Pharmazeutische Kombinationspräparate enthaltend Erythropoietin und Eisenpräparate

Die vorliegende Erfindung betrifft pharmazeutische Kombinationspräparate enthaltend Eryhtropoietin und Eisenpräparate. Die Präparate werden insbesondere zur Behandlung von Anämie- oder Hämodialysepatienten eingesetzt.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein pharmazeutisches Kombinationspräparat umfassend 2.000 - 7.000 U rekombinantes humanes Erythropoietin (rhEPO) und 1 - 20 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates, wobei das rhEPO und das Eisenpräparat in getrennten Darreichungsformen oder in einer einheitlichen Darreichungsform vorliegen können.

Es ist bekannt, die Anämie, insbesondere die transfusionsbedingte Anämie von Hämodialysepatienten, mit rekombinantem Erythropoietin zu therapieren. Die Anämie bei chronischen Krankheiten ist weltweit die zweithäufigste Anämieform.

Im Vordergrund der Anämien, die durch verminderte Erythropoese im Knochenmark oder durch Störungen in der Eisenreutilisation verursacht werden, steht eine verminderte Erythrozytenneuproduktion. Bei einem täglichen Rückgang der Erythrozytenneubildung um 1% kann die Anämie erst nach 1-3 Wochen klinisch festgestellt werden. Der tägliche Eisenbedarf für eine normale Erythropoese beträgt 25 mg. Davon stammt nur ca. 1 mg aus der Nahrung, der Hauptbedarf wird normalerweise durch Reutilisation des Hämoglobineisens nach dem Abbau gealterter Erythrozyten gedeckt. Bei chronischen Krankheiten ist die Eisenabgabe aus den Retikulumzellen stark vermindert. Das Eisen wird im retikuloendothelialen System festgehalten und steht nicht mehr für die Erythropoese zur Verfügung. Man spricht daher auch von einem 'inneren Eisenmangel', bei dem die Auslö-

sung normaler Kompensationsmechanismen unvollständig erfolgt. Typisch sind eine Retikulozytopenie sowie das Fehlen einer zur Kompensation der Anämie erforderlichen Hyperplasie der Erythropoese. Eine verminderte Erythropoetinsekretion oder -aktivität kann ein zusätzlicher pathogenetischer Faktor sein. Eine signifikante Veränderung des Eisenstoffwechsels ist beispielsweise das Fehlen einer kompensatorisch vermehrten Transferrinbildung. Die Grundstörung liegt also in der fehlenden Abgabe des Eisens aus den Eisenspeichern (in den retikuloendothelialen Zellen) in das Plasma (somit auch in das Erythron), wodurch die normalen Kompensationsmechanismen nicht ausgelöst werden. Die Gabe von rekombinantem Erythropoetin wird therapeutisch genutzt, um einen signifikanten Anstieg der Erythrozytenzahl zu bewirken.

In der klinischen Chemie wird für die Diagnose der Anämie und von Eisenstoffwechselstörungen die Serumferritin-Konzentration bestimmt. Tritt zusätzlich zur Anämie der chronischen Krankheiten ein echter Eisenmangel auf, so steigt das Ferritin nicht an (meist bleibt es unter 90-95 ng/ml). Dieser Wert weist bei gleichzeitigen klinischen Zeichen von Infektion, Entzündung oder maligner Erkrankung auf eine Kombination von Eisenmangel und Anämie in Begleitung mit einer chronischen Erkrankung hin. Da das Serumferritin bei diesen Erkrankungen auch im Sinne eines Akute-Phase-Proteins reagieren kann, kann das Erythrozytenferritin besser diagnostisch verwertet werden.

Das Gesamtkörpereisen beträgt bei Männern ca. 3,5 g, bei Frauen 2,5 g. Eisen befindet sich im aktiven Metabolismus und in Speicherkompartimenten. Im aktiven Pool befinden sich bei einem Mann durchschnittlich 2100 mg im Hämoglobin, 200 mg im Myoglobin, 150 mg in Enzymen der Gewebe (Häm und Nicht-Häm) und 3 mg im Eisentransport-Kompartiment. Eisen wird im Gewebe intrazellulär als Ferritin (700 mg) und als Hämosiderin (300 mg) gespeichert.

Die Bioverfügbarkeit des Eisens kann pathopyhsiologisch gestört sein, so daß eine geringere Eisenabsorption im Körper erfolgt. Von den etwa 10 mg, die täglich mit der Nahrung verfügbar werden, resorbiert ein Erwachsener nur ca. 1 mg. Bei Eisenmangel steigt die Resorption, jedoch selten über 5-6 mg, wenn nicht zusätzliches Eisen zugeführt wird. Der genaue Resorptionsmechanismus für Eisen ist nicht geklärt. Die Regulation erfolgt in

entscheidender Weise durch die Dünndarm-Mukosazellen. Das entscheidende Signal für die Mukosa scheint der Gesamteisengehalt des Körpers zu sein. Es wurde gezeigt, daß die Serum-Ferritinkonzentration invers korreliert mit der Menge des aufgenommenen Eisens.

Das Eisen wird von den intestinalen Mukosazellen an das Transferrin übergeben. Dieses Eisentransportprotein hat zwei Eisenbindungsstellen. Es wird in der Leber synthetisiert. Damit existiert ein Mechanismus, durch den Eisen von Zellen (z.B. Dünndarmmukosa, Makrophagen) übernommen und an spezifische Membranenrezeptoren von Erythroblasten, Plazentazellen oder Leberzellen abgegeben werden kann. Der Transferrin-Eisen-Rezeptor-Komplex gelangt durch Endozytose in die Erythrozyten-Vorläuferzellen, wo das Eisen an die Mitochondrien weitergegeben wird. Dort wird aus Eisen und Protoporphyrin Häm gebildet.

Nicht für die Erythropoese benötigtes Eisen wird mittels Transferrin in zwei Arten des Speicherpools verlagert. Der wichtigste Speicher ist das Ferritin. Hierbei handelt es sich um eine heterogene Familie von Proteinen, die einen Eisenkern umschließen. Es ist löslich und stellt die aktive Speicherform in Leber (Hepatozyten), Knochenmark, Milz (Makrophagen), Erythrozyten und im Serum (ca. 100 ng/ml) dar. Der Gewebeferritinpool ist sehr labil und rasch verfügbar, wenn Eisen benötigt wird. Das zirkulierende Serum-Ferritin stammt aus dem retikuloendothelialen System, und seine zirkulierende Konzentration geht parallel mit dem Gesamtkörpereisen (jedes ng/ml entspricht 8 mg Eisenvorrat).

Im Fall von Hämodialysepatienten hat sich gezeigt, daß der Eisenbedarf von mit rhEPO behandelten Patienten ganz erheblich ist. In der Regel wird bei diesen Patienten zusätzlich eine Eisentherapie durchgeführt, da das EPO nur dann seine optimale Wirkung entfalten kann, wenn die entsprechenden Eisenspeicher im Körper möglichst gefüllt sind. Um die Eisenspeicher möglichst aufzufüllen, war es bisher üblich, hohe Dosen von Eisenpräparate zu verabreichen. Allerdings können zu hohe Dosen an Eisenpräparaten auch zu unerwünschten Nebenwirkungen bei den Patienten führen. Insbesondere ist die intravenöse Applikation von Eisenpräparaten wegen der extremen Toxizität von Eisen-

ionen physiologisch nicht unbedenklich. Von der Anwendung bestimmter Eisenpräparate bei Patienten mit bekannter allergischer Reaktionslage, z.B. bei Asthmatikern, wird in der Regel sogar abgeraten. Die Beurteilung des Füllzustandes der Eisenspeicher ist durch Bestimmung des Proteins Ferritin und durch Bestimmung der Transferrinsättigung möglich (M. Wick, W. Pingerra, P. Lehmann "Eisenstoffwechsel. Diagnose und Therapie der Anämien", Seiten 5-14, 38-55, 65-80, 94-98; Dritte erweiterte Auflage, September 1996, Springer Verlag Wien, New York), wobei die Transferrinsättigung den Eisenfluß von den Depots zum Knochenmark repräsentiert, während der Serum-Ferritin-Wert ein Maß für das gespeicherte Eisen ist.

Die Eisenspeicher gelten als "gefüllt", wenn das Serum-Ferritin > 150 µg/l ist und eine Transferrin-Sättigung > 20 % vorliegt. P. Grützmacher et al. beschreiben in Clinical Nephrology, Vol. 38, Nr. 1, 1992, S. 92-97, daß man unter diesen Bedingungen von einem maximalen Ansprechen auf die EPO-Therapie ausgehen kann.

Man spricht gegenwärtig bei der Eisentherapie von EPO-behandelten Dialysepatienten von einer "Korrekturphase" und einer "Erhaltungsphase". In der Korrekturphase werden möglichst hohe Dosierungen an Eisenpräparaten verabreicht, um die Eisenspeicher möglichst schnell aufzufüllen. Die Applikation von geeigneten Eisenpräparaten erfolgt dann zweckmäßigerweise als intravenöse Bolusinjektion. In der Erhaltungsphase werden die Eisenspeicher dann mit niedrigeren Eisendosen "gefüllt gehalten". Die Applikation von geeigneten Eisenpräparaten erfolgt in dieser Phase nicht mehr als schnelle Bolusinjektion, sondern in Form von üblichen Infusionspräparaten oder durch orale Gabe.

Der Eisen-Bedarf des rhEPO-behandelten Hämodialyse-Patienten kann sowohl in der Korrektur- als auch in der Erhaltungsphase ganz erheblich sein. Für die Synthese von 1 g/dl Hämoglobin in der Korrekturphase sind 150 mg Eisen erforderlich, die entweder aus endogenen Eisenspeichern gedeckt oder exogen zugeführt werden müssen. Auch in der Erhaltungsphase ist der Eisen-Bedarf gesteigert, da es bei Hämodialysepatienten bei jeder Behandlung zu kleineren Blutverlusten kommt. Über den Zeitraum eines Jahres schätzt man den Eisen-Verlust auf etwa 1000 mg Eisen (3 mg/Tag). Ein solcher Verlust kann

langfristig nur exogen ausgeglichen werden. Hierzu stehen im Prinzip orale und intravenöse Darreichungsformen zur Verfügung.

Da die orale Eisenresorption nur ca. 1 mg/Tag, unter extremer Belastung (bei oraler Verabreichung von ca. 300 mg Fe(III)/Tag) weniger als 3 mg/Tag, beträgt, wird zunehmend die intravenöse Applikation größerer Eisenmengen bevorzugt. Auf dem deutschen Arzneimittelmarkt stehen momentan zwei intravenös applizierbare Eisen-Präparate zur Verfügung. Dabei handelt es sich um die Medikamente "Ferrlecit" und "Ferrum Vitis". Ferrlecit ist ein Eisen-(3)-Gluconat-Komplex, während "Ferrum Vitis" ein Eisen-(3)-Hydroxid-Saccharat-Komplex ist.

Die vielfältigen Probleme einer hochdosierten, langfristigen oralen Eisen-Therapie lassen sich zwar relativ einfach durch die intravenöse, subcutane Applikation von Eisen(III) während der Hämodialysebehandlung umgehen, da hierbei ein sicherer intravenöser, subcutaner Zugang besteht und die Injektion ohne weitere Belastung für den Patienten erfolgen kann. In den letzten Jahren hat dieses Verfahren zunehmend Verbreitung gefunden, da man davon ausging, daß mit den Präparaten "Ferrlecit" und "Ferrum Vitis" relativ nebenwirkungsarme Darreichungsformen zur Verfügung stehen. Inzwischen wurde aber auf Nebenwirkungen im Zusammenhang mit der Ferrlecit-Therapie bei autologer Bluttransfusion hingewiesen und die Indikation der parenteralen Ferrlecit-Therapie deutlich eingeengt. Es wird auf die Möglichkeiten von Kreislaufreaktionen bis hin zum Kollaps sowie auf das mögliche Auftreten von anaphylaktischen Reaktionen aufmerksam gemacht. Ferner wird eine höchstzulässige Tagesdosis von 2 Ampullen zu 5 ml entsprechend 125 mg Eisen festgelegt.

Die intravenöse Verabreichung beider Eisen-Präparate ist also nicht trivial, da bei der Applikation beider Medikamente mit Nebenwirkungen zu rechnen ist, vor allem dann, wenn größere Mengen relativ schnell injiziert werden müssen. Ferner kann die intravenöse Verabreichung der Eisenpräparate Probleme bereiten bis hin zu Akute-Phasen-Reaktionen, wenn die Eisendosis zu hoch bzw. nicht optimal abgestimmt mit der EPO-Dosis gegeben wird.

