N.º de animales	
			Macho	Hembra
Animales con carcinogenicidad				
1 Vehículo	0	0	75	75
2 Bajo (rhIGF-1)	0,25	0,25	75	75
3 Medio 1 (rhIGF-1)	1,0	1,0	75	75
4 Medio 2 (rhIGF-1)	4,0	4,0	75	75
5 Alto (rhIGF-1)	10,0	10,0	75	75
Animales satélite				
6 Vehículo	0	0	15	15
7 Bajo (rhIGF-1)	0,25	0,25	15	15
8 Medio 1 (rhIGF-1)	1,0	1,0	15	15
9 Medio 2 (rhIGF-1)	4,0	4,0	15	15
10 Alto (rhIGF-1)	10,0	10,0	15	15

35 <sup>a</sup> El volumen de dosis fue de 1 ml/kg. Las dosis individuales se basaron en los pesos corporales registrados más recientemente.

### Resultados

40 La administración de rhIGF-1 produjo un aumento en ganancia de peso corporal en machos y hembras en todos los niveles de dosis. La magnitud de este efecto aumentó con el aumento de la dosis, aunque el efecto en los animales a los que se administró 10,0 mg/kg/día fue sólo ligeramente superior al de aquellos a los que se administró 4,0

mg/kg/día. Para los machos, el efecto sobre el peso corporal medio fue estadísticamente significativo de manera general desde la semana 6 durante gran parte del estudio a los niveles de dosis de 10,0, 4,0, y 1,0 mg/kg/día; para machos a los que se administró 0,25 mg/kg/día, los cambios estadísticamente significativos fueron evidentes por primera vez en la semana 22. Para las hembras, el efecto sobre el peso corporal medio fue estadísticamente significativo de manera general durante gran parte del estudio empezando en la semana 3 para los animales a los que se administró 10,0 y 4,0 mg/kg/día y en la semana 6 para los animales a los que se administró 10,0 mg/kg/día. Para las hembras a las que se administró 0,25 mg/kg/día, los cambios estadísticamente significativos de manera general se observaron desde la semana 20 hasta la 63. La magnitud del efecto sobre el peso corporal fue marcada para los animales a los que se administró 4,0 ó 10,0 mg/kg/día. Al inicio de la semana 69, un momento en el que la supervivencia para los machos y las hembras a los que se administró la dosis alta fue de al menos el 50%, los pesos corporales medios para los machos a los que se administró 0,25, 1,0, 4,0 ó 10,0 mg/kg/día fueron el 109%, 116%, 123% y 129% de los valores control, respectivamente; para las hembras fueron el 104%, 113%, 128% y 131% de los valores control, respectivamente. La ganancia de peso corporal aumentada para los animales tratados con el material de prueba fue consecuente con los aumentos en el consumo de alimento también observado en estos grupos.

#### Resumen

Los resultados muestran que en los animales con secreción de GH normal, el rhIGF-1 tuvo una profunda actividad estimuladora del crecimiento. Por el contrario, el tratamiento con GH en humanos con secreción de GH normal tuvo efectos limitados, tal como se observó en estudios en los que la GH se administra a niños con talla baja idiopática, en contraposición al efecto robusto del tratamiento con GH en GHD.

#### **EJEMPLO 4**

##### **Un estudio del tratamiento a largo plazo con rhIGF-1 en niños con talla baja debido a deficiencia de IGF**

El objetivo de este estudio es evaluar la eficacia y seguridad de la terapia sustitutiva con rhIGF-1 a largo plazo, en niños con talla baja debido a deficiencia de IGF (IGFD primaria pediátrica).

#### Importancia para la salud humana

El IGF-1 humano recombinante se ha usado en ensayos clínicos para tratar los casos más gravemente afectados de deficiencia de IGF primaria (síndrome de Laron y varios casos de delección del gen de GH humano). La puntuación de desviación estándar de altura de tales individuos en el estado no tratado habitualmente desciende con la edad debido a las velocidades de crecimiento lineales profundamente bajas. Se han empleado dosis de desde 40-120  $\mu$ g/kg administradas dos veces al día mediante inyección subcutánea. Las dosis de 40-60  $\mu$ g/kg han demostrado ser ligeramente eficaces con aumentos modestos en la velocidad de altura que eran generalmente insuficientes para aumentar las puntuaciones de desviación estándar de altura, es decir, no se observó crecimiento "de recuperación". Las dosis en el intervalo de 80-120  $\mu$ g/kg generalmente producen mejoras en la velocidad de altura lineal lo suficientemente sustanciales como para mejorar las puntuaciones de desviación estándar de altura y se ha observado que tales mejoras persisten hasta 10 años de tratamiento. El efecto del tratamiento de la terapia con rhIGF-1 se desconoce en pacientes con IGFD menos profunda (por ejemplo, los que tienen alturas y puntuaciones de desviación estándar de IGF sérico de menos 2 o menos). Tales sujetos padecen un grado de talla baja por el que se aprueba la terapia de hormona de crecimiento para sujetos con deficiencia de hormona de crecimiento, síndrome de Turner, retraso de crecimiento intrauterino y síndrome Prader-Willi. Este ensayo se diseña para determinar si niños con un grado similar de talla baja (altura inferior a -2 DE) e IGFD (IGF-1 en sangre inferior a -2 DE) responderán favorablemente a la terapia con rhIGF-1.

