

TRADUZIONE DEL TESTO DEL BREVETTO EUROPEO N. 4103178

DAL TITOLO:

"METODI PER TRATTARE LA MALATTIA DI FABRY"

*** **

5

Descrizione

CAMPO TECNICO

[0001] Principi e forme di realizzazione della presente invenzione riguardano migalastat o un suo sale per uso in un metodo per ridurre il rischio di esiti clinici compositi (CCO) in un paziente femmina
10 avente la malattia di Fabry, come definito nelle rivendicazioni allegate.

RIFERIMENTO INCROCIATO ALL'ELENCO DI SEQUENZE

[0002] L'elenco di sequenze identificato come "AT20-01_Sequence_Listing.txt" (21.991 byte), creato il 10 febbraio 2021, è incorporato nella presente per riferimento.

15

STATO DELL'ARTE

[0003] La malattia di Fabry è un errore congenito progressivo legato all'X del metabolismo dei glicosfingolipidi causato da una carenza dell'enzima lisosomiale α -galattosidasi A (α -Gal A) conseguente a mutazioni nel gene α -Gal A (GLA). Pur essendo un disturbo legato all'X,
20 le femmine possono esprimere vari gradi di manifestazioni cliniche. Quella di Fabry è una malattia rara con un'incidenza stimata da 1 su 40.000 nei soggetti di sesso maschile a 1 su 117.000 nella popolazione generale. Oltretutto, vi sono varianti del fenotipo a esordio tardivo della malattia di Fabry che possono sfuggire alla diagnosi poiché non si
25 presentano con i segni e sintomi classici. Questo, e lo screening

neonatale per la malattia di Fabry, suggerisce che l'incidenza effettiva della malattia di Fabry può essere superiore a quella attualmente stimata.

[0004] Se non trattata, l'aspettativa di vita nei pazienti con Fabry è ridotta e il decesso si verifica solitamente nel quarto o quinto decennio a causa di malattia vascolare che interessa i reni, il cuore e/o il sistema nervoso centrale. La carenza dell'enzima porta all'accumulo intracellulare del substrato, globotriaosilceramide (GL-3) nell'endotelio vascolare e nei tessuti viscerali in tutto il corpo. Il deterioramento graduale della funzione renale e lo sviluppo di azotemia, a causa del deposito di glicosfingolipidi, si verificano solitamente tra il terzo e il quinto decennio di vita, ma possono verificarsi già prima nel secondo decennio. Lesioni renali si riscontrano in pazienti sia emizigoti (maschi) sia eterozigoti (femmine).

[0005] La malattia cardiaca conseguente alla malattia di Fabry si verifica nella maggior parte dei soggetti di sesso maschile e in molti di quello femminile. Le prime constatazioni a livello cardiaco includono ingrossamento del ventricolo sinistro, coinvolgimento valvolare e anomalie della conduzione. L'insufficienza mitrale è la lesione valvolare più frequente tipicamente presente nell'infanzia o nell'adolescenza. Le manifestazioni cerebrovascolari derivano principalmente dal coinvolgimento multifocale dei piccoli vasi e possono includere trombosi, attacchi ischemici transitori, ischemia dell'arteria basilare e aneurisma, convulsioni, emiplegia, emianestesia, afasia, disturbi dell'equilibrio o emorragie cerebrali. L'età media di esordio delle manifestazioni cerebrovascolari è 33,8 anni. Cambiamento di personalità e

comportamento psicotico possono manifestarsi con l'aumentare dell'età.

[0006] Una terapia approvata per trattare la malattia di Fabry è la terapia enzimatica sostitutiva (ERT), che tipicamente implica l'infusione endovenosa di una forma purificata della proteina di tipo selvatico corrispondente. Due prodotti di α -Gal A sono attualmente disponibili per il trattamento della malattia di Fabry: agalsidasi alfa (Replagal[®], Shire Human Genetic Therapies) e agalsidasi beta (Fabrazyme[®]; Sanofi Genzyme Corporation). Sebbene la ERT sia efficace in molti contesti, il trattamento ha tuttavia dei limiti. È stato dimostrato che la ERT non diminuisce il rischio di ictus, il muscolo cardiaco risponde lentamente e l'eliminazione di GL-3 da alcuni dei tipi cellulari dei reni è limitata. Alcuni pazienti sviluppano anche reazioni immunitarie alla ERT.

[0007] Di conseguenza, rimane la necessità di terapie per il trattamento della malattia di Fabry. - La relazione pubblica sulla valutazione europea di Galafold (migalastat) è disponibile all'indirizzo <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/galafold>, mentre la relazione sulla valutazione clinica è disponibile all'indirizzo <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK533664/>.

20 **SOMMARIO**

[0008]

[0009] La presente invenzione riguarda migalastat o un suo sale per uso in un metodo per ridurre il rischio di esiti clinici compositi (CCO) in un paziente femmina avente la malattia di Fabry, il metodo comprendendo somministrare al paziente una formulazione

comprendente una quantità efficace di migalastat o di un suo sale ogni due giorni per almeno 18 mesi, in cui la quantità efficace è da circa 100 mg a circa 150 mg di equivalente di base libera (FBE).

[0010] I CCO comprendono eventi renali, eventi cardiaci, eventi cerebrovascolari e decesso. In una o più forme di realizzazione, gli eventi renali comprendono uno o più tra: una diminuzione di $eGFR_{CKD-EPI} \geq 15$ ml/min/1,73 m² con $eGFR$ diminuita < 90 ml/min/1,73 m² rispetto al basale; o un aumento delle proteine nelle urine delle 24 ore $\geq 33\%$, con proteine elevate ≥ 300 mg rispetto al basale. In una o più forme di realizzazione, gli eventi cardiaci comprendono uno o più tra: infarto del miocardio; angina cardiaca instabile; nuova aritmia sintomatica che richiede terapia antiaritmica, cardioversione a corrente continua, impianto di pacemaker o di defibrillatore; o insufficienza cardiaca congestizia [classe III o IV della New York Association]. In una o più forme di realizzazione, gli eventi cerebrovascolari comprendono uno o più tra ictus o attacco ischemico transitorio.

[0011] In una o più forme di realizzazione, il migalastat o suo sale potenzia l'attività di α -Gal A.

[0012] In una o più forme di realizzazione, al paziente vengono somministrati circa 123 mg di FBE del migalastat o del suo sale ogni due giorni.

[0013] In una o più forme di realizzazione, al paziente vengono somministrati circa 123 mg di base libera di migalastat ogni due giorni.

[0014] In una o più forme di realizzazione, al paziente vengono somministrati circa 150 mg di migalastat cloridrato ogni due giorni.

[0015] In una o più forme di realizzazione, la formulazione comprende una forma di dosaggio orale. In una o più forme di realizzazione, la forma di dosaggio orale comprende una compressa, una capsula o una soluzione.

5 **[0016]** In una o più forme di realizzazione, il migalastat o suo sale viene somministrato per almeno 2 anni.

[0017] In una o più forme di realizzazione, il migalastat o suo sale viene somministrato per almeno 3 anni.

10 **[0018]** In una o più forme di realizzazione, il migalastat o suo sale viene somministrato per almeno 4 anni.

[0019] In una o più forme di realizzazione, il tasso di incidenza di CCO per un gruppo di pazienti in terapia con migalastat per 18 mesi è inferiore a 1,0 per paziente•anno. In una o più forme di realizzazione, il tasso di incidenza di CCO per un gruppo di pazienti in terapia con migalastat per 18 mesi è inferiore a 0,5 per paziente•anno.

[0022] In una o più forme di realizzazione, il paziente è un paziente vergine all'ERT.

[0023] In una o più forme di realizzazione, il paziente è un paziente già sottoposto a ERT.

20 **[0024]** In una o più forme di realizzazione, il paziente ha una mutazione in α -galattosidasi A suscettibile al saggio HEK. In una o più forme di realizzazione, la mutazione è divulgata in una tabella farmacologica di riferimento. In una o più forme di realizzazione, la tabella farmacologica di riferimento è fornita in un'etichetta di prodotto per un
25 prodotto a base di migalastat approvato per il trattamento della malattia

di Fabry. In una o più forme di realizzazione, la tabella farmacologica di riferimento è fornita in un'etichetta di prodotto per GALAFOLD®. In una o più forme di realizzazione, la tabella farmacologica di riferimento è fornita in un sito web. In una o più forme di realizzazione, il sito web è uno o più tra www.galafoldamenabilitytable.com o www.fabrygenevariantsearch.com.

[0025] Nella presente è anche divulgato un metodo per giudicare gli esiti gastrointestinali (GI) in un paziente avente la malattia di Fabry, il metodo comprendendo: giudicare la gravità dei sintomi GI correlati alla malattia del paziente; giudicare la frequenza dei movimenti intestinali del paziente; giudicare la frequenza di diarrea del paziente; e giudicare la consistenza della diarrea del paziente.

[0026] In uno o più aspetti, giudicare la gravità dei sintomi GI correlati alla malattia del paziente comprende giudicare la gravità di uno o più tra: gonfiore, dolore allo stomaco, crampi, nausea, reflusso acido, bruciore di stomaco, stipsi o diarrea.

[0027] In uno o più aspetti, giudicare la gravità dei sintomi GI correlati alla malattia del paziente comprende giudicare la gravità di uno o più tra: il peggiore gonfiore in un periodo di tempo; il peggiore dolore allo stomaco in un periodo di tempo; i peggiori crampi in un periodo di tempo; la peggiore nausea in un periodo di tempo; la peggiore nausea in un periodo di tempo; la peggiore nausea in un periodo di tempo; la peggiore nausea in un periodo di tempo; o la peggiore nausea in un periodo di tempo.

[0028] In uno o più aspetti, gli esiti GI sono giudicati in base a un

periodo di tempo di 24 ore. In altri aspetti, i giudizi si basano su un periodo di tempo di 6 ore, 8 ore, 12 ore, 36 ore, 48 ore, 3 giorni, 4 giorni, 5 giorni, 6 giorni o 7 giorni.

[0029] In uno o più aspetti, gli esiti di GI sono giudicati in base ai
5 sintomi riferiti dal paziente.

[0030] In uno o più aspetti, ciascuna voce è giudicata usando un punteggio su una scala da 0 a 10.

[0031] Nella presente è anche divulgato un metodo per valutare una terapia di trattamento per la malattia di Fabry, il metodo
10 comprendendo giudicare GI al basale, giudicare l'esito GI dopo un periodo della terapia di trattamento, e confrontare l'esito GI al basale con l'esito GI dopo il periodo della terapia di trattamento.

[0032] Nella presente è anche divulgato un metodo per trattare la malattia di Fabry, il metodo comprendendo giudicare GI per ottenere
15 un primo punteggio GI, avviare o continuare una terapia di trattamento per la malattia di Fabry per un periodo di tempo, giudicare l'esito GI dopo un periodo della terapia di trattamento dopo il periodo di tempo di terapia di trattamento per ottenere un secondo punteggio di esito GI, e confrontare il primo punteggio di esito GI e il secondo punteggio di esito
20 GI.

[0033] In uno o più aspetti, la terapia di trattamento comprende ERT.

[0034] In uno o più aspetti, la terapia di trattamento comprende una terapia di riduzione del substrato.

25 **[0035]** In uno o più aspetti, la terapia di trattamento comprende

una terapia genica.

[0036] In uno o più aspetti, la terapia di trattamento comprende una terapia con chaperone farmacologico. In uno o più aspetti, la terapia con chaperone farmacologico comprende la somministrazione di una
5 quantità efficace di migalastat o di un suo sale. In uno o più aspetti, il migalastat o un suo sale viene somministrato ogni due giorni. In uno o più aspetti, forme di realizzazione, la quantità efficace è FBE da circa 100 mg a circa 150 mg.

[0037] In uno o più aspetti, al paziente vengono somministrati
10 circa 123 mg di FBE del migalastat o di un suo sale ogni due giorni.

[0038] In uno o più aspetti, al paziente vengono somministrati circa 123 mg di base libera di migalastat ogni due giorni.

[0039] In uno o più aspetti, al paziente vengono somministrati circa 150 mg di migalastat cloridrato ogni due giorni.

[0040] In uno o più aspetti la formulazione comprende una forma
15 di dosaggio orale. In uno o più aspetti, la forma di dosaggio orale comprende una compressa, una capsula o una soluzione.

[0041] In uno o più aspetti, il migalastat o suo sale viene somministrato per almeno 2 anni.

[0042] In uno o più aspetti, il migalastat o suo sale viene
20 somministrato per almeno 3 anni.

[0043] In uno o più aspetti, il migalastat o suo sale viene somministrato per almeno 4 anni.

[0044] In uno o più aspetti, il paziente è maschio.

[0045] In uno o più aspetti, il paziente è femmina.
25

[0046] In uno o più aspetti, il paziente è un paziente vergine all'ERT.

[0047] In uno o più aspetti, il paziente è un paziente già sottoposto a ERT.

5 **[0048]** In uno o più aspetti, il paziente ha una mutazione in α -galattosidasi A suscettibile al saggio HEK. In uno o più aspetti, la mutazione è divulgata in una tabella farmacologica di riferimento. In uno o più aspetti, la tabella farmacologica di riferimento è fornita in un'etichetta di prodotto per un prodotto a base di migalastat approvato
10 per il trattamento della malattia di Fabry. In uno o più aspetti, la tabella farmacologica di riferimento è fornita in un'etichetta di prodotto per GALAFOLD®. In uno o più aspetti, la tabella farmacologica di riferimento è fornita su un sito web. In uno o più aspetti, il sito web è uno o più tra www.galafoldamenabilitytable.com o www.fabrygenevariantsearch.com.