Offensichtlich sind die hohen Eisen-Dosierungen, die EPO-behandelten Dialysepatienten verabreicht werden müssen, nachteilig. Es steigt das Risiko eines Myokard-Infarktes und auch das Risiko der Entwicklung einer Eisencirrhose ist signifikant erhöht. Im Rahmen der Behandlung von Dialysepatienten ist eine adäquate Eisenzufuhr sowie eine geeignete Methode zur Bestimmung des Eisenmangels von erheblichem therapeutischen Nutzen, da nicht ausreichende Eisenverfügbarkeit eine der Hauptursachen für eine nicht ausreichende Wirkung von EPO bzw. für eine EPO-Resistenz ist.

Aufgrund einer zu hohen Dosierung von eisenhaltigen Präparaten kann es auch zu Eisenvergiftungen kommen. Elementares Eisen hat einen toxischen Effekt auf den Gastrointestinaltrakt, das kardiovaskuläre und des zentralnervöse System. Die oral letale Dosis elementaren Eisens schwankt zwischen 200 und 250 mg/kg. Die am häufigsten verwendeten Eisentabletten sind Ferrosulfat (enthält ca. 20 % elementares Eisen), Ferrofumarat (enthält etwa 30 % elementares Eisen) oder Ferroglukonat (enthält ca. 10 % elementares Eisen).

Es gibt vier typische Stadien der Eisenvergiftung: Stadium I (innerhalb der ersten 6 Stunden nach Vergiftung): Erbrechen, Diarrhö, Hyperirritabilität, Bauchschmerzen, Anfälle, Apathie und Koma können auftreten. Irritationen der gastrointestinalen Mukosa können zu einer hämorrhagischen Gastritis führen. Bei hohen Serumeisenspiegeln können Tachypnoe, Tachykardie, Hypotension, Schock, Koma und metabolische Azidose auftreten. Stadium II (innerhalb der ersten 10-14 Stunden nach Vergiftung): Während einer Latenzperiode, die bis zu 24 Stunden dauern kann, kommt es zu einer scheinbaren Verbesserung. Stadium III (12-48 Stunden nach Vergiftung): Schock, Hypoperfusion und Hypoglykämie treten auf. Serumeisenspiegel können normal sein. Leberschäden mit erhöhter GPT, Fieber, Leukozytose, Gerinnungsstörungen, T-Inversion im EKG, Orientierungsstörungen, Ruhelosigkeit, Apathie, Anfallsneigung, Koma, Schock, Azidose und Tod können auftreten. Stadium IV (2-5 Wochen später): Mögliche Komplikationen seitens einer Pylorus-, Antrum- oder einer anderen intestinalen Obstruktion, einer Leberzirrhose oder einer Schädigung des Zentralnervensystems können in den Vordergrund treten.

Aufgabe der Erfindung war es, ein Kombinationspräparat aus rekombinantem humanen Erythropoietin und einem Eisenpräparat bereitzustellen, das eine für die Therapie von Eisenstoffwechselstörungen optimal abgestimmte Menge von EPO und Eisenionen enthält. Insbesondere sollen mit Hilfe dieser Kombinationspräparate die gezeigten Risiken, vor allem die Akute-Phase-Reaktionen, vermieden werden. Bei Patienten, die mit rhEPO behandelt werden, soll ferner eine optimale EPO-Wirkung erzielt werden, sowie eine EPO-Resistenz vermieden werden.

Das erfindungsgemäße Kombinationspräparat umfaßt 2.000 - 7.000 U rhEPO und 1 - 20 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates, insbesondere eines Fe(II)- oder Fe(III)-komplexes, wobei das rhEPO und das Eisenpräparat als Kombinationspräparate vorliegen.

Im Sinne der vorliegenden Erfindung sollen unter dem Begriff "Kombinationspräparate" nicht nur solche Arzneimittelpackungen verstanden werden, bei denen das EPO und das Eisenpräparat in einer verkaufsfertigen Verpackungseinheit nebeneinander konfektioniert vorliegen (sogenannte Kombinationspackung), sondern auch solche Arzneimittelpackungen, die entweder eine geeignete Menge an EPO oder eine geeignete Menge eines Eisenpräparates in Form eines Einzelpräparates enthalten, wobei die Einzelpräparate hinsichtlich der Menge der Inhaltsstoffe derart konfektioniert sind, daß sie im Sinne der Erfindung für die kombinierte Gabe mit dem jeweils anderen Präparat verabreicht werden können. In diesen Fällen werden von den Pharma-Herstellern oder den Arzneimittel-Importeuren den Präparaten in der Regel ein in vielen Ländern gesetzlich vorgeschriebener Beipackzettel für Arzneimittel beigelegt, in dem Anweisungen oder Informationen über die kombinierte Gabe der Einzelpräparate enthalten sind. Die Kombinationspräparate können vorzugsweise in einer einheitlichen Darreichungsform vorliegen, in der die jeweilige Menge an EPO und Eisenpräparat nebeneinander in einem Behältnis vorliegen.

Im Sinne der Erfindung kommen als Eisenpräparate orale oder parenterale Darreichungsformen in Frage. Hierbei kann es sich grundsätzlich um Einzelpräparate handeln, die als Wirkstoff ein physiologisch verträgliches Eisensalz oder eine Eisenkomplex-Verbindung enthalten, oder auch um Kombinationspräparate, die neben dem physiologisch verträg-

lichen Eisenpräparat weitere Wirkstoffe, wie z.B. Vitamine, Folsäure, Thiaminchlorid, Riboflavin, Pyridoxin, Ascorbinsäure, Nicotinamid, Calciumpantothenat, etc., enthalten.

Physiologisch verträgliche Eisensalze oder Eisenkomplex-Verbindungen sind beispielsweise Eisen(II)-sulfat, Eisen(II)-fumarat, Eisen(III)-citrat, Eisen(II)-gluconat, Eisen(II)-succinat, Eisen(II)-chlorid, Eisen(II)-glycin-sulfat-Komplex, Eisen(II)-aspartat, Natrium-Eisen(III)-gluconat-Komplex, Eisen(III)-hydroxid-Polymaltose-Komplex oder Ferri-Sorbitol-Zitrat-Komplex. Bevorzugte Eisen-präparate sind insbesondere Fe(III)-Komplexe, insbesondere solche mit einem Molekulargewicht zwischen 30.000 und 100 000 D. Besonders bevorzugt ist Fe(III)-Saccharat. Hier kann auf das kommerziell erhältliche Präparat "Ferrum Vitis" (Fa. Neopharma, Deutschland) zurückgegriffen werden. Durch die erfindungsgemäße geringe Eisendosierung ist es auch möglich, labile Eisen-Komplexe, wie das Eisen-Gluconat (MG ca. 1000 D; Ferrlecit), im Kombinationspraparat einzusetzen, obwohl diese labilen Eisenkomplexe relativ große Mengen ionisiertes Eisen freisetzen, was bei der intravenösen Applikation größerer Mengen zu Toxizitäten führen würde.

Im folgenden wird bei Bezugnahme auf die Menge des Eisenpräparates grundsätzlich die zu applizierende äquivalente Menge an Eisenionen, Fe(II)- oder Fe(III)-ionen, verstanden. Durch diese Standardisierung kann die Menge eines beliebigen Eisenpräparates auf Basis dessen bekannten Molekulargewichts berechnet werden. Im Fall des Eisen-(III)-gluconat x 2 H_20 beträgt beispielsweise die Menge an Eisen 80,5 mg, wenn eine Menge von 695 mg des Eisenpräparates verabreicht wird. Bei Verabreichung von beispielsweise 280 mg wasserfreiem Eisen(II)-succinat beträgt die Eisenmenge 95.2 mg.

Anstelle des Proteins rhEPO (vgl. Europäische Patentschrift EP 0,205,564; EP 0,411,678) können auch Modifikationen des Proteins mit höherem oder geringerem Molekulargewicht als 34.000 Da (Molekulargewicht des urinären EPO), Isoformen des Enzyms oder Proteine mit unterschiedlicher Glykosylierung verwendet werden. Ferner kommen grundsätzlich auch solche Proteine in Frage, die sich durch Deletionen, Substitutionen oder Verlängerungen von einzelnen oder mehreren Aminosauren von der Aminosäuresequenz des natürlichen EPO mit einer Länge von 166 Aminosäuren ableiten.

Derartige Proteine besitzen im wesentlichen vergleichbare physiologische Eigenschaften wie rhEPO. Insbesondere weisen derartige Proteine biologische Eigenschaften auf, daß Knochenmarkszellen veranlasst werden, die Produktion von Retikulozyten und roten Blutkörperchen zu steigern und/oder die Hämoglobinsynthese oder Eisenaufnahme zu steigern. Anstelle derartiger Proteine können auch niedermolekulare Substanzen verwendet werden, die als EPO-Mimetika bezeichnet werden, und die an den gleichen biologischen Rezeptor binden. Diese Mimetika können vorzugsweise auch oral verabreicht werden. Die zu verabreichende Menge derartiger Proteine oder Mimetika wird ermittelt durch Vergleich der biologischen Aktivitäten zwischen EPO und diesen Wirkstoffen.

Für die Behandlung von Hämodialysepatienten beinhaltet das erfindungsgemäße Kombinationspräparat insbesondere 3.000 bis 7.000 U rhEPO, insbesondere 4.000 bis 6.000 U rhEPO, und vorzugsweise etwa 5.000 U rhEPO. Die Menge an Eisenionen beträgt insbesondere 3 - 20 mg, vorzugsweise 5 - 20 mg und besonders bevorzugt etwa 10 mg. Für die Behandlung von Anämiepatienten beträgt die optimale Dosis 2.000 bis 4.000 U rhEPO, vorzugsweise etwa 3.000 U. Die Menge an Eisenionen beträgt in diesem Fall 3 - 15 mg, insbesondere etwa 5 mg.

Die erfindungsgemäßen Konzentrationen an rhEPO und Eisenkomplex erlauben in ihrer Kombination eine optimale Einstellung und Behandlung von Hämodialyse- oder Anämiepatienten und führen bei intravenöser Eisentherapie nicht zu Akute-Phase-Reaktionen.

Die Behandlung mit dem Kombinationspräparat erfolgt ein- bis fünfmal, bevorzugt bis zu viermal wöchentlich, wobei die Gesamtmenge pro Patient von 60 mg Eisenionen pro Woche im Fall der Behandlung von Hämodialysepatienten nicht überschritten werden sollte. Bei der Behandlung der Anämie sollte die Gesamtmenge von 20 mg pro Woche an Eisenionen nicht überschritten werden. Ein besonderer Vorteil des erfindungsgemäßen Kombinationspräparates in der klinischen Praxis liegt darin, daß es sowohl in der Korrektur- als auch in der Erhaltungsphase der Eisentherapie bei Hämodialysepatienten angewendet werden kann, ohne Toxizitäten hervorzurufen. Bisher wurden unterschiedliche Mengen an Eisen verabreicht, wobei in der Korrekturphase zunächst geringere Dosierungen an Eisenionen im Vergleich zur Erhaltungsphase verabreicht wurden. Über-

raschenderweise ist diese unterschiedliche Dosierung bei Verwendung der erfindungsgemäßen Kombinationspräparaten nicht mehr erforderlich. Die Menge an EPO und Eisenpräparat sind derart optimal aufeinander abgestimmt, daß eine Unterscheidung zwischen Erhaltungsdosis und Korrekturdosis nicht erforderlich ist. Hierdurch wird eine erhöhte Sicherheit bei der Behandlung von Hämodialyse- oder Anämiepatienten erzielt, da Verwechslungsmöglichkeiten bezüglich der optimalen Dosierung des Eisenpräparates nicht mehr bestehen.

Bei der Anwendung der Kombinationspräparate ist es möglich, rhEPO und Eisenkomplex in einer sogenannten fixen Kombination, d.h. in einer einzigen pharmazeutischen Formulierung zu verabreichen, in der beide Verbindungen enthalten sind. Dies kann z.B. eine Injektionslösung- bzw. Infusionslösung oder deren Lyophilisat sein, die beispielsweise in Ampullen abgefüllt sind. Diese Darreichungsform hat den Vorteil, daß das EPO bei der Herstellung und Lagerung der Darreichungsform durch den Eisenkomplex stabilisiert wird. Im Falle eines Lyophilisates wird nach dessen Auflösen das EPO durch den Eisenkomplex aktiviert. Die fixe Kombination der beiden Wirkstoffe in Form eines Lyophilisates hat den weiteren Vorteil der einfachen und sicheren Handhabung. Das Lyophilisat wird in der Ampulle durch Zugabe pharmazeutisch üblicher Injektionsmedien gelöst und intravenös appliziert.