Los análisis farmacocinéticos de rhIGF-1 en sujetos adultos normales y en sujetos con diabetes tipo 1 y 2 sugieren fuertemente que la disposición del rhIGF-1 administrado se ve enormemente influida por las concentraciones séricas imperantes de las proteínas de unión a IGF, más notablemente por la concentración de IGFBP-3. Existe una relación altamente significativa entre las concentraciones séricas de IGFBP-3 y el aclaramiento de rhIGF-1 administrado de manera que concentraciones séricas bajas de IGFBP-3 predicen el rápido aclaramiento de rhIGF-1 y disminuyen potencialmente el efecto del tratamiento.

Los niños con grados más modestos de IGFD primaria también tienen menos deficiencia de IGFBP-3 que los sujetos con síndrome de Laron. Por consiguiente, se emplea un intervalo más limitado de dosis de rhIGF-1 (50-100  $\mu$ g/kg, dos veces al día) en este diseño de ensayo.

La forma más extrema de IGFD se denomina GHIS, o enanismo tipo Laron (Laron Z *et al.*, 1980, Ann Clin Res 12: 269-77; Laron Z *et al.*, 1966, Isr J Med Sci 2: 152-55; Laron Z *et al.*, 1968, Isr J Med Sci 4: 883-94), y se transmite como un carácter autonómico recesivo. Es más común en judíos asiáticos y otras personas de Oriente Medio, pero se produce esporádicamente en otros grupos étnicos. Aunque se ha descrito la heterogeneidad molecular de los defectos del receptor de GH (Amselem S *et al.*, 1991, Trends Endocrinol Metab 21: 35-40), los individuos afectados comparten las características clínicas de deficiencia de GH grave: son de baja talla, crecen a una tasa muy lenta, tienen características faciales y proporciones corporales inmaduras, y tienen un exceso de grasa corporal. Como en

los pacientes con deficiencia de GH, las concentraciones séricas de IGF-1 son bajas. En contraposición con la deficiencia de GH, sin embargo, las concentraciones séricas de GH son elevadas, la estimulación de secreción de GH produce una respuesta superior a la normal, y la GH administrada exógenamente no aumenta los niveles de IGF-1 ni produce las respuestas de crecimiento y metabólicas esperadas. La base de la resistencia a GH en este estado son receptores de GH defectuosos (o ausentes) en las superficies celulares. Además, proteínas de unión a GH circulantes, que son homólogas al dominio extracelular del receptor de GH, son a menudo indetectables en los pacientes afectados. Se cree que aquellos en los que se encuentra proteína de unión a GH sérica tienen un defecto en los dominios intracelulares o transmembrana del receptor de GH o tienen un defecto en la ruta de acción de la GH tras el receptor (Godowski P *et al.*, 1989, Proc Natl Aced Sci (USA) 1989; 86: 8083-7; Eshet R *et al.*, 1984, Isr J Med Sci 20: 8-11).

La forma de IGFD a la que se hace referencia en este protocolo se produce en niños que tienen defectos en la ruta de señalización de la hormona de crecimiento porque sus tejidos responden escasamente a la hormona de crecimiento debido a que transducen muy débilmente la señal de la hormona de crecimiento. Además de talla baja, estos niños tienen un perfil bioquímico característico que incluye niveles de hormona de crecimiento altos y niveles de IGF-1 circulantes inapropiadamente bajos. Se esperaría que respondan mal a cantidades farmacológicas de GH exógeno.