15 **[0049]** Nella presente è anche divulgato un metodo per valutare una terapia di trattamento per la malattia di Fabry, il metodo comprendendo giudicare uno o più parametri in una popolazione di pazienti trattata con la terapia di trattamento, in cui l'uno o più parametri comprendono uno o più tra: incidenza di segni e sintomi di malattia di
20 Fabry; parametri renali; e parametri cardiaci; e giudicare l'uno o più parametri in una popolazione di pazienti non trattati.

[0050] In uno o più aspetti, i segni e sintomi di malattia di Fabry comprendono uno o più tra: acroparestesia; segni e sintomi GI; perdita dell'udito; cornea verticillata; angiocheratomi; ipoidrosi; cambiamenti
25 polmonari; linfedema; o cambiamenti nella RM cerebrale.

[0051] In uno o più aspetti, i parametri renali comprendono uno o più tra eGFR_{CKD-EPI}; livelli di creatinina; livelli di proteine nelle urine; o incidenza di proteine rilevabili nelle urine.

5 **[0052]** In uno o più aspetti, i parametri cardiaci comprendono uno o più tra indice di massa ventricolare sinistra (LVMI) o incidenza di ipertrofia ventricolare sinistra.

[0053] In uno o più aspetti, il metodo comprende inoltre giudicare l'uno o più parametri in una popolazione di pazienti trattati con una terapia di trattamento differente per la malattia di Fabry.

10 **[0054]** In uno o più aspetti, il metodo comprende inoltre giudicare l'età dei pazienti in ciascuna delle popolazioni di pazienti.

[0055] In uno o più aspetti, il metodo comprende inoltre giudicare i genotipi dei pazienti in ciascuna delle popolazioni di pazienti.

15 **[0056]** In uno o più aspetti, il metodo comprende inoltre giudicare i generi dei pazienti in ciascuna delle popolazioni di pazienti.

[0057] In uno o più aspetti, la terapia di trattamento comprende ERT.

[0058] In uno o più aspetti, la terapia di trattamento comprende una terapia di riduzione del substrato.

20 **[0059]** In uno o più aspetti, la terapia di trattamento comprende una terapia genica.

[0060] In uno o più aspetti, la terapia di trattamento comprende una terapia con chaperone farmacologico. In uno o più aspetti, la terapia con chaperone farmacologico comprende la somministrazione di una
25 quantità efficace di migalastat o di un suo sale. In uno o più aspetti, il

migalastat o un suo sale viene somministrato ogni due giorni. In uno o più aspetti, la quantità efficace da circa 100 mg a circa 150 mg di FBE.

[0061] In uno o più aspetti, al paziente vengono somministrati circa 123 mg di FBE del migalastat o di un suo sale ogni due giorni.

5 **[0062]** In uno o più aspetti, al paziente vengono somministrati circa 123 mg di base libera di migalastat ogni due giorni.

[0063] In uno o più aspetti, al paziente vengono somministrati circa 150 mg di migalastat cloridrato ogni due giorni.

[0064] In uno o più aspetti la formulazione comprende una forma di dosaggio orale. In uno o più aspetti, la forma di dosaggio orale comprende una compressa, una capsula o una soluzione.

[0065] In uno o più aspetti, il migalastat o suo sale viene somministrato per almeno 2 anni.

15 **[0066]** In uno o più aspetti, il migalastat o suo sale viene somministrato per almeno 3 anni.

[0067] In uno o più aspetti, il migalastat o suo sale viene somministrato per almeno 4 anni.

[0068] In uno o più aspetti, il paziente è maschio.

[0069] In uno o più aspetti, il paziente è femmina.

20 **[0070]** In uno o più aspetti, il paziente è un paziente vergine all'ERT.

[0071] In uno o più aspetti, il paziente è un paziente già sottoposto a ERT.

25 **[0072]** In uno o più aspetti, il paziente ha una mutazione in α -galattosidasi A suscettibile al saggio HEK. In uno o più aspetti, la

mutazione è divulgata in una tabella farmacologica di riferimento. In una o più forme di realizzazione, la tabella farmacologica di riferimento è fornita in un'etichetta di prodotto per un prodotto a base di migalastat approvato per il trattamento della malattia di Fabry. In uno o più aspetti, 5 la tabella farmacologica di riferimento è fornita in un'etichetta di prodotto per GALAFOLD®. In uno o più aspetti, la tabella farmacologica di riferimento è fornita su un sito web. In uno o più aspetti, il sito web è uno o più tra www.galafoldamenabilitytable.com o www.fabrygenevariantsearch.com.

10 **[0073]** In uno o più aspetti, il metodo comprende inoltre giudicare l'uno o più parametri in una popolazione di pazienti trattati con un ERT.

[0074] In uno o più aspetti, l'uno o più parametri sono giudicati per un periodo di tempo di almeno un anno.

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

15 **[0075]** Ulteriori caratteristiche della presente invenzione risulteranno evidenti dalla seguente descrizione scritta e dalle figure allegate, in cui:

[0076] Le Figure 1A-E mostrano la sequenza di DNA completa del gene GLA di tipo selvatico umano (SEQ ID NO: 1);

20 **[0077]** la Figura 2 mostra la proteina di α -Gal A di tipo selvatico (SEQ ID NO: 2);

[0078] la Figura 3 mostra la sequenza di acido nucleico codificante la proteina di α -Gal A di tipo selvatico (SEQ ID NO: 3);

25 **[0079]** Le Figure 4A e 4B mostrano la storia della malattia di Fabry di pazienti attualmente iscritti nel registro followME (popolazione

B

di sicurezza); e

[0080] la Figura 5A mostra segni e sintomi della malattia di Fabry in pazienti attualmente iscritti nel registro followME e la Figura 5B mostra l'età mediana alla prima occorrenza di segni e sintomi di Fabry (popolazione di sicurezza) per genere.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA

[0081] Prima di descrivere svariate forme di realizzazione esemplificative dell'invenzione, resta inteso che l'invenzione non è limitata ai dettagli di passaggi di costruzione o processo esposti nella seguente descrizione. L'invenzione è capace di altre forme di realizzazione e di essere messa in pratica o eseguita in vari modi.

[0082] La presente invenzione riguarda la somministrazione di migalastat per il trattamento della malattia di Fabry come definito nelle rivendicazioni allegate.

Definizioni

[0083] I termini usati in questa descrizione hanno generalmente i loro significati ordinari nell'arte, nel contesto di questa invenzione e nel contesto specifico dove ciascun termine è usato. Certi termini sono discussi di seguito, o altrove nella descrizione, per fornire una guida aggiuntiva per il medico nel descrivere le composizioni e i metodi dell'invenzione e su come realizzarli e usarli.

[0084] Il termine "malattia di Fabry" si riferisce a un errore congenito collegato all'X del catabolismo dei glicosfingolipidi dovuto ad attività di α -Gal A lisosomiale carente. Questo difetto causa l'accumulo del substrato globotriaosilceramide ("GL-3", anche noto come Gb3 o

ceramide trioside) e dei glicosfingolipidi correlati nei lisosomi endoteliali vascolari del cuore, dei reni, della cute e di altri tessuti. Un altro substrato dell'enzima è la globotriaosilsfingosina plasmatica ("liso-Gb₃ plasmatica").

- 5 **[0085]** Il termine "malattia di Fabry atipica" si riferisce a pazienti con manifestazioni principalmente cardiache della carenza di α -Gal A, vale a dire accumulo progressivo di GL-3 nelle cellule miocardiche che porta a un significativo ingrossamento del cuore, in particolare del ventricolo sinistro.
- 10 **[0086]** Un "portatore" è una femmina che ha un cromosoma X con un gene di α -Gal A difettivo e un cromosoma X con il gene normale e in cui l'inattivazione del cromosoma X dell'allele normale è presente in uno o più tipi di cellule. Un portatore ha spesso una diagnosi di malattia di Fabry.
- 15 **[0087]** Un "paziente" si riferisce a un soggetto a cui è stata diagnosticata o si sospetta abbia una particolare malattia. Il paziente può essere un essere umano o animale.
- [0088]** Un "paziente con Fabry" si riferisce a un individuo a cui è stata diagnosticata o si sospetta abbia la malattia di Fabry ed ha una α -
20 Gal A mutata come definito ulteriormente di seguito. Marcatori caratteristici della malattia di Fabry possono verificarsi in emizigoti maschi e portatori femmine con la stessa prevalenza, sebbene le femmine tipicamente siano colpite meno gravemente.
- [0089]** α -Galattosidasi A (α -Gal A) umana si riferisce a un enzima
25 codificato dal gene di GLA umano. La sequenza di DNA completa di α -

Gal A, inclusi introni ed esoni, è disponibile in GenBank, n. di accesso X14448.1, e mostrata nelle FIGG. 1A-E (SEQ ID NO: 1). L'enzima α -Gal A umano consiste in 429 amminoacidi ed è disponibile in GenBank, n. di accesso X14448.1 e U78027.1, e mostrato nella Figura 2 (SEQ ID NO: 2). La sequenza di acido nucleico che include solo le regioni codificanti (ossia esoni) di SEQ ID NO: 1 è mostrata nella Figura 3 (SEQ ID NO: 3).

[0090] Il termine "proteina mutante" include una proteina che ha una mutazione del gene codificante la proteina che risulta nell'incapacità della proteina di conseguire una conformazione stabile nelle condizioni normalmente presenti nel reticolo endoplasmatico (RE). Il mancato conseguimento di una conformazione stabile risulta in una quantità sostanziale dell'enzima che viene degradata, piuttosto che essere trasportata al lisosoma. Una tale mutazione è talvolta chiamata un "mutante conformazionale". Tali mutazioni includono, ma senza limitarsi, mutazioni missenso, e piccole delezioni e inserzioni in cornice.

[0091] Secondo l'uso fattone nella presente, in una forma di realizzazione, il termine " α -Gal A mutante" include una α -Gal A che ha una mutazione nel gene codificante α -Gal A che risulta nell'incapacità dell'enzima di conseguire una conformazione stabile nelle condizioni normalmente presenti nel RE. Il mancato conseguimento di una conformazione stabile risulta in una quantità sostanziale dell'enzima che viene degradata, piuttosto che essere trasportata al lisosoma.

[0092] Secondo l'uso fattone nella presente, il termine "chaperone farmacologico" ("PC") si riferisce a qualsiasi molecola, tra cui una piccola molecola, una proteina, un peptide, un acido nucleico, un

B

carboidrato, eccetera, che si lega specificamente a una proteina e ha uno o più dei seguenti effetti: (i) potenzia la formazione di una conformazione molecolare stabile della proteina; (ii) induce il trasferimento della proteina dal RE a un'altra sede cellulare, preferibilmente una sede cellulare nativa, ossia impedisce la degradazione associata al RE della proteina; (iii) impedisce l'aggregazione delle proteine mal ripiegate; e/o (iv) ripristina o potenzia una funzione e/o attività di tipo selvatico almeno parziale nella proteina. Un composto che si lega specificamente, ad esempio, a α -Gal A significa che si lega allo, ed esercita un effetto di chaperone sullo, enzima e non su un gruppo generico di enzimi correlati o non correlati. Più specificamente, questo termine non si riferisce a chaperoni endogeni, come BiP, o ad agenti aspecifici che hanno dimostrato un'attività di chaperone aspecifica contro varie proteine, come glicerolo, DMSO o acqua deuterata, ossia chaperoni chimici. Nella presente invenzione, il PC è migalastat o un suo sale. In un'altra forma di realizzazione, il PC è una base libera di migalastat (ad esempio, 123 mg di base libera di migalastat). In ancora un'altra forma di realizzazione, il PC è un sale di migalastat (ad esempio, 150 mg di migalastat HCl).

[0093] Un "inibitore competitivo" di un enzima può riferirsi a un composto che assomiglia strutturalmente alla struttura chimica e alla geometria molecolare del substrato enzimatico per legare l'enzima approssimativamente nella stessa posizione del substrato. Perciò, l'inibitore compete per lo stesso sito attivo della molecola di substrato, aumentando così la Km. L'inibizione competitiva è solitamente reversibile se sono disponibili molecole di substrato sufficienti per dislocare

l'inibitore, ossia gli inibitori competitivi possono legarsi reversibilmente. Pertanto, la quantità di inibizione enzimatica dipende dalla concentrazione di inibitore, dalla concentrazione di substrato e dalle affinità relative dell'inibitore e del substrato per il sito attivo.

5 **[0094]** Secondo l'uso fattone nella presente, il termine "si lega specificamente" si riferisce all'interazione di uno chaperone farmacologico con una proteina come α -Gal A, specificamente, un'interazione con residui di amminoacidi della proteina che partecipano direttamente al contatto con lo chaperone farmacologico. Uno chaperone
10 farmacologico si lega specificamente a una proteina bersaglio, ad esempio α -Gal A, per esercitare un effetto di chaperone sulla proteina e non un gruppo generico di proteine correlate o non correlate. I residui amminoacidici di una proteina che interagiscono con qualsiasi dato chaperone farmacologico possono o non possono essere all'interno del
15 "sito attivo" della proteina. Un legame specifico può essere valutato tramite saggi di legame di routine o tramite studi strutturali, ad esempio, co-cristallizzazione, NMR, e simili. Il sito attivo per la α -Gal A è il sito di legame del substrato.

[0095] "Attività di α -Gal A carente" si riferisce all'attività di α -Gal
20 A in cellule da un paziente che è al di sotto dell'intervallo normale rispetto (usando gli stessi metodi) all'attività in individui normali che non hanno o non si sospetta abbiano la malattia di Fabry o qualsiasi altra malattia (specialmente una malattia del sangue).