Es ist auch möglich, EPO und Eisenkomplex in Form von getrennten pharmazeutischen Formulierungen zur Verfügung zu stellen. In der Regel erfolgt dies in Form einer einzigen Verpackungseinheit, die zwei Behältnisse umfaßt, wobei das erste eine geeignete Darreichungsform für EPO ist (Lyophilisat, Injektions- oder Infusionslösung), und das zweite eine geeignete Darreichungsform für das Eisenpräparat darstellt. Diese freie Kombination, die in einer einzigen Verpackungseinheit (Arzneimittelpackung) zur Verfügung gestellt werden kann, hat den Vorteil, daß jedem zu behandelnden Patienten individuell eine direkt zuzuordnende Menge an EPO und Eisenpräparat zugewiesen werden kann. Derartige Kombinationspräparate bieten außerdem den Vorteil der größeren Sicherheit für den Therapieerfolg, da jeweils die optimal abgestimmte Menge der Einzelpräparate festgelegt ist, und eine Verwechslung mit sonst im Handel erhältlichen Einzelpräparten, die in unterschiedlichen Dosierungen angeboten werden, weitgehend ausge-

schlossen werden kann. Zudem ist zu berücksichtigen, daß in verschiedenen Ländern oft Arzneimittelpräparate mit unterschiedlichen Dosierungen aufgrund der nationalen Erfordernisse im Handel sind, und somit eine erhöhte Verwechslungsgefahr mit variierenden Mengenverhältnisse der Einzelwirkstoffe (EPO und Eisenkomplex) besteht. Die erfindungsgemäßen Kombinationspräparate minimieren ferner das Risiko einer versehentlich zu hohen Eisengabe, die möglicherweise erfolgen kann, wenn herkömmliche Eisenpräparate aus separaten Arzneimittelpackungen zusammen mit der EPO-Gabe eingesetzt werden. Durch die erfindungsgemäßen Kombinationspräparate wird eine sichere Therpie und einfache Handhabung durch das behandelnde Personal oder im Rahmen der durch den Patienten vorgenommenen Selbstmedikation sichergestellt. Im vorliegenden Fall ist es z.B. auch möglich, einen Wirkstoff als Injektionslösung und den anderen Wirkstoff (Eisenkomplex) als Darreichungsform zur oralen Verabreichung zur Verfügung zu stellen.

Für den Fall, daß der Wirkstoff EPO als Lyophilisat zur Verfügung gestellt wird, enthalten die Arzneimittelpackungen (Kombinationspackungen) die entsprechende Menge an EPO in Glasampullen oder in Karpulen. Das Eisenpräparat kann in fester Form (Tablette, Pulver, Granulat, Lyophilisat, etc.) oder auch in flüssiger Form in einem getrennten Behältnis vorliegen. Ferner enthält die Kombinationspackung vorzugsweise eine Rekonstitutionslösung, um entweder das Wirkstofflyophilisat allein oder auch zusammen mit dem festen Eisenpräparat aufzulösen. Liegt das Eisenpräparat als gebrauchsfertige Lösung vor, kann die Lösung zusammen mit der EPO-Lösung gemischt werden, falls die gemeinsame Applikation von EPO und Eisenpräparat erfolgen soll. Grundsätzlich kann das Eisenpräparat auch als Konzentrat für den Zusatz zu herkömmlichen Infusionslösungen zur Verfügung gestellt werden, wodurch eine langsamere Appliaktion über meherere Stunden hinweg erfolgen kann. In diesem Fall wird ein geringes Volumen der Eisenkomplex-haltigen Lösung (ca. 0,5 - 10 ml) zur gebrauchsfertigen Injektionslösung von ca. 500 - 1000 ml hinzugefügt.

Eine weitere Möglichkeit im Sinne der vorliegenden Erfindung besteht darin, jeweils Einzelpräparate von EPO und Eisenpräparaten als unabhängige Arzneimittel zur Verfügung zu stellen, wobei die Einzelpräparate derart konfektioniert sind, daß sie die erforderlichen

Menge der Einzelsubstanzen für die erfindungsgemäße Kombination von EPO und Eisenkomplex enthalten. In der Regel enthalten die Arzneimittelpackungen die vorgeschriebenen Beipackzettel, in denen ein entsprechender Hinweis für die kombinierte Gabe mit EPO bzw. mit Eisenpräparaten in der erforderlichen Menge enthalten ist. Ein entsprechender Hinweis kann auch als Verpackungsaufdruck auf der Arzneimittelpackung (Sekundärpackmittel) oder dem Primärpackmittel (Ampulle, Blisterstreifen, etc.) enthalten sein. So wird im Falle des EPO-haltigen Arzneimittels mit 2.000 - 7.000 Units EPO beispielsweise darauf hingewiesen, daß dieses Präparat insbesondere zusammen mit einem Eisenkomplex-Präparat enthaltend 1 - 20 mg Eisen verabreicht werden sollte. Im Falle der Eisenpräparate wird umgekehrt auf die kombinierte Gabe mit 2000 - 7000 U EPO hingewiesen.

Die Herstellung der pharmazeutischen Darreichungsformen erfolgt nach üblichen, in der galenischen Technik bekannten Verfahren mit pharmazeutisch üblichen Hilfsstoffen.

Bei der Durchführung der Kombinationstherapie mit dem erfindungsgemäßen Kombinationspräparat kann auf sehr einfache Art und Weise über die wöchentliche maximale Dosierung entschieden werden, indem die diagnostischen Parameter für den Eisenstatus, insbesondere die Parameter Eisen, Transferrin, Transferrinsättigung und Ferritin, bestimmt werden. Es zeigte sich, daß der Patient in Korrektur- und Erhaltungsphase optimal eingestellt ist, wenn

Ferritin:	100 - 300 µg/l (entspricht Speicher-Eisen(III) von 800 - 1200 mg), und die
Transferrinsättigung:	20 - 40 %

betragen. Bevorzugt beträgt die Ferritin-Konzentration mindestens 125 µg/l, insbesondere mindestens 150 µg/l, und maximal bis zu 270 µg/l, insbesondere maximal bis zu 250 µg/l. Die Eisenkonzentration beträgt vorteilhaft zwischen 10 - 20 µmol/l (entspricht etwa 56 - 112 µg/dl) und die Transferrinkonzentration zwischen 30 - 60 µmol/l (entspricht etwa 240 - 480 mg/dl). Die Transferrinsättigung ist definiert als das Verhältnis von Serum/Plasma-Eisenkonzentration zu Serum/Plasma-Transferrin-Konzentration (multi-

pliziert mit einem Korrekturfaktor von 1,41). Es handelt sich hierbei um eine dimensionslose Zahl, die unabhängig von Hydratationsstatus des Patienten ist. Die Transferrinsättigung berechnet sich nach der Formel:

Transferrinsättigung (%) = (Eisen [µg/dl] x 100) / (Transferrin [mg/dl] x 1,41)

Eine optimale Einstellung des Patienten ist erreicht, wenn das Verhältnis von Transferrinsättigung (in %) zur Ferritinkonzentration (in µg/l) im Bereich von 5 - 40 % liegt. Dieser Parameter wird definiert als Transferrin/Ferritin-Sättigung (TfF-Sättigung). Er berechnet sich nach der Formel

TfF-Sättigung = (Transferin-Sättigung in %) x 100 / (Ferritin [µg/l])

Bevorzugt liegt der Wert für diesen Parameter im Bereich von 10 - 40, insbesondere bei 15 - 25 [% x l / µg].

Mittels dieser Parameter wird z.B. bei Verabreichung von 1 bis 6 Ampullen, vorzugsweise bis zu 4 oder 5 Ampullen, in der Woche (eine Ampulle enthält 2000 - 7000 U rhEPO und 1 - 20 mg Eisenkomplex) die optimale Einstellung des Patienten diagnostisch überprüft.

Um unerwünschte Nebenwirkungen sicher auszuschließen, wird der Akute-Phase-Parameter CRP (5 mg/l ± 100%) [CRP = C-reaktives Protein] gemessen, wobei das CRP zur Zeit als der beste Protein-Marker einer Entzündungsreaktion gilt. Zusätzlich können die Leberparameter GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase), GOT (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase) und γ-GT (Gamma-Glutamyltransferase) bestimmt werdem, die in folgenden Bereichen liegen sollten (Bestimmung bei 37°C): GPT: < 50 U/l; GOT: < 50 U/l; γ-GT: < 40 U/l. Der Parameter GPT steht hierbei gegenwärtig in der Leberdiagnostik an erster Stelle.

Desweiteren können gegebenenfalls die hämatologischen Kontrollparameter wie Hämatokrit (Anteil der roten Blutkörperchen am Gesamtvolumen) oder der Anstieg der hypo-

chromen Erythrocyten herangezogen werden. Zeigen die Kontrollparameter höhere Anstiege, ist die wöchentliche Eisen-Gabe zu reduzieren, dann sollte zusätzlich rhEPO verabreicht werden. Zeigen die Kontrollparameter, vor allem die Transferrinsättigung, geringere Werte, ist die wöchentliche Eisen-Gabe zu erhöhen.

Weiterhin wurde im Sinne der vorliegenden Erfindung überraschenderweise festgestellt, daß die Festlegung einer für den Patienten individuellen, optimalen Therapiedosis von EPO und von Eisenionen zur Behandlung der Anämie durch Bestimmung des löslichen TfR (Transferrinrezeptors) erfolgen kann. Die optimale Therapiedosis von EPO und von Eisen(III) ist dann erreicht, wenn die Konzentration des löslichen TfR nicht mehr ansteigt. Um sicherzugehen, daß genügend mobilisierbares Eisen vorhanden ist, wird die i.v.-Eisen-Dosis und die EPO-Gabe abwechselnd erhöht, bis ein Plateau erreicht ist. Dies entspricht einer Konzentration von 1.500-2.000 µg/l TfR.

Bei der Durchführung der Kombinationstherapie mit dem erfindungsgemäßen Kombinationspräparat zur Behandlung der Anämie kann auf sehr einfache Art und Weise über die wöchentliche maximale Dosierung entschieden werden, indem die diagnostischen Parameter Transferrin-Rezeptor (TfR), Ferritin und das Verhältnis TfR zu Ferritin bestimmt werden. Es zeigte sich, daß der Patient in Korrektur- und Erhaltungsphase optimal eingestellt ist, wenn

Ferritin:	100 - 300 µg/l (entspricht Speicher-Eisen(III) von 400 - 1200 mg)
TfR/Ferritin:	> 15

betragen. Die TfR-Konzentration beträgt vorteilhaft zwischen 1500 - 2500 µg/l. Das Verhältnis der Konzentrationen TfR (in µg/l) zu Ferritin (in µg/l) liegt insbesondere im Bereich von 15 - 35, vorzugsweise bei Werten oberhalb von 20.

Mittels dieser Parameter wird z.B. bei Verabreichung von 1 bis 6 Ampullen, vorzugsweise bis zu 4 oder 5 Ampullen, in der Woche (eine Ampulle enthält 3000 U rhEPO und 5 mg Eisenkomplex) die optimale Einstellung der Patienten diagnostisch überprüft. Hier-

bei handelt es sich insbesondere nicht um Hämodialys-Patienten, sondern um solche Patienten, die aufgrund einer anderweitig bedingten Anämie mit EPO und/oder Eisenpräparaten therapiert werden.

Um unerwünschte Nebenwirkungen sicher auszuschließen, wird der Akute-Phase-Parameter CRP (2 - 10 mg/l) [CRP = C-reaktives Protein] gemessen. Zusätzlich kann der Leberparameter GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase) bestimmt werden, der < 50 u/l bei 37°C (< 30 u/l bei 25°C) sein sollte. Desweiteren können gegebenenfalls die hämatologischen Kontrollparameter wie Hämatokrit (Anteil der roten Blutkörperchen am Gesamtvolumen) oder der Anstieg der hypochromen Erythrocyten herangezogen werden. Hierbei können die Retikulozyten auf einen Wert von bis zu 15/1000 - 30/1000 steigen. Die typtische Hämoglobin-Konzentration liegt bei 12 -18 g/dl. Zeigt der lösliche TfR einen höheren Anstieg, ist die wöchentliche Eisen-Gabe zu erhöhen auf bis zu 35 mg. Zeigt der lösliche TfR geringere Werte, ist die wöchentliche EPO-Dosis zu erhöhen.