Los datos de que rhIGF-1 es una forma eficaz de terapia sustitutiva para algunos pacientes de GHIS se basan en estudios *in vitro* con líneas celulares derivadas de pacientes de tipo Laron y en estudios *in vivo* en animales y humanos adultos normales. Se ha demostrado que las células progenitoras eritroide y las líneas de células T transformadas permanentemente derivadas de pacientes con IGFD (tipo Laron) proliferan en respuesta a 1-10 ng/ml de IGF-1 *in vitro* (Geffner ME *et al.*, 1987, J Clin Endocrinol Metab 64: 1042-6). La infusión *in vivo* de IGF-1 humano estimula la ganancia de peso y el crecimiento lineal en ratones deficientes en GH (Van Buul-Offers S *et al.*, 1986, Pediatr Res 20: 825) y ratas sometidas a hipofisectomía. Cuando se les infunde a ratas deficientes en insulina, el IGF-1 estimula el crecimiento sin agravar la hiperglucemia o la glucosuria (Schoenle E *et al.*, 1982, Nature 296: 252). Mientras la infusión continua lenta de rhIGF-1 parece estar bien tolerada (Zapf J *et al.*, 1986, J Clin Invest 77: 1768), la administración de un bolo IV produce hipoglucemia, un efecto previsto similar al de la insulina (Guler H-P *et al.*, 1987, N Engl J Med 317: 137).

Laron y colegas (Laron Z *et al.*, 1991, Clin Endocr 35: 145-50) administraron siete inyecciones subcutáneas diarias de IGF-1 recombinante en dosis de 120 o 150 mg/kg/día a 10 sujetos con GHIS (tipo Laron). Esto dio como resultado un marcado aumento en el procolágeno de tipo III sérico y disminuciones de GH en plasma, colesterol sérico, SGOT sérica y LDH sérica. Se observó una respuesta variable de la insulina en plasma, disminuyendo algunos pacientes sus concentraciones de insulina en ayunas mientras que otros experimentaron un aumento.

Walker *et al.* (1991, N Engl J Med 324: 1483-8) estudiaron a un niño de 8,9 años de edad con deficiencia de IGF-1 tipo Laron bien caracterizada. El niño tenía características bioquímicas y físicas típicas del síndrome: deficiencia de crecimiento grave; GH sérica alta; IGF-1 bajo; ausencia de proteína de unión a GH; deficiencia de aumento de IGF-1 en respuesta a la administración de GH a corto plazo; no mostraba crecimiento mejorado durante un ensayo de seis meses de terapia con GH. Este paciente recibió una infusión de 11 días de rhIGF-1 (Genentech) y también se le observó durante 8 días después de la infusión. Aunque el tratamiento con GH no produjo efectos metabólicos, la infusión con IGF-1 provocó cambios espectaculares en una variedad de parámetros metabólicos (Walker JL *et al.*, 1991, N Engl J Med 324: 1483-8). Estos resultados confirmaron que la mayoría de los efectos *in vivo* de GH están mediados por IGF-1 y que la sustitución de rhIGF-1 puede desviar la resistencia metabólica a GH. Además, estos resultados sugieren que existe una probabilidad muy grande de que el rhIGF-1 producirá crecimiento en pacientes con IGFD debido a defectos en los receptores de GH. Además de estos efectos metabólicos, el estudio demostró que la infusión con rhIGF-1 podría producir hipoglucemia en ayunas (debido a las propiedades similares a la insulina de este péptido) así como secreción de insulina inducida por alimentación directa dando como resultado hiperglucemia posprandial.

Se desarrolló un protocolo de tratamiento para determinar si la terapia con IGF-1 podría sostener el crecimiento lineal en pacientes con IGFD primaria. Se mantuvo a los pacientes con las dosis requeridas para el crecimiento óptimo en la ausencia de efectos secundarios. La dosis de 120 microgramo/kg de rhIGF-1 se toleró bien y dio concentraciones de IGF-1 en plasma en el intervalo normal.

#### Plan de investigación

El objetivo de este protocolo fue determinar si la administración a largo plazo de factor de crecimiento similar a la insulina humano recombinante I (rhIGF-1), en dosis que oscilan entre 80 µg/kg y 120 µg/kg administradas BID o TID, mediante inyección subcutánea a niños con IGFD primaria es segura y eficaz y puede restablecer el crecimiento y el metabolismo normales en niños con IGFD primaria.