[0096] Secondo l'uso fattone nella presente, i termini "potenziare
25 l'attività di α -Gal A" o "aumentare l'attività di α -Gal A" si riferisce

B

all'aumento della quantità di α -Gal A che adotta una conformazione stabile in una cellula messa a contatto con uno chaperone farmacologico specifico per l' α -Gal A, rispetto alla quantità in una cellula (preferibilmente dello stesso tipo cellulare o la stessa cellula, ad esempio, in un momento precedente) non messa a contatto con lo chaperone farmacologico specifico per l' α -Gal A. Questo termine si riferisce anche all'aumento del trasferimento di α -Gal A al lisosoma in una cellula messa a contatto con uno chaperone farmacologico specifico per l' α -Gal A, rispetto al trasferimento di α -Gal A non messo a contatto con lo chaperone farmacologico specifico per la proteina. Questi termini si riferiscono sia alla α -Gal A sia di tipo selvatico sia mutante. In una forma di realizzazione, l'aumento della quantità di α -Gal A nella cellula viene misurato misurando l'idrolisi di un substrato artificiale in lisati da cellule che sono state trattate con il PC. Un aumento dell'idrolisi è indicativo di un'attività di α -Gal A aumentata.

[0097] Il termine "attività di α -Gal A" si riferisce alla normale funzione fisiologica di una α -Gal A di tipo selvatico in una cellula. Ad esempio, l'attività di α -Gal A include l'idrolisi di GL-3.

[0098] Un "soggetto con risposta" è un individuo a cui è stato diagnosticato o si sospetta abbia un disturbo da accumulo lisosomiale (LSD), come, ad esempio, la malattia di Fabry, le cui cellule presentano un'attività di α -Gal A sufficientemente aumentata, rispettivamente, e/o un miglioramento dei sintomi o un potenziamento dei marcatori surrogati, in risposta al contatto con un PC. Esempi non limitativi di potenziamenti di marcatori surrogati per la malattia di Fabry sono lyso-GB3 e quelli

divulgati nella pubblicazione di domanda di brevetto statunitense n. U.S. 2010/0113517.

[0099] Esempi non limitativi di miglioramenti di marcatori surrogati per la malattia di Fabry divulgati in US 2010/0113517 includono

5 aumenti dei livelli di α -Gal A o dell'attività nelle cellule (ad esempio, fibroblasti) e nel tessuto; riduzioni dell'accumulo di GL-3; concentrazioni plasmatiche diminuite di omocisteina e molecola di adesione cellulare vascolare-1 (VCAM-1); accumulo di GL-3 diminuito all'interno di cellule miocardiche e fibrociti valvolari; riduzione di liso-Gb₃ plasmatica;

10 riduzione dell'ipertrofia cardiaca (specialmente del ventricolo sinistro), miglioramento di insufficienza valvolare e aritmie; miglioramento della proteinuria; concentrazioni urinarie diminuite di lipidi, come CTH, lattosilceramide, ceramide, e concentrazioni urinarie aumentate di glucosilceramide e sfingomieline; l'assenza di corpi di inclusione laminati

15 (corpi zebrati) in cellule epiteliali glomerulari; miglioramenti della funzionalità renale; attenuazione dell'ipoidrosi; l'assenza di angiocheratomi; e miglioramenti di anomalie uditive, quali perdita dell'udito sensorineurale ad alta frequenza, perdita progressiva dell'udito, sordità improvvisa o acufene.

20 **[00100]** La dose che consegue una o più delle risposte menzionate sopra è una "dose terapeutamente efficace".

[00101] La frase "farmaceuticamente accettabile" si riferisce a entità molecolari e composizioni che sono fisiologicamente tollerabili e non producono tipicamente reazioni indesiderate quando somministrate

25 a un essere umano. In alcune forme di realizzazione, secondo l'uso

fattone nella presente, il termine "farmaceuticamente accettabile" significa approvato da un ente regolatore del governo federale o statale o elencato nella farmacopea statunitense o in altra farmacopea generalmente riconosciuta per uso in animali, e, più particolarmente, in esseri umani. Il termine "trasportatore" in riferimento a un trasportatore farmaceutico si riferisce a un diluente, adiuvante, eccipiente o veicolo con cui il composto viene somministrato. Tali trasportatori farmaceutici possono essere liquidi sterili, come acqua e oli. Acqua o soluzioni acquose e soluzioni acquose di destrosio e glicerolo sono preferibilmente impiegate come trasportatori, in particolare per soluzioni iniettabili. Trasportatori farmaceutici adatti sono descritti in "Remington's Pharmaceutical Sciences" di E. W. Martin, 18a edizione, o altre edizioni.

[00102] Secondo l'uso fattone nella presente, il termine "isolato" significa che il materiale di riferimento è rimosso dall'ambiente in cui si trova normalmente. Perciò, un materiale biologico isolato può essere privo di componenti cellulari, ossia componenti delle cellule in cui si trova o viene prodotto il materiale. Nel caso di molecole di acido nucleico, un acido nucleico isolato include un prodotto di PCR, una banda di mRNA su un gel, un cDNA, o un frammento di restrizione. In un'altra forma di realizzazione, un acido nucleico isolato è preferibilmente escisso dal cromosoma nel quale può essere trovato, e, più preferibilmente, non è più unito a regioni non regolatrici, non codificanti, o ad altri geni, situati a monte o a valle del gene contenuto dalla molecola di acido nucleico isolata quando si trova nel cromosoma. In ancora un'altra forma di realizzazione, l'acido nucleico isolato manca di uno o più introni. Acidi

B

nucleici isolati includono sequenze inserite in plasmidi, cosmidi, cromosomi artificiali, e simili. Perciò, in una forma di realizzazione specifica, un acido nucleico ricombinante è un acido nucleico isolato. Una proteina isolata può essere associata ad altre proteine o altri acidi nucleici, o entrambi, con cui è associata nella cellula, o con membrane cellulari se è una proteina associata alla membrana. Un organello, una cellula o un tessuto isolato viene rimosso dal sito anatomico in cui si trova in un organismo. Un materiale isolato può essere purificato, ma non è necessario lo sia.

10 **[00103]** Il termine "terapia sostitutiva enzimatica" o "ERT" si riferisce all'introduzione di un enzima purificato, non nativo, in un individuo avente una carenza in tale enzima. La proteina somministrata può essere ottenuta da fonti naturali o mediante espressione ricombinante (come descritto in maggiore dettaglio di seguito). Il termine
15 si riferisce anche all'introduzione di un enzima purificato in un individuo che altrimenti richiederebbe la, o trarrebbe beneficio dalla, somministrazione di un enzima purificato, ad esempio affetto da insufficienza enzimatica. L'enzima introdotto può essere un enzima ricombinante purificato prodotto *in vitro*, oppure una proteina purificata
20 da tessuto o fluido isolato, come, ad esempio, placenta o latte animale, o da piante.

[00104] Il termine "paziente vergine alla ERT" si riferisce a un paziente con malattia di Fabry che non ha mai ricevuto una ERT o non ha ricevuto una ERT per almeno 6 mesi prima dell'inizio della terapia con
25 migalastat.

[00105] Il termine "paziente già trattato con ERT" si riferisce a un paziente con malattia di Fabry che stava ricevendo una ERT immediatamente prima dell'inizio della terapia con migalastat. In alcune forme di realizzazione, il paziente già trattato con ERT ha ricevuto
5 almeno 12 mesi di ERT immediatamente prima dell'inizio della terapia con migalastat.

[00106] Secondo l'uso fattone nella presente, il termine "equivalente di base libera" o "FBE" si riferisce alla quantità di migalastat presente nel migalastat o suo sale. In altre parole, il termine "FBE"
10 significa una quantità di base libera di migalastat, o la quantità equivalente di base libera di migalastat che è fornita da un sale di migalastat. Ad esempio, a causa del peso del sale cloridrato, 150 mg di migalastat cloridrato forniscono solo tanto migalastat quanto 123 mg della forma di base libera di migalastat. Si prevede che altri sali abbiano
15 differenti fattori di conversione, a seconda del peso molecolare del sale.

[00107] Il termine "migalastat" racchiude una base libera di migalastat o un suo sale farmaceuticamente accettabile (ad esempio, migalastat HCl), se non specificamente indicato il contrario.

[00108] I termini "mutazione" e "variante" (ad esempio, come in
20 "mutazione o variante suscettibile") si riferiscono a un cambiamento nella sequenza di nucleotidi di un gene o un cromosoma. I due termini a cui si fa riferimento nella presente sono tipicamente usati insieme, ad esempio come in "mutazione o variante", riferendosi al cambiamento nella sequenza di nucleotidi indicata nella frase precedente. Se per qualche
25 ragione viene citato solo uno dei due termini, si intendeva includere il

termine mancante e ciò va inteso in tal senso. Per di più, i termini "mutazione suscettibile" e "variante suscettibile" si riferiscono a una mutazione o variante che è suscettibile alla terapia PC, ad esempio una mutazione che è suscettibile alla terapia con migalastat. Un particolare
5 tipo di mutazione o variante suscettibile è una "mutazione o variante suscettibile al saggio HEK", che è una mutazione o variante che si è stabilito essere suscettibile alla terapia con migalastat secondo i criteri nel saggio HEK *in vitro* descritto nella presente e nel brevetto statunitense n. 8,592,362.

10 **[00109]** I termini "circa" e "approssimativamente" significano generalmente un grado di errore accettabile per il quantitativo misurato data la natura o la precisione delle misurazioni. Gradi di errore esemplificativi tipici sono entro il 20 percento (%), preferibilmente entro il 10%, e, più preferibilmente, entro il 5% di un dato valore o intervallo di
15 valori. In alternativa, e in particolare nei sistemi biologici, i termini "circa" e "approssimativamente" possono significare valori che sono entro un ordine di grandezza, preferibilmente entro 10 o 5 volte, e più preferibilmente entro 2 volte un dato valore. I quantitativi numerici dati nella presente sono approssimativi, se non diversamente indicato, il che
20 significa che il termine "circa" o "approssimativamente" può essere desunto quando non indicato espressamente.

Malattia di Fabry

[00110] La malattia di Fabry è una LSD collegata all'X rara, progressiva e devastante. Mutazioni nel gene di GLA risultano in una
25 carenza dell'enzima lisosomiale, α -Gal A, che è necessario per il

metabolismo dei glicosfingolipidi. A partire dai primi anni di vita, la riduzione dell'attività di α -Gal A risulta in un accumulo di glicosfingolipidi, tra cui GL-3 e liso-Gb3 plasmatico, e porta ai sintomi e a sequele limitanti la vita della malattia di Fabry, inclusi dolore, sintomi gastrointestinali, 5 insufficienza renale, cardiomiopatia, eventi cerebrovascolari e mortalità precoce. L'inizio precoce della terapia e del trattamento permanente forniscono un'opportunità per rallentare la progressione della malattia e prolungare l'aspettativa di vita.

[00111] La malattia di Fabry racchiude uno spettro di gravità 10 della malattia ed età di esordio, sebbene sia stata tradizionalmente divisa in 2 fenotipi principali, "classico" e "a esordio tardivo". Il fenotipo classico è stato ascritto principalmente a maschi con attività bassa di α -Gal A ed esordio precoce di manifestazioni renali, cardiache e/o cerebrovascolari. Il fenotipo a esordio tardivo è stato ascritto principalmente a maschi con 15 attività di α -Gal A residua più elevata ed esordio tardivo di queste manifestazioni di malattia. Le femmine portatrici eterozigoti tipicamente esprimono il fenotipo ad esordio tardivo, ma, a seconda dello schema di inattivazione del cromosoma X, possono anche mostrare il fenotipo classico.

20 **[00112]** Sono state identificate più di 1.000 mutazioni di GLA che causano la malattia di Fabry. Approssimativamente il 60% sono mutazioni missenso, risultanti in sostituzioni di singoli amminoacidi nell'enzima di α -Gal A. Le mutazioni di GLA missenso spesso risultano nella produzione di forme ripiegate in modo anomalo e instabili di α -Gal 25 A e la maggior parte sono associate al fenotipo classico. I normali

meccanismi cellulari di controllo di qualità nel RE bloccano il transito di queste proteine anomale ai lisosomi e ne fanno il bersaglio di una degradazione ed eliminazione prematura. Molte forme mutanti missenso sono bersagli per migalastat, uno chaperone farmacologico specifico per

5 α -Gal A.

[00113] Le manifestazioni cliniche della malattia di Fabry coprono un ampio spettro di gravità e sono approssimativamente correlate ai livelli di α -GAL A residui di un paziente. La maggior parte dei pazienti attualmente trattati sono denominati pazienti con malattia di

10 Fabry classica, la maggioranza dei quali sono maschi. Questi pazienti sperimentano la malattia di vari organi, inclusi i reni, il cuore e il cervello, con sintomi della malattia che appaiono per la prima volta nell'adolescenza e che tipicamente progrediscono in gravità fino al decesso nel quarto o quinto decennio di vita. Un certo numero di studi

15 recenti suggerisce che vi è un gran numero di maschi e femmine non diagnosticati che hanno una gamma di sintomi della malattia di Fabry, come funzionalità cardiaca o renale compromessa e ictus, che solitamente appaiono per la prima volta in età adulta. Gli individui con questo tipo di malattia di Fabry, a cui si fa riferimento come malattia di

20 Fabry a esordio tardivo, tendono ad avere livelli di α -GAL A residui superiori rispetto ai pazienti con malattia di Fabry classica. Gli individui con malattia di Fabry a esordio tardivo tipicamente accusano i sintomi della malattia per la prima volta in età adulta e spesso presentano sintomi della malattia concentrati su un singolo organo, come un ingrossamento

25 del ventricolo sinistro o un'insufficienza renale progressiva. In aggiunta,

la malattia di Fabry a esordio tardivo può anche presentarsi sotto forma di ictus di causa sconosciuta.