Die Bestimmung des Eisenstatus erfolgt durch Analyse von Proben aus Körperflüssigkeiten (Blut, Serum, Urin etc.) der betreffenden Patienten. Für die Bestimmung des Eisenstatus werden insbesondere die Konzentration von Eisen, Transferrin, Ferritin, Transferrinrezeptor, die Transferrinsättigung und die Transferrin/Ferritin-Sättigung bestimmt. Im Falle von Hämodialysepatienten werden vorzugsweise die Parameter Eisen, Transferrin, Ferritin und Transferrinsättigung nach an sich üblichen Analysenmethoden bestimmt. Relevant ist insbesondere die Bestimmung des Transferrin/Ferritin-Sättigungswertes. Im Falle von Anämie-Patienten, deren Anämie nicht durch Hämodialyse verursacht ist, werden vor allem die Ferritinkonzentration und die Konzentration des Transferrin-Rezeptors bestimmt. Relevant ist insbesondere die Bestimmung des Verhältnisses von Transferrin-Rezeptor zu Ferritin (Transferrin-Rezeptor/Ferritin-Sättigungswert).

Ein in diesem Sinne erfindungsgemäßes optimales Kombinationspräparat für die Behandlung von Anämiepatienten umfaßt 2.000 - 4.000 U EPO und 3 - 10 mg, vozugsweise 5 mg an Eisenionen, vorzugsweise eines Fe(III)-Komplexes, wobei das EPO und der Fe(III)-komplex in getrennten Darreichungsformen oder in einer einheitlichen Darreichungsform vorliegen können.

Die erfindungsgemäßen Darreichungsformen ermöglichen auch eine Applikation der Eisenpräparate 1 bis 3 Tage vor der EPO-Applikation, um die Eisenspeicher bereits vor Beginn der EPO-Behandlung aufzufüllen.

Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung von 3.000 - 7.000 U rhEPO und 5 - 20 mg an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates zur Herstellung von Kombinationspräparaten zur Behandlung von Hämodialysepatienten.

Zur Untersuchung des Eisenstoffwechsels werden in der klinischen Chemie die Konzentration von Eisen im Blut, und die Eisenbindungskapazität bestimmt. Es sollten immer beide Tests durchgeführt werden, da der Bezug ihrer Meßergebnisse zueinander wichtig ist. Gewöhnlich liegen die normalen Serumeisenspiegel bei Männern zwischen 75 und 150 mg/dl und bei Frauen zwischen 60 und 140 mg/dl. Die totale Eisenbindungskapazität beträgt zwischen 250 und 450 mg/dl. Der Serumeisenspiegel schwankt im Tagesverlauf. Er ist erniedrigt bei Eisenmangel und bei Anämien im Rahmen chronischer Erkrankungen. Er ist erhöht bei Hämolyse und bei Syndromen mit Eisenüberladung (z.B. Hämochromatose oder Hämosiderose). Patienten, die unter einer oralen Eisenmedikation stehen, können normale Eisen-Serumspiegel haben, obwohl eigentlich ein Eisenmangel bei ihnen vorliegt. Die totale Eisenbindungskapazität (= Transferrin x 2) ist erhöht beim Eisenmangel, dagegen aber erniedrigt bei Anämien im Verlauf von chronischen Erkrankungen.

Außerdem wird der Serumferritinspiegel bestimmt. Ferritin ist ein eisenspeicherndes Glykoprotein, von dem gewebetypische Isoferritine existieren und das im Serum immunologisch bestimmt werden kann, z.B. durch einen Radioimmunoassay (RIA) oder auch durch turbidimetrische Methoden. Der Ferritinwert ist ein Maß für die Eisenspeicherung im Gewebe. In den meisten Laboratorien liegt der Normalbereich zwischen 30 und 300 ng/ml, und der geometrische Mittelwert beträgt 88 bei Männern und 49 bei Frauen. Die Serum-Ferritinwerte stehen in enger Beziehung zum Eisengesamtvorrat des Körpers. Deshalb findet man erniedrigte Serum-Ferritinspiegel nur beim Eisenmangel. Erhöhte Spiegel findet man bei Eisenüberladung. Ebenfalls erhöhte Serum-Ferritinspiegel findet man bei Leberschäden oder in Assoziation mit

manchen Neoplasien, wo Ferritine auch an Akute-Phase-Proteine gebunden sein können. Auch der Serumtransferrin-Rezeptor kann durch einen enzymverstärkten Immunabsorptionstest (enzyme-linked immunosorbent assay = ELISA) bestimmt werden. Dabei wird ein monoklonaler Antikörper gegen den löslichen Rezeptor verwendet. Der Referenzbereich liegt zwischen 0,5 - 3 mg/l. Der Spiegel ist erhöht bei geringem Mangel in den Eisenspeichern. Die Konzentrationen spezifischer Erythrozyten-Ferritine können bestimmt werden, um die Eisenspeicher zu charakterisieren, besonders dann, wenn das Serum-Ferritin bei Gewebeverletzungen oder durch Akute-Phase-Reaktionen nicht verwertbar ist.

Zur Untersuchung des Eisenstoffwechsels wird ferner auch der Erythrozyten-Ferritin-Spiegel bestimmt. In heparinisiertem Blut werden die Erythrozyten von den Leukozyten und Thrombozyten (die ebenfalls Ferritin enthalten) mittels Zentrifugation getrennt. Es folgen die Lyse der Erythrozyten und die immunologische Bestimmung des gespeicherten Ferritins. Das Erythrozyten-Ferritin spiegelt den Status der Eisenspeicher während der zurückliegenden 3 Monate wider (d.h. während der Lebenszeit eines Erythrozyten). Die Normalwerte liegen im allgemeinen zwischen 5 und 48 Attogramm (ag) pro Erythrozyt. Werte < 5 findet man bei Eisenmangelanämien, erhöhte Werte (oft > 100) bei Eisenüberladung (z.B. Hämochromatose). Ähnliche Aussagekraft hat die Bestimmung von Zinkprotoporphyrin.

Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele näher erläutert, wobei im Falle der Eisenpräparte sich die Mengenangaben auf die äquivalente Menge an Eisenionen (und nicht auf die Menge des verabreichten Eisenkomplexes) beziehen:

Beispiel 1: Patient A (Hämodialyse)

a) Standardpräparat

Nach der herkömmlichen Therapiemethode wurden dem Patienten einmal pro Woche 100 mg Eisen(III)-komplex und dreimal pro Woche 5000 U rEPO i.V. ver-

abreicht. Dabei lagen die diagnostischen Parameter Transferrin. Transferrin-Sättigung, CRP, GOT/GPT und γ-GT im Normalbereich, der Ferritin-Wert erwies sich mit 800 - 1300 µg/l als zu hoch. Zur Absenkung des Ferritin-Wertes auf < 500 µg/l wurden dreimal/Woche je 5000 U rEPO über einen Zeitraum von 3 Wochen verabreicht.

b) Erfindungsgemäßes Präparat

Bei nachfolgender dreimaliger Verabreichung/Woche des erfindungsgemäßen Kombinationspräparates bestehend aus 10 mg Eisen(III)-Saccharat und 5000 U rEPO konnte ein Ferritin-Wert im Normalbereich erreicht und bei der weiteren Behandlung gehalten werden. Auch alle anderen Parameter lagen im Normalbereich.

Beispiel 2 Patientin B (Hämodialyse)

a) Standardpräparat

Patientin B erhielt gemäß Beispiel 1 einmal pro Woche 50 mg Eisen(III)-präparat und dreimal pro Woche 5000 U rEPO. Trotz der geringeren Eisendosis als im Beispiel 1 liegen die Parameter Ferritin und Transferrinsättigung zu hoch.

Der Ferritin-Wert wurde auf < 500 µg/l und die Trasferrinsättigung < 25% durch dreimalige, wöchentliche Gabe von je 5000 U rEPO über einen Zeitraum von 3 Wochen abgesenkt.

b) Erfindungsgemäßes Präparat

Nach zwei- bis dreimaliger Verabreichung des erfindungsgemäßen Kombinationspräparates/Woche von 10 mg Eisen(III)-präparat und 5000 U rEPO lagen alle Werte im Plausibilitätsbereich und es traten auch bei der weiteren Behandlung mit dem erfindungsgemäßen Präparat keine extremen Werte mehr auf.

Beispiel 3 Patient C (Hämodialyse)

a) Standardpräparat

Patient C erhielt zweimal pro Woche 50 mg Eisen(III)-präparat und zweimal pro Woche 2000 U rEPO. Es zeigte sich, daß in diesem Fall der Ferritin-Wert mit 1500 - 2500 µg/l sehr hoch liegt und die γ-GT ansteigend ist. Durch Weglassen der Eisen-Infusionen wurden die Ferritin-Werte auf 500 µg/l innerhalb von 3 Wochen gesenkt.

b) Erfindungsgemäßes Präparat

Wiederum wurden durch nachfolgende dreimalige Verabreichung des erfindungsgemäßen Kombinationspräparates aus 10 mg Eisen(III)-Gluconat und 5000 U rEPO die Normalwerte von Ferritin, Transferrin-Sättigung, CRP, GOT und γ-GT erreicht und bei der weiteren Behandlung gehalten.

Beispiel 4: Patient D (Anämie-Patient)

a) Standardpräparat

Nach der herkömmlichen Therapiemethode wurden dem Patienten einmal pro Woche 100 mg Eisen(III)-komplex und dreimal pro Woche 5000 U rEPO i.V. verabreicht. Dabei lagen die diagnostischen Parameter Transferrin, Transferrin-Sättigung, CRP, GOT/GPT und γ-GT im Normalbereich, der Ferritin-Wert erwies sich mit 800 - 1300 µg/l als zu hoch, der Wert für den Transferrin-Rezeptor lag zwischen 100 - 500 µg/l, und damit zu niedrig.

Zur Anhebung des Transferrin-Rezeptor-Wertes auf Werte oberhalb von 1500 µg/l und zur Absenkung des Ferritin-Wertes auf Werte unterhalb von 500 µg/l wurden dreimal/Woche je 5000 U rEPO über einen Zeitraum von 3 Wochen verabreicht.

b) Erfindungsgemäßes Präparat

Bei nachfolgender fünfmaliger Verabreichung/Woche des erfindungsgemäßen Kombinationspräparates bestehend aus 5 mg Eisen(III)-Saccharat und 3000 U rEPO konnte ein Transferrin-Rezeptor-Wert und ein Ferritin-Wert im Normalbereich erreicht und bei der weiteren Behandlung gehalten werden. Auch alle anderen Parameter lagen im Normalbereich.

Beispiel 5 Patient E (Anämie-Patient)

a) Standardpräparat

Patient E erhielt gemäß Beispiel 4 einmal pro Woche 50 mg Eisen(III)-präparat und dreimal pro Woche 5000 U rEPO. Trotz der geringeren Eisendosis als im Beispiel 4 liegen die Parameter Ferritin und Transferrinsättigung zu hoch.

Der Transferrin-Rezeptor-Wert wurde auf Werte oberhalb von 1500 µg/l angehoben, und der Ferritin-Wert wurde auf < 500 µg/l und die Transferrinsättigung < 25% durch dreimalige, wöchentliche Gabe von je 5000 U rEPO über einen Zeitraum von 3 Wochen abgesenkt.

b) Erfindungsgemäßes Präparat

Nach vier- bis fünfmaliger Verabreichung des erfindungsgemäßen Kombinationspräparates/Woche von 5 mg Eisen(III)-präparat und 3000 U rEPO lagen alle Werte im Plausibilitätsbereich und es traten auch bei der weiteren Behandlung mit dem erfindungsgemäßen Präparat keine extremen Werte mehr auf.