#### Sujetos:

Se incluyeron pacientes con crecimiento afectado debido a IGFD primaria. Los criterios de inclusión incluyeron altura de al menos 2 DE inferior a la media normal para la edad; tasa de crecimiento inferior al percentil 50 para la edad;



5 IGF-1 en plasma en 2 DE inferiores a la media para la edad; edad mayor de 2 años; niveles de GH estimulada o aleatoria que son al menos normales, que se definen como un nivel de GH que es superior a o igual a 10 ng/ml. Los criterios de exclusión incluyeron malignidades activas o cualquier historia de malignidades; defecto de crecimiento debido a otras razones; trastornos genitourinarios, cardiopulmonares, gastrointestinales o del sistema nervioso, otros trastornos endocrinos, deficiencias nutricionales/de vitaminas o condrodistrofias; tratamiento con cualquier corticosteroide u otros medicamentos que influyan en el crecimiento; anomalías en EKG clínicamente significativas de una historia de arritmia cardíaca clínicamente significativa.

*Métodos del procedimiento:*

*Visitas anuales:*

10 Se realizaron mediciones antropométricas de altura y peso por el mismo médico; usando equipo normalizado. Se documentó también la tensión arterial. Se obtuvo la historia provisional incluyendo evaluaciones para efectos secundarios de tratamiento.

15 Se revisaron los registros de la medicación con fármacos de estudio. Se realizó un ecocardiograma para evaluar el tamaño y función del corazón. Se realizó una exploración por ultrasonidos renal para monitorizar el tamaño y crecimiento de los riñones. Se realizó un audiograma y timpanometría para evaluar la audición. Se realizó una exploración DEXA para evaluar el contenido mineral del hueso y composición corporal.

*Tratamiento:*

20 Los sujetos recibieron terapia sustitutiva con rhIGF-1 a dosis que oscilaban entre 80 y 120 microgramos/kg, administradas por vía subcutánea BID o TID, con una dosis total máxima de 240 microgramos/kg diariamente. La dosis elegida para cada paciente se basó en la tolerancia del paciente y se valoró para optimizar el crecimiento.

Si se producían síntomas de hipoglucemia, se instruía a los pacientes y a los padres/tutores de los pacientes para que controlaran los niveles de glucosa sanguínea en sus domicilios usando un analizador de glucosa doméstico. Se instruyó a los cuidadores para que llamaran al investigador cuando hubiera lecturas inferiores a 40 o superiores a 200 mg/dl o cuando hubiera síntomas de hipoglucemia.

25 Seis meses tras cada visita anual, un endocrinólogo pediátrico examinó al paciente. En esta visita, el paciente se evaluó para determinar posibles efectos del tratamiento, y se realizaron mediciones antropométricas de altura y peso por el mismo médico usando equipo normalizado. Se revisaron también los registros de la medicación con fármacos de estudio.

Análisis de muestras

30 Se realizaron pruebas de laboratorio para niveles séricos de GH e IGF-1 y para CBC, recuento de plaquetas, química del suero y pruebas de la función tiroidea.

Análisis de datos

La tasa de crecimiento antes del tratamiento para estos niños es aproximadamente de 2-4,0 cm/año. Los acontecimientos adversos se trataron y resumieron.

35 Los pacientes interrumpieron el protocolo por las siguientes razones:

- Estados médicos que requerían la interrupción del estudio.
- Enfermedad intercurrente, que podría, según el criterio del investigador, tender a afectar a las evaluaciones del estado clínico y mental en un grado significativo.
- El paciente, padre o tutor desea interrumpir la participación.

40 • Incumplimiento del protocolo.

Resultados y discusión

En los pacientes pediátricos que tenían IGFD, el tratamiento con rhIGF-1 produjo un aumento significativo en la tasa de crecimiento.

45 Los cinco pacientes mostrados en la tabla 2 a continuación se trataron con rhIGF-1 durante al menos un año mediante inyección subcutánea dos veces al día de entre 80 y 120 microgramos por kilogramo.

Tabla 2: Características del paciente y tasa de crecimiento en pacientes con IGFD tratados con rhIGF-1

Edad (años)	Prueba de estimulación de GH (ng.ml)	IGF-1 (ng/ml)	PDE de altura	Tasas de crecimiento (cm/año)	
				Nivel inicial	Año 1
2,4	22	25	-3,2	4,2	8,7
3,4	94,3	47	-4,4	1,5	9,2
4,1	225	25	-4,5	3,0	9,4
7,8	83	115	-2,8	5,1	8,2
8,6	89	77	-4,9	3,3	9,5
			<b>Media =</b>	3,6	9,0

*Niveles de GH*

- 5 Los niveles de hormona de crecimiento medidos en estos pacientes tras la prueba de estimulación de GH estuvieron todas por encima del nivel designado como normal (10 ng/ml). Por tanto, todos los pacientes en el estudio eran suficientes en GH.