[00114] I pazienti con Fabry presentano una compromissione renale progressiva, e i pazienti non trattati mostrano compromissione renale allo stadio terminale entro il quinto decennio di vita. La carenza nell'attività di α -Gal A porta all'accumulo di GL-3 e glicosfingolipidi correlati in molti tipi di cellule incluse le cellule nel rene. GL-3 si accumula in podociti, cellule epiteliali e cellule tubolari del tubulo distale e dell'ansa di Henle. La compromissione della funzionalità renale può manifestarsi come proteinuria e ridotto tasso di filtrazione glomerulare.

[00115] Poiché la malattia di Fabry è rara, coinvolge più organi, ha un ampio intervallo di età di esordio, ed è eterogenea, una diagnosi corretta è una sfida. La consapevolezza è bassa tra i professionisti del settore sanitario e sono frequenti diagnosi errate. La diagnosi di malattia di Fabry è più spesso confermata sulla base di attività diminuita di α -Gal A in leucociti plasmatici o periferici (WBC) una volta che un paziente è sintomatico, accoppiata ad analisi mutazionale. Nelle femmine, la diagnosi è ancora più una sfida dal momento che l'identificazione enzimatica di femmine portatrici è meno affidabile a causa di un'inattivazione del cromosoma X casuale in alcune cellule di portatori. Ad esempio, alcuni portatori obbligati (figlie di maschi classicamente colpiti) hanno attività enzimatiche di α -Gal A che variano da attività normali a molto basse. Poiché i portatori possono avere un'attività enzimatica di α -Gal A normale nei leucociti, solamente l'identificazione di una mutazione di α -Gal A mediante test genetici fornisce una precisa

identificazione e/o diagnosi del portatore.

[00116] In una o più forme di realizzazione, le forme mutanti di α -Gal A considerate suscettibili al migalastat sono definite mostranti un aumento relativo (migalastat +10 μ M) di $\geq 1,20$ volte e un aumento assoluto (migalastat +10 μ M) di $\geq 3,0\%$ rispetto al tipo selvatico (wild-type, WT) quando la forma mutante di α -Gal A è espressa in cellule HEK-293 (a cui si fa riferimento come "saggio HEK") secondo un saggio *in vitro* validato dalle buone pratiche di laboratorio (Good Laboratory Practice, GLP) (GLP HEK o saggio di suscettibilità al migalastat). Nella presente, a tali mutazioni si fa riferimento anche come mutazioni "suscettibili al saggio HEK".

[00117] Sono stati forniti metodi di screening precedenti che giudicano il potenziamento enzimatico prima dell'inizio del trattamento. Ad esempio, un saggio che usa cellule HEK-293 è stato utilizzato in sperimentazioni cliniche per prevedere se una data mutazione sarà sensibile al trattamento con chaperone farmacologico (ad esempio, migalastat). In questo saggio, vengono creati costrutti di cDNA. Le forme mutanti di α -Gal A corrispondenti sono espresse in modo transitorio in cellule HEK-293. Le cellule vengono poi incubate \pm migalastat (da 17 nM a 1 mM) per 4-5 giorni. Dopo, i livelli di α -Gal A sono misurati in lisati cellulari usando un substrato fluorogenico sintetico (4-MU- α -Gal) o mediante western blot. Questo è stato fatto per mutazioni missenso che causano malattie note o piccole mutazioni di inserzione/delezione in cornice. Le mutazioni che sono state precedentemente identificate come sensibili a un PC (ad esempio migalastat) usando questi metodi sono

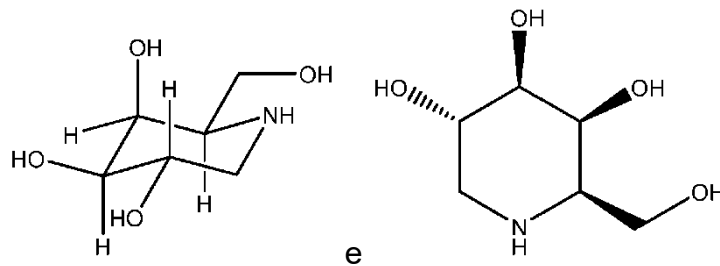
elencate nel brevetto statunitense n. 8,592,362.

Chaperoni farmacologici

[00118] Il legame di inibitori a piccola molecola di enzimi associati a LSD può aumentare la stabilità sia dell'enzima mutante sia
5 del corrispondente enzima di tipo selvatico (si vedano i brevetti statunitensi nn. 6,274,597; 6,583,158; 6,589,964; 6,599,919; 6,916,829, e 7,141,582). In particolare, la somministrazione di derivati a piccola molecola di glucosio e galattosio, che sono inibitori competitivi selettivi, specifici per svariati enzimi lisosomiali bersaglio, ha aumentato
10 efficacemente la stabilità degli enzimi nelle cellule *in vitro* e, perciò, ha aumentato il traffico degli enzimi verso il lisosoma. Perciò, aumentando la quantità di enzima nel lisosoma, si prevede che l'idrolisi dei substrati enzimatici aumenti. La teoria originale alla base di questa strategia è stata la seguente: poiché la proteina enzimatica mutante è instabile nel
15 RE (Ishii et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 1996; 220: 812-815), la proteina enzimatica viene ritardata nella via di trasporto normale (Re→apparato di Golgi→endosomi→lisosoma) e degradata prematuramente. Pertanto, un composto che si lega a, e aumenta la stabilità di, un enzima mutante, può fungere da "chaperone" per l'enzima
20 e aumentare la quantità che può uscire dal RE e spostarsi ai lisosomi. In aggiunta, poiché il ripiegamento e il traffico di alcune proteine di tipo selvatico sono incompleti, con fino al 70% di alcune proteine di tipo selvatico essendo degradate, in alcuni casi, prima di raggiungere la loro posizione cellulare finale, gli chaperone possono essere usati per
25 stabilizzare gli enzimi di tipo selvatico e aumentare la quantità di enzima

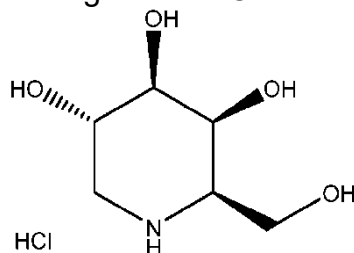
che può uscire dal RE ed essere trasferita ai lisosomi.

[00119] Lo chaperone farmacologico della presente invenzione è migalastat o un suo sale. Il composto di migalastat, noto anche come 1-deossigalattonojirimicina (1-DGJ) o (2R,3S,4R,5S)-2-5 (idrossimetil)piperidin-3,4,5-triolo è un composto avente la seguente formula chimica:



Base libera di migalastat

[00120] Come discusso qui, sali farmaceuticamente accettabili di migalastat possono anche essere usati nella presente invenzione. Quando viene usato un sale di migalastat, il dosaggio del sale sarà regolato in modo tale che la dose di migalastat ricevuta dal paziente sia equivalente alla quantità che sarebbe stata ricevuta se fosse stata usata la base libera di migalastat. Un esempio di un sale farmaceuticamente accettabile di migalastat è migalastat HCl:



Migalastat HCl

[00121] Migalastat è un imminozucchero di basso peso molecolare ed è un analogo del galattosio terminale di GL-3. Studi

B

farmacologici *in vitro* e *in vivo* hanno dimostrato che migalastat agisce come uno chaperone farmacologico, che si lega selettivamente e reversibilmente, con elevata affinità, al sito attivo di α -Gal A di tipo selvatico e a forme mutanti specifiche di α -Gal A, ai cui genotipi si fa
5 riferimento come mutazioni suscettibili al saggio HEK. Il legame a migalastat stabilizza queste forme mutanti di α -Gal A nel reticolo endoplasmatico facilitando il loro trasferimento corretto ai lisosomi, laddove la dissociazione di migalastat consente a α -Gal A di ridurre il livello di GL-3 e di altri substrati. Approssimativamente il 30-50% dei
10 pazienti con malattia di Fabry presenta mutazioni suscettibili al saggio HEK; la maggior parte delle quali è associata al fenotipo classico della malattia.

[00122] Mutazioni suscettibili al saggio HEK includono almeno quelle mutazioni elencate in una tabella farmacologica di riferimento (ad
15 esempio, quelle indicate nelle etichette di prodotto statunitense o internazionale per un prodotto a base di migalastat come GALAFOLD®). Secondo l'uso fattone nella presente, "tabella farmacologica di riferimento" si riferisce a qualsiasi documento scritto o elettronico accessibile al pubblico, incluso nell'etichetta di prodotto all'interno
20 dell'imballaggio di un prodotto a base di migalastat (ad esempio, GALAFOLD®) o su un sito web accessibile dagli operatori sanitari, che descrive se una particolare mutazione o variante è sensibile alla terapia PC con migalastat (ad esempio, GALAFOLD®) e non è necessariamente limitata a documenti scritti presentati sotto forma di tabella. In una forma
25 di realizzazione della presente invenzione, una "tabella farmacologica di

riferimento" si riferisce perciò a qualsiasi archivio di informazioni che include una o più mutazioni o varianti suscettibili. Una tabella farmacologica di riferimento esemplificativa per mutazioni suscettibili al saggio HEK può essere trovata nel sommario delle caratteristiche di prodotto e/o nelle informazioni di prescrizione per GALAFOLD® in vari paesi in cui GALAFOLD® è approvato per uso, o su un sito web come www.galafoldamenabilitytable.com o www.fabrygenevariantsearch.com.

[00123] Una tabella farmacologica di riferimento esemplificativa per mutazioni suscettibili al saggio HEK è fornita nella Tabella 1 di seguito. In una o più forme di realizzazione, se è presente una doppia mutazione sullo stesso cromosoma (maschi e femmine), quel paziente è considerato suscettibile al saggio HEK se la doppia mutazione è presente in una voce nella Tabella 1 (ad esempio, D55V/Q57L). In alcune forme di realizzazione, se una doppia mutazione è presente su cromosomi differenti (solo nelle femmine) quel paziente è considerato suscettibile al saggio HEK se una delle singole mutazioni è presente nella Tabella 1.

Tabella 1. Mutazioni suscettibili al saggio HEK

Cambiamento di nucleotidi	Cambiamento di nucleotidi	Cambiamento di sequenza proteica
c.7C>G	c.C7G	L3V
c.8T>C	c.T8C	L3P
c.[11G>T; 620A>C]	c.G11T/A620C	R4M/Y207S
c.13A>G	c.A13G	N5D
c.15C>G	c.C15G	N5K
c.16C>A	c.C16A	P6T

B

c.16C>T	c.C16T	P6S
c.17C>A	c.C17A	P6Q
c.17C>G	c.C17G	P6R
c.17C>T	c.C 17T	P6L
c.19G>A	c.G19A	E7K
c.20A>T	c.A20T	E7V
c.21A>T	c.A21T	E7D
c.22C>A	c.C22A	L8I
c.23T>A	c.T23A	L8Q
c.23T>C	c.T23C	L8P
c.25C>T	c.C25T	H9Y
c.26A>G	c.A26G	H9R
c.26A>T	c.A26T	H9L
c.27T>A	c.T27A	H9Q
c.28C>A	c.C28A	L10M
c.28C>G	c.C28G	L10V
c.29T>A	c.T29A	L10Q
c.29T>C	c.T29C	L10P
c.29T>G	c.T29G	L10R
c.31G>A	c.G31A	G11S
c.31G>C	c.G31C	G11R
c.31G>T	c.G31T	G11C
c.32G>A	c.G32A	G11D
c.32G>T	c.G32T	G11V

B

c.34T>A	c.T34A	C12S
c.34T>C	c.T34C	C12R
c.34T>G	c.T34G	C12G
c.35G>A	c.G35A	C12Y
c.37G>A	c.G37A	A13T
c.37G>C	c.G37C	A13P
c.38C>A	c.C38A	A13E
c.38C>G	c.C38G	A13G
c.40C>G	c.C40G	L14V
c.40C>T	c.C40T	L14F
c.41T>A	c.T41A	L14H
c.43G>A	c.G43A	A15T
c.44C>G	c.C44G	A15G
c.49C>A	c.C49A	R17S
c.49C>G	c.C49G	R17G
c.49C>T	c.C49T	R17C
c.50G>A	c.G50A	R17H
c.50G>C	c.G50C	R17P
c.52T>A	c.T52A	F18I
c.53T>G	c.T53G	F18C
c.54C>G	c.C54G	F18L
c.58G>C	c.G58C	A20P
c.59C>A	c.C59A	A20D
c.59C>G	c.C59G	A20G

B

c.62T>A	c.T62A	L21H
c.64G>A	c.G64A	V22I
c.64G>C	c.G64C	V22L
c.64G>T	c.G64T	V22F
c.65T>C	c.T65C	V22A
c.65T>G	c.T65G	V22G
c.67T>A	c.T67A	S23T
c.67T>C	c.T67C	S23P
c.70T>C o c.70T>A	c.T70C o c.T70A	W24R
c.70T>G	c.T70G	W24G
c.71G>C	c.G71C	W24S
c.72G>C o c.72G>T	c.G72C o c.G72T	W24C
c.73G>C	c.G73C	D25H
c.77T>A	c.T77A	I26N
c.79C>A	c.C79A	P27T
c.79C>G	c.C79G	P27A
c.79C>T	c.C79T	P27S
c.80C>T	c.C80T	P27L
c.82G>C	c.G82C	G28R
c.82G>T	c.G82T	G28W
c.83G>A	c.G83A	G28E
c.85G>C	c.G85C	A29P
c.86C>A	c.C86A	A29D
c.86C>G	c.C86G	A29G