Beispiel 6 Patient F (Anämie-Patient)

a) Standardpräparat

Patient F erhielt zweimal pro Woche 50 mg Eisen(III)-präparat und zweimal pro Woche 2000 U rEPO. Es zeigte sich, daß in diesem Fall der Transferrin-Rezeptor-Wert mit 100 - 800 µg/l sehr niedrig und der Ferritin-Wert mit 1500 - 2500 µg/l sehr hoch liegt und die γ-GT ansteigend ist. Durch Weglassen der Eisen-Infusionen wurden die Transferrin-Rezeptor-Werte auf Werte oberhalb von 1500 µg/l angehoben und die Ferritin-Werte auf < 500 µg/l innerhalb von 3 Wochen gesenkt.

b) Erfindungsgemäßes Präparat

Wiederum wurden durch nachfolgende fünfmalige Verabreichung des erfindungsgemäßen Kombinationspräparates aus 5 mg Eisen(III)-Gluconat und 3000 U rEPO die Normalwerte von Ferritin, Transferrin-Rezeptor, Transferrin-Sättigung, CRP, GOT und γ-GT erreicht und bei der weiteren Behandlung gehalten.

* C L M S *

Patentansprüche

1. Pharmazeutisches Kombinationspräparat umfassend 2.000 - 7 000 U EPO und 1 - 20 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates.

2. Kombinationspräparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es 3.000 - 7.000 U EPO und 5 - 20 mg an Eisenionen enthält.

3. Kombinationspräparat nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß es 5.000 U EPO und 10 mg an Eisenionen enthält.

4. Kombinationspräparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es 2.000 - 4.000 U EPO und 3 - 10 mg an Eisenionen enthält.

5. Kombinationspräparat nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß es 3.000 U EPO und 5 mg Eisenionen enthält.

6. Kombinationspräparat nach einem der Ansprüche 1 - 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Eisenpräparat ein Komplex mit einem Molekulargewicht zwischen 30 000 - 100 000 D ist, vorzugsweise Fe(III)-Saccharat.

7. Kombinationspräparat nach einem der Ansprüche 1 - 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Eisenpräparat Fe(III)-Gluconat ist.

8. Kombinationspräparat nach einem der Ansprüche 1 - 3, 6 oder 7 zur Behandlung von Hämodialysepatienten.

9. Kombinationspräparat nach einem der Ansprüche 1 oder 4 - 7 zur Behandlung von Anämien.

10. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Kombinationspräparaten nach den Ansprüchen 1 - 9, dadurch gekennzeichnet, daß man 2.000 - 7.000 U rhEPO und 1 - 20 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates zusammen mit pharmazeutischen üblichen Träger- oder Hilfsstoffen formuliert und die betreffenden Präparate in Form von Kombinationspräparaten zur Verfügung stellt.

11. Verwendung von EPO zur Herstellung von Kombinationspräparaten enthaltend 2.000 - 7.000 U EPO zur kombinierten Gabe zusammen mit 1 - 20 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates zur Behandlung von Hämodialysepatienten.

12. Verwendung von EPO zur Herstellung von Kombinationspräparaten enthaltend 2.000 - 4.000 U EPO zur kombinierten Gabe zusammen mit 3 - 10 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates zur Behandlung von Anämien.

13. Pharmazeutische Verpackungseinheit umfassend 2.000 - 7.000 U EPO und 1 bis 20 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates als einheitliche Darreichungsform in einem Behältnis oder als getrennte Darreichungsformen in getrennten Behältnissen.

14. Verpackungseinheit nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß jeweils das EPO und das Eisenpräparat in getrennten Darreichungsformen als Injektions- bzw. Infusionslösungen oder als Lyophilisate vorliegen.

15. Verpackungseinheit nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß das EPO und das Eisenpräparat in einer einheitlichen Darreichungsform als Injektions- bzw. Infusionslösung oder als Lyophilisat vorliegen.

16. Verfahren zur Bestimmung des Eisenstatus in einer Probe aus Körperflüssigkeiten, wobei in einem ersten Schritt die Konzentrationen von Eisen, Transferrin und

Ferritin sowie die Transferrinsättigung und in einem zweiten Schritt die Transferrin/Ferritinsättigung bestimmt werden.

17. Verfahren nach Anspruch 16 zur Bestimmung des Eisenstatus bei Hämodialyse-Patienten.

18. Verfahren zur Bestimmung des Eisenstatus in einer Probe aus Körperflüssigkeiten, wobei in einem ersten Schritt die Konzentrationen von Ferritin und des Transferrin-Rezeptors (TfR) und in einem zweiten Schritt die Transferrin-Rezeptor/Ferritin-Sättigung bestimmt werden.

19 Verfahren nach Anspruch 18 zur Bestimmung des Eisenstatus bei Anämie-Patienten.

9802202-3
IPOS

Pharmaceutical Combination Preparations Containing Erythropoietin and Iron Preparations

The present invention relates to pharmaceutical combination preparations containing erythropoietin and iron preparations. In particular, these preparations are used in the treatment of anemia or hemodialysis patients.

The present invention is directed to a pharmaceutical combination preparation comprising 2,000-7,000 U of recombinant human erythropoietin (rhEPO) and 1-20 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation, wherein said rhEPO and said iron preparation may be present in separate administration forms or in an integrated administration form.

The use of recombinant erythropoietin in the therapy of hemodialysis patients suffering from anemia, particularly transfusion-induced anemia is well-known. Anemia in chronic diseases is the second-most frequent anemia form worldwide.

In anemias caused by a reduced erythropoiesis in the bone marrow or by disorders in the iron reutilization, the reduced regeneration of erythrocytes is the prominent feature. With a daily decline in erythrocyte regeneration around 1%, the anemia can be detected clinically only after 1-3 weeks. The daily iron requirement in normal erythropoiesis is 25 mg. Only about 1 mg thereof is from dietary sources, the major requirement normally being met by reutilization of the hemoglobin iron after degradation of aged erythrocytes. In chronic diseases, the iron release from the reticular cells is massively reduced. The iron is held in the reticulo-endothelial system and is no longer avail-

able for erythropoiesis. Therefore, this is also referred to as "interior iron deficiency" where triggering of normal compensation mechanisms is incomplete. Reticulocytopenia and lacking hyperplasia of the erythropoiesis, which is necessary to compensate the anemia, are typical. Reduced erythropoietin secretion or activity may be an additional pathogenic factor. For example, a significant change in iron metabolism would be a compensatorily increased formation of transferrin. Thus, the basic disorder lies in the lacking release of iron from the iron depots (in the reticulo-endothelial cells) into the plasma (and thus, into the erythron as well), whereby normal compensation mechanisms are not triggered. The administration of recombinant erythropoietin is used in therapy to effect a significant increase in the number of erythrocytes.

In clinical chemistry, the serum ferritin concentration is determined for the diagnosis of anemia and disorders in iron metabolism. In case a real iron deficiency is present in addition to the anemia of the chronic diseases, ferritin does not increase (in most of the cases it remains below 90-95 ng/ml). When clinical signs of infection, inflammation or a malignant disease are also present, this value indicates a combination of iron deficiency and anemia accompanied by a chronic disease. Since serum ferritin in such diseases may also react in the sense of an acute phase protein, the diagnostic utilization of erythrocyte ferritin can be improved.

The total body iron is about 3.5 g in males and 2.5 g in females. The iron is found in the active metabolism and in storage compartments. In the active pool of a male, an average of 2100 mg is found in hemoglobin, 200 mg in myoglobin, 150 mg in tissue enzymes (hem and non-hem), and 3 mg in the iron transport compartment. In the tissue, iron is stored intracellularly as ferritin (700 mg) and hemosiderin (300 mg).

There may be a pathophysiological disorder in the bioavailability of iron, so that the iron absorption in the body is reduced. Of those approximately 10 mg being available daily by way of food, only about 1 mg is resorbed by an adult. In case of iron deficiency, the resorption increases, but rarely more than 5-6 mg unless additional iron is supplied. The precise mechanism of resorption for iron is not clear. Regulation is effected crucially by the intestinal mucosa cells. The crucial signal for the mucosa seems to be the total iron content of the body. It was demonstrated that the serum ferritin concentration is in inverse correlation to the amount of absorbed iron.

The iron is transferred to transferrin by the intestinal mucosa cells. This iron transport protein has two iron binding sites. It is synthesized in the liver. Thus, there is a mechanism by which iron is taken over by cells (e.g., intestinal mucosa, macrophages) and delivered to specific membrane receptors of erythroblasts, placenta cells or liver cells. By way of endocytosis, the transferrin/iron receptor complex enters the erythrocyte precursor cells where the iron is passed on to the mitochondria. There, hem is formed from iron and protoporphyrin.

The iron which is not needed for erythropoiesis is conveyed to two types of storage pools by transferrin. The most important depot is ferritin. This is a heterogeneous class of proteins enclosing an iron core. It is soluble and represents the active storage form in the liver (hepatocytes), bone marrow, spleen (macrophages), erythrocytes and the serum (about 100 ng/ml). The tissue ferritin pool is highly labile and quickly available in case iron is required. The circulating serum ferritin comes from the reticulo-endothelial system, and its circulating concentration goes parallel to that of total body iron (each ng/ml corresponding to 8 mg of iron reserve).

In the case of hemodialysis patients, the iron requirement of patients treated with rhEPO was found to be quite considerable. As a rule, an additional iron therapy is conducted with these patients because the EPO can develop its optimum effect only in case the corresponding iron depots in the body are filled as much as possible. To date, it has been common to administer high doses of iron preparations in order to fill the iron depots as much as possible. However, excessive doses of iron preparations may also give rise to undesirable side effects in patients. In particular, the intravenous application of iron preparations is not safe in physiological terms due to the extreme toxicity of iron ions. In patients where the situation of allergic reactions is well-known, e.g., asthmatics, the use of certain iron preparations is even discouraged, as a rule. Estimating the filling level of the iron depots is possible by determining the ferritin protein and by determining the transferrin saturation (M. Wick, W. Pingerra, P. Lehmann, "Eisenstoffwechsel, Diagnose und Therapie der Anämien", pp. 5-14, 38-55, 65-80, 94-98, third advanced edition, September 1996, Springer Verlag, Vienna, New York), wherein said transferrin saturation represents the iron flow from the depots to the marrow, while the serum ferritin value is a measure of stored iron.

The iron depots are regarded as "filled" when the serum ferritin is > 150 µg/l and a transferrin saturation of > 20% is present. P. Grützmacher et al., in Clinical Nephrology, Vol. 38, No. 1, 1992, pp. 92-97, describe that maximum response to the EPO therapy can be assumed under these conditions.

At present, one speaks of a "correction phase" and a "maintenance phase" in the iron therapy of EPO-treated dialysis patients. During the correction phase, iron preparations are administered at dosages as high as possible in

order to refill the iron depots as rapidly as possible. Conveniently, the application of suitable iron preparations is then effected by way of intravenous bolus injection. The iron depots are then "maintained filled" during the maintenance phase using lower iron dosages. The application of suitable iron preparations in this phase is not effected as a rapid bolus injection but in the form of common infusion preparations or by oral administration.

The iron requirement of rhEPO-treated hemodialysis patients may be quite considerable in both the correction and maintenance phases. In order to synthesize 1 g/dl hemoglobin during the correction phase, 150 mg of iron is required which either is delivered from endogenic iron depots or must be supplied exogenously. Similarly, there is an increased iron requirement during the maintenance phase because each treatment of hemodialysis patients gives rise to a minor loss of blood. Over a one year period the loss of iron is estimated to be about 1000 mg of iron (3 mg/day). On the long run, such loss can only be balanced via the exogenic route. In principle, oral and intravenous administration forms are available for this purpose.

As the oral iron resorption is only about 1 mg/day and less than 3 mg/day under extreme strain (with oral administration of about 300 mg of Fe(III)/day), intravenous application of larger amounts of iron is increasingly preferred. Currently, two iron preparations applicable by the intravenous route are available on the German pharmaceutical market. These are the "ferrlecit" and "ferrum vitis" drugs. Ferrlecit is an iron(III) gluconate complex, while "ferrum vitis" is an iron(III) hydroxide saccharate complex.

Indeed, the various problems of a high dosage, long-term oral iron therapy can be avoided with relative ease by using the intravenous, subcutaneous application of

iron(III) during hemodialysis treatment, because there is a safe intravenous, subcutaneous access, and injections can be effected without further strain for the patient. In recent years, this procedure has found more widespread use based on the assumption that administration forms with relatively few side effects were available with the "ferrlecit" and "ferrum vitis" preparations. Meanwhile, however, some side effects were pointed out in association with ferrlecit therapy in autologous blood transfusion, and the indication range for parenteral ferrlecit therapy was restricted significantly. Attention has been drawn to possible circulatory reactions ranging as far as collapsing and to possibly occurring anaphylactic reactions. Furthermore, the maximum allowed daily dose has been determined to be 2 ampoules of 5 ml, corresponding to 125 mg of iron.