*Niveles de IGF-1*

- 10 Los niveles de IGF-1 se compararon con los conjuntos de datos normativos de 2 fuentes para estimar los valores de PDE de IGF-1 en los 5 pacientes anteriores. Los valores de PDE de IGF-1 estuvieron dentro del intervalo normal (un valor de PDE inferior a 2 por debajo de la media normal) para los pacientes anteriores usando al menos uno de los 2 datos normativos. Estos pacientes por tanto pueden designarse como que tienen IGFD primaria pediátrica o IGFD pediátrica grave, dependiendo para algunos pacientes de qué conjuntos de datos normativos se usase para calcular los valores PDE de IGF-1.

*Tasas de crecimiento*

- 15 La puntuación de PDE de altura de nivel inicial en estos pacientes fue en todos inferior a 2 por debajo de la media. Por tanto, estos pacientes pueden designarse también como que padecen IGFD o IGFD grave. La tasa de crecimiento del nivel inicial de los pacientes se promedió en 3,6 cm por año. Cuando los pacientes se trataron con rhIGF-1, sus tasas de crecimiento aumentaron como promedio 9,0 cm por año. El aumento en la tasa de crecimiento de 5,4 cm es un aumento clínicamente significativo.
- 20 Los datos muestran por tanto que el tratamiento con rhIGF-1 en pacientes con IGFD primaria pediátrica y pacientes con IGFD primaria pediátrica grave acelera las tasas de crecimiento. .

- 25 Habiéndose descrito anteriormente en el presente documento realizaciones a modo de ejemplo de la presente invención, los expertos en la técnica reconocerán que esta descripción es sólo a modo de ejemplo de manera que diversas alternativas, adaptaciones y modificaciones están dentro del alcance de la invención y se contemplan por el solicitante. Por consiguiente, la presente invención no se limita a las realizaciones específicas tal como se ha ilustrado anteriormente, sino que define mediante las siguientes reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) para la fabricación de un medicamento para tratar a un sujeto pediátrico humano que tiene una deficiencia primaria de factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGFD), en el que el sujeto se caracteriza por lo siguiente:
  - 5 en el momento del tratamiento o antes del tratamiento inicial con IGF-1, tiene o tenía una altura de al menos 2 desviaciones estándar (DE) inferior a la altura media normal para un sujeto de la misma edad y sexo, y
  - 10 en el momento del tratamiento o antes del tratamiento inicial con IGF-1, tiene o tenía un nivel en sangre de IGF-1 al menos 1 DE inferior a los niveles medios normales para un sujeto de la misma edad y sexo,
  - 10 en el que el sujeto se caracteriza además por tener un nivel en sangre de hormona de crecimiento (GH), siendo dicho nivel en sangre de GH al menos normal para un sujeto de la misma edad y sexo,
  - 15 en el que el sujeto no tiene un nivel en sangre de proteína de unión a hormona de crecimiento de alta afinidad que es al menos 2 DE inferior a los niveles medios normales,
  - 15 en el que el sujeto no tiene síndrome de Laron o síndrome de insensibilidad parcial a la hormona de crecimiento, y
  - 15 en el que el síndrome de Laron se refiere a un paciente que presenta carencia completa de función del receptor de la hormona de crecimiento o síndrome de insensibilidad completa a la hormona de crecimiento.
2. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es para lograr niveles de IGF-1 al menos normales para la edad y el sexo en el sujeto con IGFD primaria.
3. Uso según cualquier reivindicación anterior, en el que el medicamento alivia al menos un síntoma de una IGFD primaria.
4. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento proporciona un aumento en la tasa de crecimiento o altura.
5. Uso según cualquier reivindicación anterior, en el que el sujeto tiene un nivel en sangre de IGF-1 que es al menos 2,0 DE inferior a los niveles medios normales para un sujeto de la misma edad y sexo.
- 25 6. Uso según cualquier reivindicación anterior, en el que se administra IGF-1 en una dosis de 20 a 240 µg/kg/día.
7. Uso según cualquier reivindicación anterior, en el que se administra dicho IGF-1 por vía subcutánea.
8. Uso según cualquier reivindicación anterior, en el que el IGF-1 es una variante de IGF-1.
9. Uso según cualquier reivindicación anterior, en el que el IGF-1 es IGF-1 humano recombinante.
- 30 10. Uso según cualquier reivindicación anterior, en el que el IGF-1 es un IGF-1 variante que carece de cinco aminoácidos del extremo N-terminal, en comparación con el IGF-1 nativo.

**FIG. 1**

Gráfico de la puntuación PDE de altura frente al nivel en sangre de IGF-1  
 $R=+0,45$ ,  $P=0,002$

Leyenda:  
● Único punto de datos  
○ Dos puntos de datos