B

c.86C>T	c.C86T	A29V
c.88A>G	c.A88G	R30G
c.94C>A	c.C94A	L32M
c.94C>G	c.C94G	L32V
c.95T>A	c.T95A	L32Q
c.95T>C	c.T95C	L32P
c.95T>G	c.T95G	L32R
c.97G>C	c.G97C	D33H
c.97G>T	c.G97T	D33Y
c.98A>C	c.A98C	D33A
c.98A>G	c.A98G	D33G
c.98A>T	c.A98T	D33V
c.99C>G	c.C99G	D33E
c.100A>C	c.A100C	N34H
c.100A>G	c.A100G	N34D
c.101A>C	c.A101C	N34T
c.101A>G	c.A101G	N34S
c.102T>G o c.102T>A	c.T102G o c.T102A	N34K
c.103G>C o c.103G>A	c.G103C o c.G103A	G35R
c.104G>A	c.G104A	G35E
c.104G>C	c.G104C	G35A
c.104G>T	c.G104T	G35V
c.106T>A	c.T106A	L36M
c.106T>G	c.T106G	L36V

B

c.107T>C	c.T107C	L36S
c.107T>G	c.T107G	L36W
c.108G>C o c.108G>T	c.G108C o c.G108T	L36F
c.109G>A	c.G109A	A37T
c.109G>T	c.G109T	A37S
c.110C>A	c.C110A	A37E
c.110C>G	c.C110G	A37G
c.110C>T	c.C110T	A37V
c.112A>G	c.A112G	R38G
c.112A>T	c.A112T	R38W
c.113G>T	c.G113T	R38M
c.114G>C	c.G114C	R38S
c.115A>G	c.A115G	T39A
c.115A>T	c.A115T	T39S
c.116C>A	c.C116A	T39K
c.116C>G	c.C116G	T39R
c.116C>T	c.C116T	T39M
c.121A>G	c.A121G	T41A
c.122C>A	c.C122A	T41N
c.122C>G	c.C 122G	T41S
c.122C>T	c.C122T	T41I
c.124A>C o c.124A>T	c.A124C o c.A124T	M42L
c.124A>G	c.A124G	M42V
c.125T>A	c.T125A	M42K

c.125T>C	c.T125C	M42T
c.125T>G	c.T125G	M42R
c.126G>A o c.126G>C o c.126G>T	c.G126A o c.G126C o c.G126T	M42I
c.128G>C	c.G128C	G43A
c.133C>A	c.C133A	L45M
c.133C>G	c.C133G	L45V
c.136C>A	c.C136A	H46N
c.136C>G	c.C136G	H46D
c.137A>C	c.A137C	H46P
c.138C>G	c.C138G	H46Q
c.142G>C	c.G142C	E48Q
c.143A>C	c.A143C	E48A
c.149T>A	c.T149A	F50Y
c.151A>G	c.A151G	M51V
c.152T>A	c.T152A	M51K
c.152T>C	c.T152C	M51T
c.152T>G	c.T152G	M51R
c.153G>A o c.153G>T o c.153G>C	c.G153A o c.G153T o c.G153C	M51I
c.157A>C	c.A157C	N53H
c.[157A>C; 158A>T]	c.A157C/A158T	N53L
c.157A>G	c.A157G	N53D
c.157 A>T	c.A157T	N53Y

B

c.158A>C	c.A158C	N53T
c.158A>G	c.A158G	N53S
c.158A>T	c.A158T	N53I
c.159C>G o c.159C>A	c.C159G o c.C159A	N53K
c.160C>G	c.C160G	L54V
c.160C>T	c.C160T	L54F
c.161T>A	c.T161A	L54H
c.161T>C	c.T161C	L54P
c.161T>G	c.T161G	L54R
c.163G>C	c.G163C	D55H
c.163G>T	c.G163T	D55Y
c.164A>C	c.A164C	D55A
c.164A>G	c.A164G	D55G
c.164A>T	c.A164T	D55V
c.[164A>T; 170A>T]	c.A164T/A170T	D55V/Q57L
c.165C>G	c.C165G	D55E
c.167G>A	c.G167A	C56Y
c.167G>T	c.G167T	C56F
c.168C>G	c.C168G	C56W
c.170A>G	c.A170G	Q57R
c.170A>T	c.A170T	Q57L
c.172G>A	c.G172A	E58K
c.175G>A	c.G175A	E59K
c.175G>C	c.G175C	E59Q

B

c.176A>C	c.A176C	E59A
c.176A>G	c.A176G	E59G
c.176A>T	c.A176T	E59V
c.177G>C	c.G177C	E59D
c.178C>A	c.C178A	P60T
c.178C>G	c.C 178G	P60A
c.178C>T	c.C178T	P60S
c.179C>A	c.C179A	P60Q
c.179C>G	c.C 179G	P60R
c.179C>T	c.C179T	P60L
c.182A>T	c.A182T	D61V
c.183T>A	c.T183A	D61E
c.184_185insTAG	c.184_185insTAG	S62delinsLA
c.184T>C	c.T184C	S62P
c.184T>G	c.T184G	S62A
c.185C>A	c.C185A	S62Y
c.185C>G	c.C185G	S62C
c.185C>T	c.C185T	S62F
c.190A>C	c.A190C	I64L
c.190A>G	c.A190G	I64V
c.193A>G	c.A193G	S65G
c.193A>T	c.A193T	S65C
c.195T>A	c.T195A	S65R
c.196G>A	c.G196A	E66K

B

c.197A>G	c.A197G	E66G
c.197A>T	c.A197T	E66V
c.198G>C	c.G198C	E66D
c.199A>C	c.A199C	K67Q
c.199A>G	c.A199G	K67E
c.200A>C	c.A200C	K67T
c.200A>T	c.A200T	K67M
c.201G>C	c.G201C	K67N
c.202C>A	c.C202A	L68I
c.205T>A	c.T205A	F69I
c.206T>A	c.T206A	F69Y
c.207C>A o c.207C>G	c.C207A o c.C207G	F69L
c.208A>T	c.A208T	M70L
c.209T>A	c.T209A	M70K
c.209T>G	c.T209G	M70R
c.210G>C	c.G210C	M70I
c.211G>C	c.G211C	E71Q
c.212A>C	c.A212C	E71A
c.212A>G	c.A212G	E71G
c.212A>T	c.A212T	E71V
c.213G>C	c.G213C	E71D
c.214A>G	c.A214G	M72V
c.214A>T	c.A214T	M72L
c.215T>C	c.T215C	M72T

B

c.216G>A o c.216G>T o c.216G>C	c.G216A o c.G216T o c.G216C	M72I
c.217G>A	c.G217A	A73T
c.217G>T	c.G217T	A73S
c.218C>T	c.C218T	A73V
c.220G>A	c.G220A	E74K
c.221A>G	c.A221G	E74G
c.221A>T	c.A221T	E74V
c.222G>C	c.G222C	E74D
c.223C>T	c.C223T	L75F
c.224T>C	c.T224C	L75P
c.226A>G	c.A226G	M76V
c.227T>C	c.T227C	M76T
c.229G>A	c.G229A	V77I
c.229G>C	c.G229C	V77L
c.232T>C	c.T232C	S78P
c.233C>T	c.C233T	S78L
c.235G>A	c.G235A	E79K
c.235G>C	c.G235C	E79Q
c.236A>C	c.A236C	E79A
c.236A>G	c.A236G	E79G
c.236A>T	c.A236T	E79V
c.237A>T	c.A237T	E79D
c.238G>A	c.G238A	G80S

B

c.238G>T	c.G238T	G80C
c.239G>A	c.G239A	G80D
c.239G>C	c.G239C	G80A
c.239G>T	c.G239T	G80V
c.242G>T	c.G242T	W81L
c.244A>G	c.A244G	K82E
c.245A>C	c.A245C	K82T
c.245A>G	c.A245G	K82R
c.245A>T	c.A245T	K82M
c.246G>C	c.G246C	K82N
c.247G>A	c.G247A	D83N
c.248A>C	c.A248C	D83A
c.248A>G	c.A248G	D83G
c.248A>T	c.A248T	D83V
c.249T>A	c.T249A	D83E
c.250G>A	c.G250A	A84T
c.250G>C	c.G250C	A84P
c.250G>T	c.G250T	A84S
c.251C>A	c.C251A	A84E
c.251C>G	c.C251G	A84G
c.251C>T	c.C251T	A84V
c.253G>A	c.G253A	G85S
c.[253G>A; 254G>A]	c.G253A/G254A	G85N

B

c.[253G>A; 254G>T; 255T>G]	c.G253A/G254T/T255 G	G85M
c.253G>C	c.G253C	G85R
c.253G>T	c.G253T	G85C
c.254G>A	c.G254A	G85D
c.254G>C	c.G254C	G85A
c.257A>T	c.A257T	Y86F
c.260A>G	c.A260G	E87G
c.261G>C o c.261G>T	c.G261C o c.G261T	E87D
c.262T>A	c.T262A	Y88N
c.262T>C	c.T262C	Y88H
c.263A>C	c.A263C	Y88S
c.263A>G	c.A263G	Y88C
c.265C>G	c.C265G	L89V
c.265C>T	c.C265T	L89F
c.271A>C	c.A271C	I91L
c.271A>T	c.A271T	I91F
c.272T>C	c.T272C	I91T
c.272T>G	c.T272G	I91S
c.273T>G	c.T273G	I91M
c.286A>G	c.A286G	M96V
c.286A>T	c.A286T	M96L
c.287T>C	c.T287C	M96T

B

c.288G>A o c.288G>T o c.288G>C	c.G288A o c.G288T o c.G288C	M96I
c.289G>A	c.G289A	A97T
c.289G>C	c.G289C	A97P
c.289G>T	c.G289T	A97S
c.290C>A	c.C290A	A97D
c.290C>T	c.C290T	A97V
c.293C>A	c.C293A	P98H
c.293C>G	c.C293G	P98R
c.293C>T	c.C293T	P98L
c.295C>G	c.C295G	Q99E
c.296A>C	c.A296C	Q99P
c.296A>G	c.A296G	Q99R
c.296A>T	c.A296T	Q99L
c.301G>C	c.G301C	D101H
c.302A>C	c.A302C	D101A
c.302A>G	c.A302G	D101G
c.302A>T	c.A302T	D101V
c.303T>A	c.T303A	D101E
c.304T>A	c.T304A	S102T
c.304T>C	c.T304C	S102P
c.304T>G	c.T304G	S102A
c.305C>T	c.C305T	S102L
c.310G>A	c.G310A	G104S

B

c.311G>A	c.G311A	G104D
c.311G>C	c.G311C	G104A
c.311G>T	c.G311T	G104V
c.313A>G	c.A313G	R105G
c.314G>A	c.G314A	R105K
c.314G>C	c.G314C	R105T
c.314G>T	c.G314T	R105I
c.316C>A	c.C316A	L106I
c.316C>G	c.C316G	L106V
c.316C>T	c.C316T	L106F
c.317T>A	c.T317A	L106H
c.317T>C	c.T317C	L106P
c.319C>A	c.C319A	Q107K
c.319C>G	c.C319G	Q107E
c.320A>G	c.A320G	Q107R
c.321G>C	c.G321C	Q107H
c.322G>A	c.G322A	A108T
c.323C>A	c.C323A	A108E
c.323C>T	c.C323T	A108V
c.325G>A	c.G325A	D109N
c.325G>C	c.G325C	D109H
c.325G>T	c.G325T	D109Y
c.326A>C	c.A326C	D109A
c.326A>G	c.A326G	D109G

B

c.327C>G	c.C327G	D109E
c.328C>A	c.C328A	P110T
c.334C>G	c.C334G	R112G
c.335G>A	c.G335A	R112H
c.335G>T	c.G335T	R112L
c.337T>A	c.T337A	F113I
c.337T>C o c.339T>A o c.339T>G	c.T337C o c.T339A o c.T339G	F113L
c.337T>G	c.T337G	F113V
c.338T>A	c.T338A	F113Y
c.341C>T	c.C341T	P114L
c.343C>A	c.C343A	H115N
c.343C>G	c.C343G	H115D
c.346G>C	c.G346C	G116R
c.350T>C	c.T350C	I117T
c.351T>G	c.T351G	I117M
c.352C>T	c.C352T	R118C
c.361G>A	c.G361A	A121T
c.362C>T	c.C362T	A121V
c.367T>A	c.T367A	Y123N
c.367T>G	c.T367G	Y123D
c.368A>C	c.A368C	Y123S
c.368A>G	c.A368G	Y123C
c.368A>T	c.A368T	Y123F

c.370G>A	c.G370A	V124I
c.371T>G	c.T371G	V124G
c.373C>A	c.C373A	H125N
c.373C>G	c.C373G	H125D
c.373C>T	c.C373T	H125Y
c.374A>G	c.A374G	H125R
c.374A>T	c.A374T	H125L
c.376A>G	c.A376G	S126G
c.376A>T	c.A376T	S126C
c.377G>T	c.G377T	S126I
c.379A>G	c.A379G	K127E
c.383G>A	c.G383A	G128E
c.383G>C	c.G383C	G128A
c.385C>G	c.C385G	L129V
c.388A>C	c.A388C	K130Q
c.389A>T	c.A389T	K130M
c.390G>C	c.G390C	K130N
c.391C>G	c.C391G	L131V
c.397A>C	c.A397C	I133L
c.397A>G	c.A397G	I133V
c.397A>T	c.A397T	I133F
c.398T>C	c.T398C	I133T
c.399T>G	c.T399G	I133M
c.[399T>G; 434T>C]	c.T399G/T434C	I133M/F145S