Thus, the intravenous administration of either iron preparation is not trivial, because side effects must be expected in the application of either drug, all the more so when larger amounts have to be injected relatively quickly. Furthermore, the intravenous administration of iron preparations may cause problems as far as acute phase reactions if the iron dose is too high or is administered without optimum balance to the EPO dose.

Obviously, the high iron dosages which have to be administered to EPO-treated dialysis patients are disadvantageous. The risk of cardiac infarction is increased and also, the risk of developing iron cirrhosis is significantly increased. Within the scope of dialysis patient treatment, an adequate supply of iron as well as a suitable method for determining iron deficiency has considerable therapeutic benefit because insufficient iron availability is one of the major reasons for insufficient effectiveness of EPO and EPO resistance, respectively.

Excessively high dosages of iron-containing preparations may also give rise to iron intoxications. Elemental iron has a toxic effect on the gastrointestinal tract, the cardiovascular and the central nervous system. The oral lethal dose of elemental iron ranges between 200 and 250 mg/kg. The most frequently used iron tablets are ferrous sulfate (containing about 20% of elemental iron), ferrous fumarate (containing about 30% of elemental iron) or ferrous gluconate (containing about 10% of elemental iron).

There are four typical phases of iron intoxication. Phase I (within the first 6 hours after intoxication): vomiting, diarrhoea, hyperexcitability, stomach ache, attacks, apathy and coma may occur. Irritations of the gastrointestinal mucosa may give rise to hemorrhagic gastritis. Tachypnoea, tachycardia, hypotension, shock, coma and metabolic acidosis may occur at high serum levels. Phase II (within the first 10-14 hours after intoxication): within a latency period which may last up to 24 hours, there is an apparent improvement. Phase III (12-48 hours after intoxication): shock, hypoperfusion and hypoglycemia occur. The serum iron levels may be normal. Liver damage with elevated GPT, fever, leukocytosis, disturbed coagulation, T inversion in the ECG, disturbed orientation, restlessness, apathy, attack tendency, coma, shock, acidosis, and death may occur. Phase IV (2-5 weeks later): possible complications due to a pylorus, antrum or other intestinal obstructions, liver cirrhosis or damage of the central nervous system may become prominent.

It was the object of the invention to provide a combination preparation of recombinant human erythropoietin and an iron preparation containing an amount of EPO and iron ions which is optimally adjusted for the therapy of iron metabolism disorders. In particular, the demonstrated risks and especially the acute phase reactions are to be avoided by means of said combination preparations. In pa-

tients being treated with rhEPO, optimum EPO effect is to be achieved and EPO resistance avoided.

The combination preparation of the invention comprises 2,000-7,000 U of rhEPO and 1-20 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation, particularly an Fe(II) or Fe(III) complex, wherein the rhEPO and the iron preparation are present as combination preparations.

In the meaning of the present invention, the term "combination preparations" should be understood as referring not only to those drug packs wherein the EPO and the iron preparation are present formulated together in a ready-for-sale packing unit (so-called combination pack), but also to those drug packs which either contain a suitable amount of EPO or a suitable amount of an iron preparation in the form of a single preparation, the single preparations being formulated with respect to the amount of ingredients in such a way that it is possible in the meaning of the invention to effect combined administration with the respective other preparation. In these cases, the pharmaceutical manufacturers or the drug importers normally include a package circular prescribed by law in many countries, which includes instructions or information on the combined administration of the single preparations. Preferably, the combination preparations may be present in an integrated administration form wherein the respective amounts of EPO and the iron preparation are present together in one container.

In the meaning of the invention, oral or parenteral administration forms are possible as iron preparations. In principle, these may be single preparations containing a physiologically tolerable iron salt or an iron complex compound as active substance, or combination preparations as well which, in addition to the physiologically tolerable

iron preparation, contain further active substances such as vitamins, folic acid, thiamine chloride, riboflavin, pyridoxine, ascorbic acid, nicotinamide, calcium pantothenate, etc..

For example, physiologically tolerable iron salts or iron complex compounds are iron(II) sulfate, iron(II) fumarate, iron(III) citrate, iron(II) gluconate, iron(II) succinate, iron(II) chloride, iron(II) glycine sulfate complex, iron(II) aspartate, sodium iron(III) gluconate complex, iron(III) hydroxide polymaltose complex, or ferric sorbitol citrate complex. In particular, preferred iron preparations are Fe(III) complexes, especially those having a molecular weight of between 30,000 and 100,000 D. Particularly preferred is Fe(III) saccharate. Here, the commercially available "ferrum vitis" preparation (Neopharma Co., Germany) may be used. As a result of the low iron dosage according to the invention, labile iron complexes such as iron gluconate (m.w. about 1000 D; ferrlecit) may also be used in the combination preparation, although such labile iron complexes liberate relatively large amounts of ionized iron which would give rise to toxicity when quite large quantities are applied intravenously.

When referring to the amount of iron preparation hereinafter, this is basically understood to be the equivalent amount of iron ions, i.e., Fe(II) or Fe(III) ions to be applied. By way of this standardization, the amount of any iron preparation can be calculated on the basis of its known molecular weight. In the case of iron(III) gluconate $\times$ 2 H_2O, for example, the amount of iron is 80.5 mg when administering a 695 mg amount of iron preparation. When administering 280 mg of anhydrous iron(II) succinate, for example, the amount of iron is 95.2 mg.

Instead of the rhEPO protein (cf., European patent specification EP 0,205,564; EP 0,411,678), modifications of

said protein having a higher or lower molecular weight than 34,000 Da (molecular weight of urinary EPO), isoforms of the enzyme or proteins with different glycosylation may also be used. Moreover, in principle, those proteins derived from the amino acid sequence of natural EPO with a length of 166 amino acids by way of deletions, substitutions or extensions are also possible. Essentially, such proteins have physiological properties comparable to rhEPO. In particular, such proteins have biological properties inducing the bone marrow to increase the production of reticulocytes and red blood cells and/or to increase hemoglobin synthesis or iron absorption. Instead of these proteins, low molecular weight substances may also be used, which are referred to as EPO mimetics and bind to the same biological receptor. Preferably, these mimetics may also be administered by the oral route. The amount of such proteins or mimetics to be administered is determined by comparing the biological activities of EPO and said active substances.

For the treatment of hemodialysis patients, the combination preparation according to the invention contains especially 3,000 to 7,000 U of rhEPO, particularly 4,000 to 6,000 U of rhEPO, and preferably about 5,000 U of rhEPO. Particularly, the amount of iron ions is 3-20 mg, preferably 5-20 mg, with 10 mg being particularly preferred. For the treatment of anemia patients, the optimum dose is 2,000 to 4,000 U of rhEPO, preferably about 3,000 U. In this case, the amount of iron ions is 3-15 mg, particularly about 5 mg.

In their combination, the rhEPO and iron complex concentrations according to the invention permit optimum adjustment and treatment of hemodialysis or anemia patients and do not give rise to acute phase reactions in intravenous iron therapy.

Treatment using the combination preparation is effected once to five times, preferably up to four times a week, wherein the total amount per patient should not exceed 60 mg of iron ions per week in the case of hemodialysis patients treatment. When treating anemia, the total amount should not exceed 20 mg of iron ions per week. In clinical practice, the combination preparation according to the invention is particularly advantageous in that it may be used in both the correction and maintenance phases of the iron therapy of hemodialysis patients without causing toxicity. To date, different amounts of iron have been administered, where initially, lower dosages of iron ions have been administered in the correction phase as compared to the maintenance phase. Surprisingly, such different dosage is no longer required when using the combination preparations according to the invention. The amounts of EPO and iron preparation are mutually adjusted in such optimal fashion that differentiation between maintenance dose and correction dose is not required. In this way, increased safety in the treatment of hemodialysis or anemia patients is achieved because there is no more chance of confusing the optimum dosage of iron preparation.

When applying the combination preparations, rhEPO and iron complex may be administered in a so-called fixed combination, i.e., in a single pharmaceutical formulation containing both compounds. For example, this may be an injection solution or an infusion solution or a lyophilizate thereof filled in ampoules, for example. Such administration form is advantageous in that the EPO is stabilized by the iron complex during production and storage of the administration form. In the case of a lyophilizate, the EPO will be activated by the iron complex after dissolving the lyophilizate. The fixed combination of both active substances in the form of a lyophilizate has the further advantage of easy and safe handling. The lyophilizate is dis-

solved in the ampoule by adding pharmaceutically common injection vehicles and is administered intravenously.

EPO and iron complex may also be provided in the form of separate pharmaceutical formulations. As a rule, this is effected using a single packing unit comprising two containers, the first being a suitable EPO administration from (lyophilizate, injection or infusion solution), and the second representing a suitable administration form for the iron preparation. The free combination which may be provided in a single packing unit (drug pack) is advantageous in that each patient to be treated can individually be given a quantity of EPO and iron preparation, which can be assigned directly. In addition, such combination preparations offer the advantage of more safety for therapeutical success because each of the optimally adjusted amounts of single preparations has been determined, and confusion with other commercially available single preparations offered with various dosages is excluded to a great extent. Moreover, it must be contemplated that drug preparations having different dosages are frequently traded in various countries due to the national requirements and thus, there is a higher risk of confusing the various quantity ratios of the individual active substances (EPO and iron complex). Furthermore, the combination preparations according to the invention minimize the risk of an erroneously excessive iron medication which possibly might occur if conventional iron preparations from separate drug packs are used together with the EPO administration. The combination preparations of the invention ensure safe therapy and easy handling by the personnel in charge or within the scope of self-medication carried out by the patient. In the present case, it is also possible, for example, to provide one active substance as an injection solution and the other active substance (iron complex) as an administration form for oral administration.

In case the EPO active substance is provided as a lyophilizate, the drug packs (combination packs) contain the appropriate quantity of EPO in glass ampoules or carpoules. The iron preparation may be present in solid form (tablet, powder, granulate, lyophilizate, etc.) or in liquid form in a separate container. Furthermore, the combination pack preferably includes a reconstituting solution in order to dissolve the lyophilizate of the active substance either alone or together with the solid iron preparation. In case the iron preparation is present as a ready-for-use solution, the solution may be mixed together with the EPO solution if EPO and iron preparation are to be applied together. In principle, the iron preparation may also be provided as a concentrate to be added to conventional infusion solutions, permitting slower application over several hours. In this event, a small volume of solution containing the iron complex (about 0.5-10 ml) is added to the ready-for-use injection solution of about 500-1000 ml.

In the meaning of the invention, another possibility is providing each of the single preparations of EPO and iron preparations as an independent drug, the single preparations being formulated in such a way as to contain the required quantities of individual substances for the EPO and iron complex combination according to the invention. As a rule, the drug packs include the prescribed package circulars wherein appropriate directions for the combined administration of EPO and/or iron preparations in the required amounts are included. Appropriate directions may also be included as package printing on the drug pack (secondary packing means) or on the primary packing means (ampoule, blister strip, etc.). Thus, in the case of the EPO-containing drug having 2,000-7,000 units of EPO, for example, there are directions that this preparation should be administered especially together with an iron complex containing 1-20 mg of iron. Vice versa, there are direc-

tions for the combined administration with 2,000-7,000 U of EPO in the case of iron preparations.

The pharmaceutical administration forms are produced according to conventional procedures well-known in galenic technology using common pharmaceutical adjuvants.

When conducting the combination therapy using the combination preparation according to the invention, the maximum weekly dosage can be concluded in a quite simple fashion by determining the diagnostic parameters for the iron status, particularly the iron, transferrin, transferrin saturation and ferritin parameters. Adjustment of the patient during the correction and maintenance phases was found to be optimal when

ferritin is	100-300 µg/l (corresponding to depot iron(III) of 800-1200 mg), and the
transferrin saturation is	20 - 40%.

Preferably, the ferritin concentration is at least 125 µg/l, particularly at least 150 µg/l, and up to 270 µg/l at maximum, especially up to 250 µg/l at maximum. Advantageously, the iron concentration is between 10-20 µmol/l (corresponding to about 56-112 µg/dl) and the transferrin concentration between 30-60 µmol/l (corresponding to about 240-480 mg/dl). The transferrin saturation is defined as the ratio of serum/plasma iron concentration to serum/plasma transferrin concentration (multiplied by a correction factor of 1.41). It is a non-dimensional figure not depending on the patient's hydration condition. The transferrin saturation is calculated according to the formula:

$$\text{transferrin saturation (\%)} = (\text{iron [µg/dl]} \times 100)/(\text{transferrin [mg/dl]} \times 1.41)$$

Optimum adjustment of the patient is achieved when the ratio of transferrin saturation (in %) to ferritin concentration (in µg/l) ranges from 5-40% This parameter is defined as transferrin/ferritin saturation (TfF saturation). It is calculated according to the formula:

TfF saturation = (transferrin saturation in%) × 100/(ferritin [µg/l])

The value for this parameter is preferably in the range of 10-40, particularly at 15-25 [% × l/µg].

For example, when administering from 1 to 6 ampoules, preferably up to 4 or 5 ampoules per week (one ampoule containing 2,000-7,000 U of rhEPO and 1-20 mg of iron complex), the optimum adjustment of the patient is examined by diagnosis using these parameters.

In order to safely exclude undesirable side effects, the acute phase parameter CRP (5 mg/l ± 100%) [CRP = C reactive protein) is measured, with CRP currently being regarded as the best protein marker of inflammatory reactions. In addition, the liver parameters GPT (glutamate pyruvate transaminase), GOT (glutamate oxalic acetate transaminase) and γ-GT (γ-glutamyltransferase) may be determined, which should fall within the following ranges: (determination at 37°C): GPT: < 50 U/l; GOT: < 50 U/l; γ-GT: < 40 U/l, with the GPT parameter currently ranking first in liver diagnostics.

Furthermore, the hematological control parameters such as hematocrit (fraction of red blood cells in total volume) or the increase in hypochromic erythrocytes may optionally be utilized. In case the control parameters show higher increase, the weekly iron dose must be reduced, and rhEPO should be administered in addition. In case the control parameters, particularly the transferrin saturation,

show lower values, the weekly iron administration must be increased.

Surprisingly, it has also been found in the meaning of the invention that the predetermination of a patient-individual, optimum therapeutical dose of EPO and iron ions for the treatment of anemia may also be effected by determining the soluble TfR (transferrin receptor). The optimum therapeutical dose of EPO and iron(III) is reached when the concentration of the soluble TfR does not increase anymore. To ensure that sufficient mobilizable iron is present, the i.v. iron dose and the EPO administration are increased alternately until a plateau is reached. This corresponds to a concentration of 1,500-2,000 µg/l TfR.

When conducting the combination therapy using the combination preparation of the invention to treat anemia, the weekly maximum dosage can be concluded in a quite simple fashion by determining the diagnostic parameters transferrin receptor (TfR), ferritin and the ratio of TfR to ferritin. It was found that the patient is optimally adjusted in the correction and maintenance phases when

ferritin is	100-300 µg/l (corresponding to depot iron(III) of 400-1200 mg),
TfR/ferritin is	> 15

Advantageously, the TfR concentration is between 1500-2500 µg/l. The concentration ratio of TfR (in µg/l) to ferritin (in µg/l) is particularly in the range of 15-35, preferably at values above 20.

For example, when administering from 1 to 6 ampoules, preferably up to 4 or 5 ampoules per week (one ampoule containing 3,000 U of rhEPO and 5 mg of iron complex), the optimum adjustment of the patient is examined by diagnosis using these parameters. In this event, these are

not hemodialysis patients, in particular, but patients undergoing therapy with EPO and/or iron preparations due to an anemia of other origin.

In order to safely exclude undesirable side effects, the acute phase parameter CRP (2-10 mg/l) [CRP = C-reactive protein) is measured. In addition, the liver parameter GPT (glutamate pyruvate transaminase) may be determined, which should be < 50 U/l at 37°C (< 30 U/l at 25°C). Furthermore, the hematological control parameters such as hematocrit (fraction of red blood cells in total volume) or the increase in hypochromic erythrocytes may optionally be utilized, wherein the reticulocytes may increase to a value of up to 15/1000-30/1000. The typical hemoglobin concentration is about 12-18 g/dl. In case the soluble TfR shows higher increase, the weekly iron dose must be increased as high as up to 35 mg. If the soluble TfR shows lower values, the weekly EPO dose must be increased.

The determination of the iron status is effected by analyzing samples of body fluids (blood, serum, urine, etc.) from the patients in question. For the determination of the iron status, particularly the concentrations of iron, transferrin, ferritin, transferrin receptor, the transferrin saturation, and the transferrin/ferritin saturation are determined. With hemodialysis patients, the iron, transferrin, ferritin and transferrin saturation parameters are preferably determined according to <u>per se</u> common analytical methods. In particular, the determination of the transferrin/ferritin saturation value is relevant. In the case of anemia patients whose anemia has not been caused by hemodialysis, the ferritin concentration and the concentration of transferrin receptor are determined above all. In particular, the determination of the ratio of transferrin receptor to ferritin (transferrin receptor/ferritin saturation value) is relevant.

An optimum combination preparation for the treatment of anemia patients, which is in accordance with the invention in this meaning, comprises 2,000-4,000 U of EPO and 3-10 mg, preferably 5 mg of iron ions, preferably of an Fe(III) complex, where the EPO and the Fe(III) complex may be present in separate administration forms or in an integrated administration form.

The administration forms according to the invention also permit application of the iron preparations 1 to 3 days prior to EPO application in order to fill the iron depots already before the EPO treatment.

Furthermore, the invention is directed to the use of 3,000-7,000 U of rhEPO and 5-20 mg of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation in the production of combination preparations for the treatment of hemodialysis patients.

To examine the iron metabolism, the concentration of iron in the blood and the iron binding capacity are determined in clinical chemistry. Both of the tests should always be carried out because the mutual relationship of these measuring results is important. Usually, the normal serum iron levels in males are between 75 and 150 mg/dl and between 60 and 140 mg/dl in females. The total iron binding capacity is between 250 and 450 mg/dl. The serum iron level varies over the day. It is decreased in case of iron deficiency and anemias in the course of chronic diseases. It is increased in case of hemolysis and syndromes involving iron overloading (e.g., hemochromatosis or hemosiderosis). Patients undergoing oral iron medication may have normal iron serum levels, although they actually have iron deficiency. The total iron binding capacity (= transferrin x 2) is increased in case of iron deficiency, whereas it is decreased in case of anemias in the course of chronic diseases.

In addition, the serum ferritin level is determined. Ferritin is an iron-storing glycoprotein of which tissue-typical isoferritins are existing and which can be determined in the serum by immunological means, e.g., by a radioimmunoassay (RIA) or by turbidimetric methods as well. The ferritin value is a measure for iron storage in the tissue. In most of the laboratories, the normal range is between 30 and 300 ng/ml, and the geometrical mean value is 88 in males and 49 in females. The serum ferritin values are in close relationship to the total iron reserve of the body. Therefore, decreased serum ferritin levels are found only in case of iron deficiency. Increased levels are found in case of iron overloading. Likewise, increased serum ferritin levels are found in case of liver lesions or in association with some types of neoplasia, where ferritins may be bound to acute phase proteins. Similarly, the serum transferrin receptor may be determined using an enzyme-enhanced immune absorption test (enzyme-linked immunosorbent assay = ELISA), wherein a monoclonal antibody against the soluble receptor is used. The reference range is between 0.5-3 mg/l. The level is increased in case of slight deficiency in the iron depots. The concentrations of specific erythrocyte ferritins may be determined in order to characterize the iron depots, particularly if the serum ferritin cannot be utilized in case of tissue lesions or due to acute phase reactions.

For the examination of the iron metabolism, the erythrocyte ferritin level is determined in addition. In heparinized blood, the erythrocytes are separated from the leukocytes and thrombocytes (which also contain ferritin), using centrifugation. This is followed by lysis of the erythrocytes and immunological determination of the stored ferritin. The erythrocyte ferritin mirrors the status of the iron depots during the last 3 months (i.e., during the lifetime of an erythrocyte). The normal values are generally between 5 and 48 attograms (ag) per erythrocyte.

Values of < 5 are found in iron deficiency anemias, increased values (frequently > 100) in case of iron overloading (e.g., hemochromatosis). The determination of zinc protoporphyrin is of similar significance.

The invention will be illustrated in more detail with reference to the following examples, wherein the indicated amounts in case of the iron preparations refer to the equivalent amount of iron ions (rather than the amount of administered iron complex).

Example 1: Patient A (Hemodialysis)

a) Standard preparation

According to the conventional therapy procedure, the patient was administered 100 mg of iron(III) complex once per week and 5,000 U of rhEPO i.v. three times per week. Here, the transferrin, transferrin saturation, CRP, GOT/GPT, and γ-GT diagnostic parameters were within the normal ranges; the ferritin value was found to be too high, being 800-1300 µg/l. In order to decrease the ferritin value to < 500 µg/l, 5000 U of rhEPO was administered three times a week over a period of 3 weeks.

b) Preparation of the invention

When the combination preparation according to the invention, consisting of 10 mg of iron(III) saccharate and 5,000 U of rhEPO was subsequently administered three times per week, a ferritin value in the normal range was obtained and was maintained in further treatment. All the other parameters were in the normal ranges as well.

Example 2: Female Patient B (Hemodialysis)

a) Standard preparation

According to Example 1, the female patient B received 50 mg of iron(III) preparation once per week and 5,000 U of rhEPO three times per week. Despite the lower iron dose as in Example 1, the ferritin and transferrin saturation parameters were too high.

The ferritin value was decreased to < 500 µg/l and the transferrin saturation to < 25% by administering 5,000 U of rhEPO three times a week over a period of 3 weeks.

b) Preparation of the invention

After administering the combination preparation according to the invention of 10 mg of iron(III) preparation and 5,000 U of rhEPO twice to three times a week, all the values were within a reasonable range, and even upon further treatment with the preparation of the invention, extreme values occurred no more.

Example 3: Patient C (Hemodialysis)

a) Standard preparation

Patient C received 50 mg of the iron(III) preparation twice a week and 2000 U of rhEPO twice a week. In this case, it was found that the ferritin value being 1500-2500 µg/l is very high and the γ-GT is increasing. By omitting the iron infusions, the ferritin values were lowered to 500 µg/l within 3 weeks.

b) Preparation of the invention

Again, by subsequent administration of the combination preparation according to the invention of 10 mg of iron(III) gluconate and 5,000 U of rhEPO for three times, the normal values of ferritin, transferrin saturation, CRP, GOT, and γ-GT were obtained and maintained in further treatment.

Example 4: Patient D (Anemia Patient)

a) Standard preparation

According to the conventional therapy procedure, the patient was administered 100 mg of iron(III) complex once per week and 5,000 U of rhEPO i.v. three times per week. Here, the transferrin, transferrin saturation, CRP, GOT/GPT, and γ-GT diagnostic parameters were within the normal ranges; the ferritin value was found to be too high, being 800-1300 µg/l; the value for the transferrin receptor was between 100-500 µg/l and thus, too low.

To increase the transferrin receptor value to values above 1500 µg/l and to decrease the ferritin value to values below 500 µg/l, 5,000 U of rhEPO was administered three times a week over a period of 3 weeks.

b) Preparation of the invention

When the combination preparation according to the invention, consisting of 5 mg of iron(III) saccharate and 3,000 U of rhEPO was subsequently administered five times per week, a transferrin receptor value and ferritin value in the normal range was obtained and maintained in further treatment. All the other parameters were in the normal ranges as well.

Example 5: Patient E (Anemia Patient)

a) Standard preparation

According to Example 4, patient E received 50 mg of iron(III) preparation once per week and 5,000 U of rhEPO three times per week. Despite the lower iron dose as in Example 4, the ferritin and transferrin saturation parameters were too high.

The transferrin receptor value was increased to values above 1500 µg/l, and the ferritin value was decreased to < 500 µg/l and the transferrin saturation to < 25% by administering 5,000 U of rhEPO three times a week over a period of 3 weeks.

b) Preparation of the invention

After administering the combination preparation according to the invention of 5 mg of the iron(III) preparation and 3,000 U of rhEPO four to five times a week, all the values were within a reasonable range, and even upon further treatment with the preparation of the invention, extreme values occurred no more.