B

c.403G>A	c.G403A	A135T
c.403G>T	c.G403T	A135S
c.404C>A	c.C404A	A135E
c.404C>G	c.C404G	A135G
c.404C>T	c.C404T	A135V
c.406G>A	c.G406A	D136N
c.407A>C	c.A407C	D136A
c.407A>T	c.A407T	D136V
c.408T>A o c.408T>G	c.T408A o c.T408G	D136E
c.409G>A	c.G409A	V137I
c.409G>C	c.G409C	V137L
c.410T>A	c.T410A	V137D
c.410T>C	c.T410C	V137A
c.410T>G	c.T410G	V137G
c.413G>C	c.G413C	G138A
c.415A>C	c.A415C	N139H
c.415A>T	c.A415T	N139Y
c.416A>G	c.A416G	N139S
c.416A>T	c.A416T	N139I
c.417T>A	c.T417A	N139K
c.418A>C	c.A418C	K140Q
c.418A>G	c.A418G	K140E
c.419A>C	c.A419C	K140T
c.419A>G	c.A419G	K140R

B

c.419A>T	c.A419T	K140I
c.420A>T	c.A420T	K140N
c.421A>T	c.A421T	T141S
c.427G>A	c.G427A	A143T
c.428C>A	c.C428A	A143E
c.428C>G	c.C428G	A143G
c.428C>T	c.C428T	A143V
c.430G>A	c.G430A	G144S
c.430G>C	c.G430C	G144R
c.430G>T	c.G430T	G144C
c.431G>A	c.G431A	G144D
c.431G>C	c.G431C	G144A
c.431G>T	c.G431T	G144V
c.433T>G	c.T433G	F145V
c.434T>A	c.T434A	F145Y
c.434T>C	c.T434C	F145S
c.434T>G	c.T434G	F145C
c.435C>G	c.C435G	F145L
c.436C>A	c.C436A	P146T
c.436C>G	c.C436G	P146A
c.436C>T	c.C436T	P146S
c.437C>A	c.C437A	P146H
c.437C>G	c.C437G	P146R
c.437C>T	c.C437T	P146L

B

c.440G>C	c.G440C	G147A
c.442A>G	c.A442G	S148G
c.442A>T	c.A442T	S148C
c.443G>C	c.G443C	S148T
c.446T>G	c.T446G	F149C
c.449G>A	c.G449A	G150E
c.449G>T	c.G449T	G150V
c.451T>G	c.T451G	Y151D
c.452A>C	c.A452C	Y151S
c.452A>G	c.A452G	Y151C
c.454T>A	c.T454A	Y152N
c.454T>C	c.T454C	Y152H
c.454T>G	c.T454G	Y152D
c.455A>C	c.A455C	Y152S
c.455A>G	c.A455G	Y152C
c.455A>T	c.A455T	Y152F
c.457G>A	c.G457A	D153N
c.457G>C	c.G457C	D153H
c.457G>T	c.G457T	D153Y
c.458A>C	c.A458C	D153A
c.458A>T	c.A458T	D153V
c.465T>A o c.465T>G	c.T465A o c.T465G	D155E
c.466G>A	c.G466A	A156T
c.466G>T	c.G466T	A156S

B

c.467C>G	c.C467G	A156G
c.467C>T	c.C467T	A156V
c.469C>A	c.C469A	Q157K
c.469C>G	c.C469G	Q157E
c.470A>C	c.A470C	Q157P
c.470A>T	c.A470T	Q157L
c.471G>C o c.471G>T	c.G471C o c.G471T	Q157H
c.472A>G	c.A472G	T158A
c.472A>T	c.A472T	T158S
c.473C>A	c.C473A	T158N
c.473C>T	c.C473T	T158I
c.475T>A	c.T475A	F159I
c.475T>G	c.T475G	F159V
c.476T>A	c.T476A	F159Y
c.476T>G	c.T476G	F159C
c.477T>A	c.T477A	F159L
c.478G>A	c.G478A	A160T
c.478G>T	c.G478T	A160S
c.479C>A	c.C479A	A160D
c.479C>G	c.C479G	A160G
c.479C>T	c.C479T	A160V
c.481G>A	c.G481A	D161N
c.481G>C	c.G481C	D161H
c.481G>T	c.G481T	D161Y

B

c.482A>T	c.A482T	D161V
c.484T>G	c.T484G	W162G
c.485G>C	c.G485C	W162S
c.490G>A	c.G490A	V164I
c.490G>T	c.G490T	V164L
c.491T>C	c.T491C	V164A
c.493G>A	c.G493A	D165N
c.493G>C	c.G493C	D165H
c.494A>C	c.A494C	D165A
c.494A>G	c.A494G	D165G
c.495T>A	c.T495A	D165E
c.496_497delinsTC	c.496_497delinsTC	L166S
c.496C>A	c.C496A	L166M
c.496C>G	c.C496G	L166V
c.[496C>G; 497T>G]	c.C496G/T497G	L166G
c.497T>A	c.T497A	L166Q
c.499C>A	c.C499A	L167I
c.499C>G	c.C499G	L167V
c.505T>A	c.T505A	F169I
c.505T>G	c.T505G	F169V
c.506T>A	c.T506A	F169Y
c.506T>C	c.T506C	F169S
c.506T>G	c.T506G	F169C
c.507T>A	c.T507A	F169L

B

c.511G>A	c.G511A	G171S
c.512G>C	c.G512C	G171A
c.512G>T	c.G512T	G171V
c.517T>C	c.T517C	Y173H
c.518A>C	c.A518C	Y173S
c.518A>G	c.A518G	Y173C
c.518A>T	c.A518T	Y173F
c.520T>C	c.T520C	C174R
c.520T>G	c.T520G	C174G
c.523G>C	c.G523C	D175H
c.523G>T	c.G523T	D175Y
c.524A>G	c.A524G	D175G
c.524A>T	c.A524T	D175V
c.525C>G o c.525C>A	c.C525G o c.C525A	D175E
c.526A>T	c.A526T	S176C
c.528T>A	c.T528A	S176R
c.529T>A	c.T529A	L177M
c.529T>G	c.T529G	L177V
c.530T>C	c.T530C	L177S
c.530T>G	c.T530G	L177W
c.531G>C	c.G531C	L177F
c.532G>A	c.G532A	E178K
c.532G>C	c.G532C	E178Q
c.533A>C	c.A533C	E178A

B

c.533A>G	c.A533G	E178G
c.538T>A	c.T538A	L180M
c.538T>G	c.T538G	L180V
c.539T>C	c.T539C	L180S
c.539T>G	c.T539G	L180W
c.540G>C o c.540G>T	c.G540C o c.G540T	L180F
c.541G>A	c.G541A	A181T
c.541G>C	c.G541C	A181P
c.542C>T	c.C542T	A181V
c.544G>T	c.G544T	D182Y
c.545A>C	c.A545C	D182A
c.545A>G	c.A545G	D182G
c.545A>T	c.A545T	D182V
c.546T>A	c.T546A	D182E
c.548G>A	c.G548A	G183D
c.548G>C	c.G548C	G183A
c.550T>A	c.T550A	Y184N
c.550T>C	c.T550C	Y184H
c.551A>C	c.A551C	Y184S
c.551A>G	c.A551G	Y184C
c.551A>T	c.A551T	Y184F
c.553A>C	c.A553C	K185Q
c.553A>G	c.A553G	K185E
c.554A>C	c.A554C	K185T

B

c.554A>T	c.A554T	K185M
c.555G>C	c.G555C	K185N
c.556C>A	c.C556A	H186N
c.556C>G	c.C556G	H186D
c.556C>T	c.C556T	H186Y
c.557A>T	c.A557T	H186L
c.558C>G	c.C558G	H186Q
c.559_564dup	c.559_564dup	p.M187_S188dup
c.559A>T	c.A559T	M187L
c.559A>G	c.A559G	M187V
c.560T>C	c.T560C	M187T
c.561G>T o c.561G>A o c.561G>C	c.G561T o c.G561A o c.G561C	M187I
c.562T>A	c.T562A	S188T
c.562T>C	c.T562C	S188P
c.562T>G	c.T562G	S188A
c.563C>A	c.C563A	S188Y
c.563C>G	c.C563G	S188C
c.563C>T	c.C563T	S188F
c.565T>G	c.T565G	L189V
c.566T>C	c.T566C	L189S
c.567G>C o c.567G>T	c.G567C o c.G567T	L189F
c.568G>A	c.G568A	A190T
c.568G>T	c.G568T	A190S

B

c.569C>A	c.C569A	A190D
c.569C>G	c.C569G	A190G
c.569C>T	c.C569T	A190V
c.571C>A	c.C571A	L191M
c.571C>G	c.C571G	L191V
c.572T>A	c.T572A	L191Q
c.574A>C	c.A574C	N192H
c.574A>G	c.A574G	N192D
c.575A>C	c.A575C	N192T
c.575A>G	c.A575G	N192S
c.576T>A	c.T576A	N192K
c.577A>G	c.A577G	R193G
c.577A>T	c.A577T	R193W
c.578G>C	c.G578C	R193T
c.578G>T	c.G578T	R193M
c.580A>C	c.A580C	T194P
c.580A>G	c.A580G	T194A
c.580A>T o c.581C>G	c.A580T o c.C581G	T194S
c.581C>A	c.C581A	T194N
c.581C>T	c.C581T	T194I
c.583G>A	c.G583A	G195S
c.583G>C	c.G583C	G195R
c.583G>T	c.G583T	G195C
c.584G>T	c.G584T	G195V

B

c.586A>G	c.A586G	R196G
c.587G>A	c.G587A	R196K
c.587G>C	c.G587C	R196T
c.587G>T	c.G587T	R196I
c.589A>G	c.A589G	S197G
c.589A>T	c.A589T	S197C
c.590G>A	c.G590A	S197N
c.590G>C	c.G590C	S197T
c.590G>T	c.G590T	S197I
c.593T>C	c.T593C	I198T
c.593T>G	c.T593G	I198S
c.594T>G	c.T594G	I198M
c.595G>A	c.G595A	V199M
c.595G>C	c.G595C	V199L
c.596T>A	c.T596A	V199E
c.596T>C	c.T596C	V199A
c.596T>G	c.T596G	V199G
c.598T>A	c.T598A	Y200N
c.599A>C	c.A599C	Y200S
c.599A>G	c.A599G	Y200C
c.601T>A	c.T601A	S201T
c.601T>G	c.T601G	S201A
c.602C>A	c.C602A	S201Y
c.602C>G	c.C602G	S201C

B

c.602C>T	c.C602T	S201F
c.607G>C	c.G607C	E203Q
c.608A>C	c.A608C	E203A
c.608A>G	c.A608G	E203G
c.608A>T	c.A608T	E203V
c.609G>C o c.609G>T	c.G609C o c.G609T	E203D
c.610T>G	c.T610G	W204G
c.611G>C	c.G611C	W204S
c.611G>T	c.G611T	W204L
c.613C>A	c.C613A	P205T
c.613C>T	c.C613T	P205S
c.614C>T	c.C614T	P205L
c.616C>A	c.C616A	L206I
c.616C>G	c.C616G	L206V
c.616C>T	c.C616T	L206F
c.617T>A	c.T617A	L206H
c.617T>G	c.T617G	L206R
c.619T>C	c.T619C	Y207H
c.620A>C	c.A620C	Y207S
c.620A>T	c.A620T	Y207F
c.623T>A	c.T623A	M208K
c.623T>G	c.T623G	M208R
c.625T>A	c.T625A	W209R
c.625T>G	c.T625G	W209G

B

c.627G>C	c.G627C	W209C
c.628C>A	c.C628A	P210T
c.628C>T	c.C628T	P210S
c.629C>A	c.C629A	P210H
c.629C>T	c.C629T	P210L
c.631T>C	c.T631C	F211L
c.631T>G	c.T631G	F211V
c.632T>A	c.T632A	F211Y
c.632T>C	c.T632C	F211S
c.632T>G	c.T632G	F211C
c.635A>C	c.A635C	Q212P
c.636A>T	c.A636T	Q212H
c.637A>C	c.A637C	K213Q
c.637A>G	c.A637G	K213E
c.638A>G	c.A638G	K213R
c.638A>T	c.A638T	K213M
c.640C>A	c.C640A	P214T
c.640C>G	c.C640G	P214A
c.640C>T	c.C640T	P214S
c.641C>A	c.C641A	P214H
c.641C>G	c.C641G	P214R
c.641C>T	c.C641T	P214L
c.643A>C	c.A643C	N215H
c.643A>G	c.A643G	N215D

B

c.643A>T	c.A643T	N215Y
c.644A>C	c.A644C	N215T
c.644A>G	c.A644G	N215S
c.[644A>G; 937G>T]	c.A644G/G937T	N215S/D313Y
c.644A>T	c.A644T	N215I
c.645T>A	c.T645A	N215K
c.646T>A	c.T646A	Y216N
c.646T>C	c.T646C	Y216H
c.646T>G	c.T646G	Y216D
c.647A>C	c.A647C	Y216S
c.647A>G	c.A647G	Y216C
c.647A>T	c.A647T	Y216F
c.649A>C	c.A649C	T217P
c.649A>G	c.A649G	T217A
c.649A>T	c.A649T	T217S
c.650C>A	c.C650A	T217K
c.650C>G	c.C650G	T217R
c.650C>T	c.C650T	T217I
c.652G>A	c.G652A	E218K
c.652G>C	c.G652C	E218Q
c.653A>C	c.A653C	E218A
c.653A>G	c.A653G	E218G
c.653A>T	c.A653T	E218V
c.654A>T	c.A654T	E218D