Example 6: Patient F (Anemia Patient)

a) Standard preparation

Patient F received 50 mg of the iron(III) preparation twice a week and 2,000 U of rhEPO twice a week. In this case, it was found that the transferrin receptor value is very low, being 100-800 µg/l, and the ferritin value, being 1500-2500 µg/l, is very high, and the γ-GT is increasing. By omitting the iron infusions, the transferrin receptor values were increased to values above 1500 µg/l, and

the ferritin values were lowered to < 500 µg/l within 3 weeks.

b) Preparation of the invention

Again, by subsequent administration of the combination preparation according to the invention of 5 mg of iron(III) gluconate and 3,000 U of rhEPO for five times, the normal values of ferritin, transferrin receptor, transferrin saturation, CRP, GOT, and γ-GT were obtained and maintained in further treatment.

THIS SHEET HAS BEEN REPLACED

* C L M S *

Claims

1. A pharmaceutical combination preparation, comprising 2,000-7,000 U of EPO and 1-20 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation.

2. The combination preparation according to claim 1, characterized in that it contains 3,000-7,000 U of EPO and 5-20 mg of iron ions.

3. The combination preparation according to claim 1 or 2, characterized in that it contains 5,000 U of EPO and 10 mg of iron ions.

4. The combination preparation according to claim 1, characterized in that it contains 2,000-4,000 U of EPO and 3-10 mg of iron ions.

5. The combination preparation according to claim 4, characterized in that it contains 3,000 U of EPO and 5 mg of iron ions.

6. The combination preparation according to one of claims 1-5, characterized in that the iron preparation is a complex having a molecular weight of between 30,000-100,000 D, preferably Fe(III) saccharate.

7. The combination preparation according to one of claims 1-5, characterized in that the iron preparation is Fe(III) gluconate.

This Sheet Has Been Replaced

* C L M S *

THIS SHEET HAS BEEN REPLACED

8. The combination preparation according to one of claims 1-3, 6 or 7 for the treatment of hemodialysis patients.

9. The combination preparation according to one of claims 1 or 4-7 for the treatment of anemias.

10. A method for the production of pharmaceutical combination preparations according to Claims 1-9, characterized in that 2,000-7,000 U of rhEPO and 1-20 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation are formulated together with pharmaceutically common carriers or adjuvants, and the respective preparations are provided in the form of combination preparations.

11. Use of EPO in the production of combination preparations containing 2,000-7,000 U of EPO for combined administration together with 1-20 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation for the treatment of hemodialysis patients.

12. Use of EPO in the production of combination preparations containing 2,000-4,000 U of EPO for combined administration together with 3-10 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation for the treatment of anemias.

13. A pharmaceutical packing unit, comprising 2,000-7,000 U of EPO and 1-20 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation as an integrated administration form in a single container or as separate administration forms in separate containers.

This Sheet Has Been Replaced

* C L M S *

THIS SHEET HAS BEEN REPLACED

14. The packing unit according to claim 13, characterized in that each of EPO and iron preparation are present in separate administration forms as injection and/or infusion solutions or as lyophilizates.

15. The packing unit according to claim 13, characterized in that the EPO and the iron preparation are present in an integrated administration form as an injection and/or infusion solution or as a lyophilizate.

16. A method for determining the iron status in a sample of body fluids, wherein in a first step, the concentrations of iron, transferrin and ferritin as well as the transferrin saturation, and in a second step, the transferrin/ferritin saturation are determined.

17. The method according to claim 16 for determining the iron status in hemodialysis patients.

18. A method for determining the iron status in a sample of body fluids, wherein in a first step, the concentrations of ferritin and the transferrin receptor (TfR), and in a second step, the transferrin receptor/ferritin saturation are determined.

19. The method according to claim 18 for determining the iron status in anemia patients.

!This Sheet Has Been Replaced

Abstract

The present invention is directed to a pharmaceutical combination preparation comprising 2,000-7,000 U of recombinant human erythropoietin (EPO) and 5-20 mg of an Fe(III) complex, wherein the rhEPO and the Fe(III) complex may be present in separate administration forms or in an integrated administration form.

The pharmaceutical preparation is used in the treatment of anemias or hemodialysis patients.

9802202.-3
IPOS

* C L M S *

REPLACEMENT SHEET
12 MAR 1998

PCT/EP96/03997
Amended claims (PCT Chapter II)

Claims

1. Use of 2,000-7,000 U of EPO and 1-20 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation in the production of a pharmaceutical combination preparation intended for the treatment of hemodialysis patients or the treatment of anemias, said combination preparation being employed both in the correction phase and the maintenance phase of the iron therapy.

2. The use according to claim 1, wherein the combination preparation contains 3,000-7,000 U of EPO and 5-20 mg of iron ions.

3. The use according to claim 1 or 2, wherein the combination preparation contains 5,000 U of EPO and 10 mg of iron ions.

4. The use according to claim 1, wherein the combination preparation contains 2,000-4,000 U of EPO and 3-10 mg of iron ions.

5. The use according to claim 4, wherein the combination preparation contains 3,000 U of EPO and 5 mg of iron ions.

6. The use according to one of claims 1-5, wherein the iron preparation is a complex having a molecular weight of between 30,000-100,000 d, preferably Fe(III) saccharate.

REPLACEMENT SHEET
12 MAR 1998

7. The use according to one of claims 1-5, wherein the iron preparation is Fe(III) gluconate.

8. The use according to one of claims 1-3, 6 or 7, wherein the combination preparation is employed for the treatment of hemodialysis patients.

9. The use according to one of claims 1 or 4-7, wherein the combination preparation is employed for the treatment of anemias.

10. Use of EPO in the production of combination preparations containing 2,000-7,000 U of EPO for combined administration together with 1-20 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation to be applied both in the correction phase and the maintenance phase during iron therapy in the treatment of hemodialysis patients.

11. Use of EPO in the production of combination preparations containing 2,000-4,000 U of EPO for combined administration together with 3-10 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation to be applied both in the correction phase and the maintenance phase during iron therapy in the treatment of anemias.

12. A pharmaceutical packing unit, comprising 2,000-7,000 U of EPO and 1-20 mg of an equivalent amount of iron ions of a physiologically tolerable iron preparation as an integrated administration form in a single container or as separate administration forms in separate containers to be applied both in the correction phase and the maintenance phase during iron therapy.

* C L M S *

REPLACEMENT SHEET
12 MAR 1998

13. The packing unit according to claim 12, characterized in that EPO and iron preparation each are present in separate administration forms as injection and/or infusion solutions or as lyophilizates.

14. The packing unit according to claim 13, characterized in that the EPO and the iron preparation are present in an integrated administration form as an injection and/or infusion solution or as a lyophilizate.

15. A method for determining the iron status in a sample of body fluids, wherein in a first step, the concentrations of iron, transferrin and ferritin as well as the transferrin saturation, and in a second step, the transferrin/ferritin saturation are determined.

16. The method according to claim 15 for determining the iron status in hemodialysis patients.

17. A method for determining the iron status in a sample of body fluids, wherein in a first step, the concentrations of ferritin and the transferrin receptor (TfR), and in a second step, the transferrin receptor/ferritin saturation are determined.

18. The method according to claim 17 for determining the iron status in anemia patients.

9802202-3
IPOS

PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6 :		(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: **WO 97/09996**
A61K 38/18 // (A61K 38/18, 33:26) (A61K 38/18, 31:295)	**A1**	(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. März 1997 (20.03.97)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP96/03997

(22) Internationales Anmeldedatum: 12. September 1996 (12.09.96)

(30) Prioritätsdaten:
195 35 571.7 14. September 1995 (14.09.95) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH [DE/DE]; D-68298 Mannheim (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: LEHMANN, Paul [DE/DE]; Johann-Sebastian-Bach-Strasse 14, D-67549 Worms (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; Patentabteilung, D-68298 Mannheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, ARIPO Patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMBINATION PREPARATIONS CONTAINING ERYTHROPOIETIN AND IRON PREPARATIONS

(54) Bezeichnung: PHARMAZEUTISCHE KOMBINATIONSPRÄPARATE ENTHALTEND ERYTHROPOIETIN UND EISENPRÄPARATE

(57) Abstract

The present invention relates to a pharmaceutical combination preparation comprising 2,000 - 7,000 U of recombinant human erythropoietin (EPO) and 5 - 20 mg of one Fe(III)-complex, it being possible to have the rhEPO and the Fe(III)-complex in separate forms of administration or in a uniform form of administration. The pharmaceutical preparation is used to treat anaemias or haemodialysis patients.

(57) Zusammenfassung

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein pharmazeutisches Kombinationspräparat umfassend 2.000 - 7.000 U rekombinantes humanes Erythropoietin (EPO) und 5 - 20 mg eines Fe(III)-komplexes, wobei das rhEPO und der Fe(III)-komplex in getrennten Darreichungsformen oder in einer einheitlichen Darreichungsform vorliegen können. Das pharmazeutische Präparat dient der Behandlung von Anämien oder von Hämodialysepatienten.

Patentansprüche

1. Verwendung von 2.000 - 7.000 U EPO und 1 - 20 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates zur Herstellung eines pharmazeutischen Kombinationspräparates zur Behandlung von Hämodialysepatienten oder zur Behandlung von Anämien, wobei das Kombinationspräparat sowohl in der Korrekturphase als auch in der Erhaltungsphase der Eisentherapie eingesetzt wird.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Kombinationspräparat 3.000 - 7.000 U EPO und 5 - 20 mg an Eisenionen enthält.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Kombinationspräparat 5.000 U EPO und 10 mg an Eisenionen enthält.

4. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Kombinationspräparat 2.000 - 4.000 U EPO und 3 - 10 mg an Eisenionen enthält.

5. Verwendung nach Anspruch 4, wobei das Kombinationspräparat 3.000 U EPO und 5 mg Eisenionen enthält.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 - 5, wobei das Eisenpräparat ein Komplex mit einem Molekulargewicht zwischen 30 000 - 100 000 D ist, vorzugsweise Fe(III)-Saccharat.

7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 - 5, wobei das Eisenpräparat Fe(III)-Gluconat ist.

GEÄNDERTES BLATT

8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 - 3, 6 oder 7, wobei das Kombinationspräparat zur Behandlung von Hämodialysepatienten eingesetzt wird.

9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 oder 4 - 7, wobei das Kombinationspräparat zur Behandlung von Anämien eingesetzt wird.

10. Verwendung von EPO zur Herstellung von Kombinationspräparaten enthaltend 2.000 - 7.000 U EPO zur kombinierten Gabe zusammen mit 1 - 20 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates zur Anwendung sowohl in der Korrekturphase als auch der Erhaltungsphase während der Eisentherapie bei der Behandlung von Hämodialysepatienten.

11. Verwendung von EPO zur Herstellung von Kombinationspräparaten enthaltend 2.000 - 4.000 U EPO zur kombinierten Gabe zusammen mit 3 - 10 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates zur Anwendung sowohl in der Korrekturphase als auch der Erhaltungsphase während der Eisentherapie bei der Behandlung von Anämien.

12. Pharmazeutische Verpackungseinheit umfassend 2.000 - 7.000 U EPO und 1 bis 20 mg einer äquivalenten Menge an Eisenionen eines physiologisch verträglichen Eisenpräparates als einheitliche Darreichungsform in einem Behältnis oder als getrennte Darreichungsformen in getrennten Behältnissen zur Anwendung sowohl in der Korrekturphase als auch in der Erhaltungsphase während der Eisentherapie.

13. Verpackungseinheit nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß jeweils das EPO und das Eisenpräparat in getrennten Darreichungsformen als Injektions- bzw. Infusionslösungen oder als Lyophilisate vorliegen.

14. Verpackungseinheit nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß das EPO und das Eisenpräparat in einer einheitlichen Darreichungsform als Injektions- bzw. Infusionslösung oder als Lyophilisat vorliegen.

ERSATZBLATT

15. Verfahren zur Bestimmung des Eisenstatus in einer Probe aus Körperflüssigkeiten, wobei in einem ersten Schritt die Konzentrationen von Eisen, Transferrin und Ferritin sowie die Transferrinsättigung und in einem zweiten Schritt die Transferrin/Ferritinsättigung bestimmt werden.

16. Verfahren nach Anspruch 15 zur Bestimmung des Eisenstatus bei Hämodialyse-Patienten.

17. Verfahren zur Bestimmung des Eisenstatus in einer Probe aus Körperflüssigkeiten, wobei in einem ersten Schritt die Konzentrationen von Ferritin und des Transferrin-Rezeptors (TfR) und in einem zweiten Schritt die Transferrin-Rezeptor/Ferritin-Sättigung bestimmt werden.

18. Verfahren nach Anspruch 17 zur Bestimmung des Eisenstatus bei Anämie-Patienten.

GEÄNDERTES BLATT