B

c.655A>C	c.A655C	I219L
c.655A>T	c.A655T	I219F
c.656T>A	c.T656A	I219N
c.656T>C	c.T656C	I219T
c.656T>G	c.T656G	I219S
c.657C>G	c.C657G	I219M
c.659G>A	c.G659A	R220Q
c.659G>C	c.G659C	R220P
c.659G>T	c.G659T	R220L
c.661C>A	c.C661A	Q221K
c.661C>G	c.C661G	Q221E
c.662A>C	c.A662C	Q221P
c.662A>G	c.A662G	Q221R
c.662A>T	c.A662T	Q221L
c.663G>C	c.G663C	Q221H
c.664T>A	c.T664A	Y222N
c.664T>C	c.T664C	Y222H
c.664T>G	c.T664G	Y222D
c.665A>C	c.A665C	Y222S
c.665A>G	c.A665G	Y222C
c.670A>C	c.A670C	N224H
c.671A>C	c.A671C	N224T
c.671A>G	c.A671G	N224S
c.673C>G	c.C673G	H225D

c.679C>G	c.C679G	R227G
c.682A>C	c.A682C	N228H
c.682A>G	c.A682G	N228D
c.683A>C	c.A683C	N228T
c.683A>G	c.A683G	N228S
c.683A>T	c.A683T	N228I
c.685T>A	c.T685A	F229I
c.686T>A	c.T686A	F229Y
c.686T>C	c.T686C	F229S
c.687T>A o c.687T>G	c.T687A o c.T687G	F229L
c.688G>C	c.G688C	A230P
c.689C>A	c.C689A	A230D
c.689C>G	c.C689G	A230G
c.689C>T	c.C689T	A230V
c.694A>C	c.A694C	I232L
c.694A>G	c.A694G	I232V
c.695T>C	c.T695C	I232T
c.696T>G	c.T696G	I232M
c.698A>C	c.A698C	D233A
c.698A>G	c.A698G	D233G
c.698A>T	c.A698T	D233V
c.699T>A	c.T699A	D233E
c.703T>A	c.T703A	S235T
c.703T>G	c.T703G	S235A

B

c.710A>T	c.A710T	K237I
c.712A>G	c.A712G	S238G
c.712A>T	c.A712T	S238C
c.713G>A	c.G713A	S238N
c.713G>C	c.G713C	S238T
c.713G>T	c.G713T	S238I
c.715A>T	c.A715T	I239L
c.716T>C	c.T716C	I239T
c.717A>G	c.A717G	I239M
c.718A>G	c.A718G	K240E
c.719A>G	c.A719G	K240R
c.719A>T	c.A719T	K240M
c.720G>C o c.720G>T	c.G720C o c.G720T	K240N
c.721A>T	c.A721T	S241C
c.722G>C	c.G722C	S241T
c.722G>T	c.G722T	S241I
c.724A>C	c.A724C	I242L
c.724A>G	c.A724G	I242V
c.724A>T	c.A724T	I242F
c.725T>A	c.T725A	I242N
c.725T>C	c.T725C	I242T
c.725T>G	c.T725G	I242S
c.726C>G	c.C726G	I242M
c.727T>A	c.T727A	L243M

B

c.727T>G	c.T727G	L243V
c.728T>C	c.T728C	L243S
c.728T>G	c.T728G	L243W
c.729G>C o c.729G>T	c.G729C o c.G729T	L243F
c.730G>A	c.G730A	D244N
c.730G>C	c.G730C	D244H
c.730G>T	c.G730T	D244Y
c.731A>C	c.A731C	D244A
c.731A>G	c.A731G	D244G
c.731A>T	c.A731T	D244V
c.732C>G	c.C732G	D244E
c.733T>G	c.T733G	W245G
c.735G>C	c.G735C	W245C
c.736A>G	c.A736G	T246A
c.737C>A	c.C737A	T246K
c.737C>G	c.C737G	T246R
c.737C>T	c.C737T	T246I
c.739T>A	c.T739A	S247T
c.739T>G	c.T739G	S247A
c.740C>A	c.C740A	S247Y
c.740C>G	c.C740G	S247C
c.740C>T	c.C740T	S247F
c.742T>G	c.T742G	F248V
c.743T>A	c.T743A	F248Y

B

c.743T>G	c.T743G	F248C
c.744T>A	c.T744A	F248L
c.745A>C	c.A745C	N249H
c.745A>G	c.A745G	N249D
c.745A>T	c.A745T	N249Y
c.746A>C	c.A746C	N249T
c.746A>G	c.A746G	N249S
c.746A>T	c.A746T	N249I
c.747C>G o c.747C>A	c.C747G o c.C747A	N249K
c.748C>A	c.C748A	Q250K
c.748C>G	c.C748G	Q250E
c.749A>C	c.A749C	Q250P
c.749A>G	c.A749G	Q250R
c.749A>T	c.A749T	Q250L
c.750G>C	c.G750C	Q250H
c.751G>A	c.G751A	E251K
c.751G>C	c.G751C	E251Q
c.752A>G	c.A752G	E251G
c.752A>T	c.A752T	E251V
c.754A>G	c.A754G	R252G
c.757A>G	c.A757G	I253V
c.757A>T	c.A757T	I253F
c.758T>A	c.T758A	I253N
c.758T>C	c.T758C	I253T

B

c.758T>G	c.T758G	I253S
c.760-762delGTT o c.761-763del	c.760_762delGTT o c.761_763del	p.V254del
c.760G>T	c.G760T	V254F
c.761T>A	c.T761A	V254D
c.761T>C	c.T761C	V254A
c.761T>G	c.T761G	V254G
c.763G>A	c.G763A	D255N
c.763G>C	c.G763C	D255H
c.763G>T	c.G763T	D255Y
c.764A>C	c.A764C	D255A
c.764A>T	c.A764T	D255V
c.765T>A	c.T765A	D255E
c.766G>C	c.G766C	V256L
c.767T>A	c.T767A	V256D
c.767T>G	c.T767G	V256G
c.769G>A	c.G769A	A257T
c.769G>C	c.G769C	A257P
c.769G>T	c.G769T	A257S
c.770C>G	c.C770G	A257G
c.770C>T	c.C770T	A257V
c.772G>C o c.772G>A	c.G772C o c.G772A	G258R
c.773G>A	c.G773A	G258E
c.773G>T	c.G773T	G258V

B

c.775C>A	c.C775A	P259T
c.775C>G	c.C775G	P259A
c.775C>T	c.C775T	P259S
c.776C>A	c.C776A	P259Q
c.776C>G	c.C776G	P259R
c.776C>T	c.C776T	P259L
c.778G>T	c.G778T	G260W
c.779G>A	c.G779A	G260E
c.779G>C	c.G779C	G260A
c.781G>A	c.G781A	G261S
c.781G>C	c.G781C	G261R
c.781G>T	c.G781T	G261C
c.782G>C	c.G782C	G261A
c.787A>C	c.A787C	N263H
c.788A>C	c.A788C	N263T
c.788A>G	c.A788G	N263S
c.790G>A	c.G790A	D264N
c.790G>C	c.G790C	D264H
c.790G>T	c.G790T	D264Y
c.793C>G	c.C793G	P265A
c.794C>A	c.C794A	P265Q
c.794C>T	c.C794T	P265L
c.799A>G	c.A799G	M267V
c.799A>T	c.A799T	M267L

B

c.800T>C	c.T800C	M267T
c.802T>A	c.T802A	L268I
c.804A>T	c.A804T	L268F
c.805G>A	c.G805A	V269M
c.805G>C	c.G805C	V269L
c.806T>C	c.T806C	V269A
c.808A>C	c.A808C	I270L
c.808A>G	c.A808G	I270V
c.809T>C	c.T809C	I270T
c.809T>G	c.T809G	I270S
c.810T>G	c.T810G	I270M
c.811G>A	c.G811A	G271S
c.[811G>A; 937G>T]	c.G811A/G937T	G271S/D313Y
c.812G>A	c.G812A	G271D
c.812G>C	c.G812C	G271A
c.814A>G	c.A814G	N272D
c.818T>A	c.T818A	F273Y
c.823C>A	c.C823A	L275I
c.823C>G	c.C823G	L275V
c.827G>A	c.G827A	S276N
c.827G>C	c.G827C	S276T
c.829T>G	c.T829G	W277G
c.830G>T	c.G830T	W277L
c.831G>T o c.831G>C	c.G831T o c.G831C	W277C

B

c.832A>T	c.A832T	N278Y
c.833A>T	c.A833T	N278I
c.835C>G	c.C835G	Q279E
c.838C>A	c.C838A	Q280K
c.839A>G	c.A839G	Q280R
c.839A>T	c.A839T	Q280L
c.840A>T o c.840A>C	c.A840T o c.A840C	Q280H
c.841G>C	c.G841C	V281L
c.842T>A	c.T842A	V281E
c.842T>C	c.T842C	V281A
c.842T>G	c.T842G	V281G
c.844A>G	c.A844G	T282A
c.844A>T	c.A844T	T282S
c.845C>T	c.C845T	T282I
c.847C>G	c.C847G	Q283E
c.848A>T	c.A848T	Q283L
c.849G>C	c.G849C	Q283H
c.850A>G	c.A850G	M284V
c.850A>T	c.A850T	M284L
c.851T>C	c.T851C	M284T
c.852G>C	c.G852C	M284I
c.853G>A	c.G853A	A285T
c.854C>G	c.C854G	A285G
c.854C>T	c.C854T	A285V

B

c.856C>G	c.C856G	L286V
c.856C>T	c.C856T	L286F
c.857T>A	c.T857A	L286H
c.860G>T	c.G860T	W287L
c.862G>C	c.G862C	A288P
c.862G>T	c.G862T	A288S
c.863C>G	c.C863G	A288G
c.863C>T	c.C863T	A288V
c.865A>C	c.A865C	I289L
c.865A>G	c.A865G	I289V
c.866T>C	c.T866C	I289T
c.866T>G	c.T866G	I289S
c.868A>C o c.868A>T	c.A868C o c.A868T	M290L
c.868A>G	c.A868G	M290V
c.869T>C	c.T869C	M290T
c.870G>A o c.870G>C o c.870G>T	c.G870A o c.G870C o c.G870T	M290I
c.871G>A	c.G871A	A291T
c.871G>T	c.G871T	A291S
c.872C>G	c.C872G	A291G
c.874G>T	c.G874T	A292S
c.875C>G	c.C875G	A292G
c.877C>A	c.C877A	P293T
c.880T>A	c.T880A	L294I

B

c.880T>G	c.T880G	L294V
c.881T>C	c.T881C	L294S
c.882A>T	c.A882T	L294F
c.883T>A	c.T883A	F295I
c.883T>G	c.T883G	F295V
c.884T>A	c.T884A	F295Y
c.884T>C	c.T884C	F295S
c.884T>G	c.T884G	F295C
c.886A>G	c.A886G	M296V
c.886A>T o c.886A>C	c.A886T o c.A886C	M296L
c.887T>C	c.T887C	M296T
c.888G>A o c.888G>T o c.888G>C	c.G888A o c.G888T o c.G888C	M296I
c.889T>A	c.T889A	S297T
c.892A>G	c.A892G	N298D
c.893A>C	c.A893C	N298T
c.893A>G	c.A893G	N298S
c.893A>T	c.A893T	N298I
c.895G>A	c.G895A	D299N
c.895G>C	c.G895C	D299H
c.897C>G o c.897C>A	c.C897G o c.C897A	D299E
c.898C>A	c.C898A	L300I
c.898C>G	c.C898G	L300V
c.898C>T	c.C898T	L300F

B

c.899T>C	c.T899C	L300P
c.901C>G	c.C901G	R301G
c.902G>A	c.G902A	R301Q
c.902G>C	c.G902C	R301P
c.902G>T	c.G902T	R301L
c.904C>A	c.C904A	H302N
c.904C>G	c.C904G	H302D
c.904C>T	c.C904T	H302Y
c.905A>T	c.A905T	H302L
c.907A>G	c.A907G	I303V
c.907A>T	c.A907T	I303F
c.908T>A	c.T908A	I303N
c.908T>C	c.T908C	I303T
c.908T>G	c.T908G	I303S
c.911G>A	c.G911A	S304N
c.911G>C	c.G911C	S304T
c.911G>T	c.G911T	S304I
c.916C>G	c.C916G	Q306E
c.917A>C	c.A917C	Q306P
c.917A>T	c.A917T	Q306L
c.919G>A	c.G919A	A307T
c.919G>C	c.G919C	A307P
c.919G>T	c.G919T	A307S
c.920C>A	c.C920A	A307D

B

c.920C>G	c.C920G	A307G
c.920C>T	c.C920T	A307V
c.922A>C	c.A922C	K308Q
c.922A>G	c.A922G	K308E
c.923A>G	c.A923G	K308R
c.923A>T	c.A923T	K308I
c.924A>T o c.924A>C	c.A924T o c.A924C	K308N
c.925G>A	c.G925A	A309T
c.925G>C	c.G925C	A309P
c.926C>A	c.C926A	A309D
c.926C>T	c.C926T	A309V
c.928C>A	c.C928A	L310I
c.928C>G	c.C928G	L310V
c.928C>T	c.C928T	L310F
c.931C>A	c.C931A	L311I
c.931C>G	c.C931G	L311V
c.934C>A	c.C934A	Q312K
c.934C>G	c.C934G	Q312E
c.935A>G	c.A935G	Q312R
c.935A>T	c.A935T	Q312L
c.936G>T o c.936G>C	c.G936T o c.G936C	Q312H
c.937G>T	c.G937T	D313Y
c.[937G>T; 1232G>A]	c.G937T/G1232A	D313Y/G411D
c.938A>G	c.A938G	D313G

B

c.938A>T	c.A938T	D313V
c.939T>A	c.T939A	D313E
c.940A>G	c.A940G	K314E
c.941A>C	c.A941C	K314T
c.941A>T	c.A941T	K314M
c.942G>C	c.G942C	K314N
c.943G>A	c.G943A	D315N
c.943G>C	c.G943C	D315H
c.943G>T	c.G943T	D315Y
c.944A>C	c.A944C	D315A
c.944A>G	c.A944G	D315G
c.944A>T	c.A944T	D315V
c.946G>A	c.G946A	V316I
c.946G>C	c.G946C	V316L
c.947T>C	c.T947C	V316A
c.947T>G	c.T947G	V316G
c.949A>C	c.A949C	I317L
c.949A>G	c.A949G	I317V
c.950T>C	c.T950C	I317T
c.951T>G	c.T951G	I317M
c.952G>A	c.G952A	A318T
c.952G>C	c.G952C	A318P
c.953C>A	c.C953A	A318D
c.953C>T	c.C953T	A318V

B

c.955A>T	c.A955T	I319F
c.956T>C	c.T956C	I319T
c.957C>G	c.C957G	I319M
c.958A>C	c.A958C	N320H
c.959A>C	c.A959C	N320T
c.959A>G	c.A959G	N320S
c.959A>T	c.A959T	N320I
c.961C>A	c.C961A	Q321K
c.962A>G	c.A962G	Q321R
c.962A>T	c.A962T	Q321L
c.963G>C o c.963G>T	c.G963C o c.G963T	Q321H
c.964G>A	c.G964A	D322N
c.964G>C	c.G964C	D322H
c.965A>C	c.A965C	D322A
c.965A>T	c.A965T	D322V
c.966C>A o c.966C>G	c.C966A o c.C966G	D322E
c.967C>A	c.C967A	P323T
c.968C>G	c.C968G	P323R
c.970T>G	c.T970G	L324V
c.971T>G	c.T971G	L324W
c.973G>A	c.G973A	G325S
c.973G>C	c.G973C	G325R
c.973G>T	c.G973T	G325C
c.974G>C	c.G974C	G325A

B

c.974G>T	c.G974T	G325V
c.976A>C	c.A976C	K326Q
c.976A>G	c.A976G	K326E
c.977A>C	c.A977C	K326T
c.977A>G	c.A977G	K326R
c.977A>T	c.A977T	K326M
c.978G>C o c.978G>T	c.G978C o c.G978T	K326N
c.979C>G	c.C979G	Q327E
c.980A>C	c.A980C	Q327P
c.980A>T	c.A980T	Q327L
c.981A>T	c.A981T	Q327H
c.983G>C	c.G983C	G328A
c.985T>A	c.T985A	Y329N
c.985T>C	c.T985C	Y329H
c.985T>G	c.T985G	Y329D
c.986A>G	c.A986G	Y329C
c.986A>T	c.A986T	Y329F
c.988C>A	c.C988A	Q330K
c.988C>G	c.C988G	Q330E
c.989A>C	c.A989C	Q330P
c.989A>G	c.A989G	Q330R
c.990G>C	c.G990C	Q330H
c.991C>G	c.C991G	L331V
c.992T>A	c.T992A	L331H

B

c.992T>C	c.T992C	L331P
c.992T>G	c.T992G	L331R
c.994A>G	c.A994G	R332G
c.995G>C	c.G995C	R332T
c.995G>T	c.G995T	R332I
c.996A>T	c.A996T	R332S
c.997C>G	c.C997G	Q333E
c.998A>C	c.A998C	Q333P
c.998A>T	c.A998T	Q333L
c.1000G>C	c.G1000C	G334R
c.1001G>A	c.G1001A	G334E
c.1001G>T	c.G1001T	G334V
c.1003G>T	c.G1003T	D335Y
c.1004A>C	c.A1004C	D335A
c.1004A>G	c.A1004G	D335G
c.1004A>T	c.A1004T	D335V
c.1005C>G	c.C1005G	D335E
c.1006A>G	c.A1006G	N336D
c.1006A>T	c.A1006T	N336Y
c.1007A>C	c.A1007C	N336T
c.1007A>G	c.A1007G	N336S
c.1007A>T	c.A1007T	N336I
c.1009T>G	c.T1009G	F337V
c.1010T>A	c.T1010A	F337Y

B

c.1010T>C	c.T1010C	F337S
c.1010T>G	c.T1010G	F337C
c.1011T>A	c.T1011A	F337L
c.1012G>A	c.G1012A	E338K
c.1013A>C	c.A1013C	E338A
c.1013A>G	c.A1013G	E338G
c.1013A>T	c.A1013T	E338V
c.1014A>T	c.A1014T	E338D
c.1015G>A	c.G1015A	V339M
c.1016T>A	c.T1016A	V339E
c.1016T>C	c.T1016C	V339A
c.1021G>C	c.G1021C	E341Q
c.1022A>C	c.A1022C	E341A
c.1027C>A	c.C1027A	P343T
c.1027C>G	c.C1027G	P343A
c.1027C>T	c.C1027T	P343S
c.1028C>T	c.C 1028T	P343L
c.1030C>G	c.C1030G	L344V
c.1030C>T	c.C1030T	L344F
c.1031T>G	c.T1031G	L344R
c.1033T>C	c.T1033C	S345P
c.1036G>T	c.G1036T	G346C
c.1037G>A	c.G1037A	G346D
c.1037G>C	c.G1037C	G346A

B

c.1037G>T	c.G1037T	G346V
c.1039T>A	c.T1039A	L347I
c.1043C>A	c.C1043A	A348D
c.1046G>C	c.G1046C	W349S
c.1046G>T	c.G1046T	W349L
c.1047G>C	c.G1047C	W349C
c.1048G>A	c.G1048A	A350T
c.1048G>T	c.G1048T	A350S
c.1049C>G	c.C1049G	A350G
c.1049C>T	c.C1049T	A350V
c.1052T>A	c.T1052A	V351E
c.1052T>C	c.T1052C	V351A
c.1054G>A	c.G1054A	A352T
c.1054G>T	c.G1054T	A352S
c.1055C>G	c.C1055G	A352G
c.1055C>T	c.C1055T	A352V
c.1057A>T	c.A1057T	M353L
c.1058T>A	c.T1058A	M353K
c.1058T>C	c.T1058C	M353T
c.1061T>A	c.T1061A	I354K
c.1061T>G	c.T1061G	I354R
c.1063A>C	c.A1063C	N355H
c.1063A>G	c.A1063G	N355D
c.1063A>T	c.A1063T	N355Y

B

c.1064A>G	c.A1064G	N355S
c.1066C>G	c.C1066G	R356G
c.1066C>T	c.C 1066T	R356W
c.1067G>A	c.G1067A	R356Q
c.1067G>C	c.G1067C	R356P
c.1067G>T	c.G1067T	R356L
c.1069C>G	c.C1069G	Q357E
c.1072G>C	c.G1072C	E358Q
c.1073A>C	c.A1073C	E358A
c.1073A>G	c.A1073G	E358G
c.1074G>T o c.1074G>C	c.G1074T o c.G1074C	E358D
c.1075A>C	c.A1075C	I359L
c.1075A>G	c.A1075G	I359V
c.1075A>T	c.A1075T	I359F
c.1076T>A	c.T1076A	I359N
c.1076T>C	c.T1076C	I359T
c.1076T>G	c.T1076G	I359S
c.1078G>A	c.G1078A	G360S
c.1078G>C	c.G1078C	G360R
c.1078G>T	c.G1078T	G360C
c.1079G>A	c.G1079A	G360D
c.1079G>C	c.G1079C	G360A
c.1082G>A	c.G1082A	G361E

B

c.1082G>C	c.G1082C	G361A
c.1084C>A	c.C1084A	P362T
c.1084C>G	c.C1084G	P362A
c.1084C>T	c.C1084T	P362S
c.1085C>A	c.C1085A	P362H
c.1085C>G	c.C1085G	P362R
c.1085C>T	c.C1085T	P362L
c.1087C>A	c.C1087A	R363S
c.1087C>G	c.C1087G	R363G
c.1087C>T	c.C1087T	R363C
c.1088G>A	c.G1088A	R363H
c.1088G>T	c.G1088T	R363L
c.1090T>C	c.T1090C	S364P
c.1091C>G	c.C1091G	S364C
c.1093T>A	c.T1093A	Y365N
c.1093T>G	c.T1093G	Y365D
c.1094A>C	c.A1094C	Y365S
c.1094A>T	c.A1094T	Y365F
c.1096A>C	c.A1096C	T366P
c.1096A>T	c.A1096T	T366S
c.1097C>A	c.C1097A	T366N
c.1097C>T	c.C1097T	T366I
c.1099A>C	c.A1099C	I367L
c.1099A>T	c.A1099T	I367F

B

c.1101C>G	c.C1101G	I367M
c.1102G>A	c.G1102A	A368T
c.1102G>C	c.G1102C	A368P
c.1103C>G	c.C1103G	A368G
c.1105G>A	c.G1105A	V369I
c.1105G>C	c.G1105C	V369L
c.1105G>T	c.G1105T	V369F
c.1106T>C	c.T1106C	V369A
c.1106T>G	c.T1106G	V369G
c.1108G>A	c.G1108A	A370T
c.1108G>C	c.G1108C	A370P
c.1109C>A	c.C1109A	A370D
c.1109C>G	c.C1109G	A370G
c.1109C>T	c.C1109T	A370V
c.1111T>A	c.T1111A	S371T
c.1112C>G	c.C1112G	S371C
c.1117G>A	c.G1117A	G373S
c.1117G>T	c.G1117T	G373C
c.1118G>C	c.G1118C	G373A
c.1120A>G	c.A1120G	K374E
c.1121A>C	c.A1121C	K374T
c.1121A>G	c.A1121G	K374R
c.1121A>T	c.A1121T	K374I
c.1123G>C	c.G1123C	G375R

B

c.1124G>A	c.G1124A	G375E
c.1124G>C	c.G1124C	G375A
c.1126G>A	c.G1126A	V376M
c.1126G>C	c.G1126C	V376L
c.1127T>A	c.T1127A	V376E
c.1127T>G	c.T1127G	V376G
c.1129G>A	c.G1129A	A377T
c.1129G>C	c.G1129C	A377P
c.1129G>T	c.G1129T	A377S
c.1130C>G	c.C1130G	A377G
c.1135A>G	c.A1135G	N379D
c.1136A>C	c.A1136C	N379T
c.1136A>T	c.A1136T	N379I
c.1137T>A	c.T1137A	N379K
c.1138C>A	c.C1138A	P380T
c.1138C>G	c.C1138G	P380A
c.1139C>A	c.C1139A	P380H
c.1139C>G	c.C1139G	P380R
c.1139C>T	c.C1139T	P380L
c.1142C>A	c.C1142A	A381D
c.1147T>A	c.T1147A	F383I
c.1148T>A	c.T1148A	F383Y
c.1148T>G	c.T1148G	F383C
c.1150A>T	c.A1150T	I384F

B

c.1151T>C	c.T1151C	I384T
c.1152C>G	c.C1152G	I384M
c.1153A>G	c.A1153G	T385A
c.1154C>T	c.C1154T	T385I
c.1156C>A	c.C1156A	Q386K
c.1157A>T	c.A1157T	Q386L
c.1158G>C	c.G1158C	Q386H
c.1159C>A	c.C1159A	L387I
c.1159C>T	c.C1159T	L387F
c.1160T>A	c.T1160A	L387H
c.1160T>G	c.T1160G	L387R
c.1162C>A	c.C1162A	L388I
c.1162C>G	c.C1162G	L388V
c.1162C>T	c.C1162T	L388F
c.1163T>A	c.T1163A	L388H
c.1163T>G	c.T1163G	L388R
c.1168G>A	c.G1168A	V390M
c.1171A>C	c.A1171C	K391Q
c.1171A>G	c.A1171G	K391E
c.1172A>C	c.A1172C	K391T
c.1172A>G	c.A1172G	K391R
c.1172A>T	c.A1172T	K391I
c.1173A>T	c.A1173T	K391N
c.1174A>G	c.A1174G	R392G

B

c.1174A>T	c.A1174T	R392W
c.1175G>A	c.G1175A	R392K
c.1175G>C	c.G1175C	R392T
c.1175G>T	c.G1175T	R392M
c.1177A>C	c.A1177C	K393Q
c.1177A>G	c.A1177G	K393E
c.1178A>C	c.A1178C	K393T
c.1179G>C	c.G1179C	K393N
c.1180C>A	c.C1180A	L394I
c.1181T>A	c.T1181A	L394Q
c.1181T>C	c.T1181C	L394P
c.1181T>G	c.T1181G	L394R
c.1183G>C	c.G1183C	G395R
c.1184G>A	c.G1184A	G395E
c.1184G>C	c.G1184C	G395A
c.1186T>A	c.T1186A	F396I
c.1186T>G	c.T1186G	F396V
c.1187T>G	c.T1187G	F396C
c.1188C>G	c.C1188G	F396L
c.1189T>A	c.T1189A	Y397N
c.1189T>C	c.T1189C	Y397H
c.1190A>C	c.A1190C	Y397S
c.1190A>G	c.A1190G	Y397C
c.1190A>T	c.A1190T	Y397F

B

c.1192G>A	c.G1192A	E398K
c.1192G>C	c.G1192C	E398Q
c.1193A>G	c.A1193G	E398G
c.1195T>A	c.T1195A	W399R
c.1195T>G	c.T1195G	W399G
c.1198A>C	c.A1198C	T400P
c.1198A>G	c.A1198G	T400A
c.1198A>T	c.A1198T	T400S
c.1199C>A	c.C1199A	T400N
c.1199C>T	c.C1199T	T400I
c.1201T>A	c.T1201A	S401T
c.1201T>G	c.T1201G	S401A
c.1202_1203insGACT TC	c.1202_1203insGACT TC	p.T400_S401dup
c.1202C>T	c.C1202T	S401L
c.1204A>G	c.A1204G	R402G
c.1204A>T	c.A1204T	R402W
c.1205G>C	c.G1205C	R402T
c.1205G>T	c.G1205T	R402M
c.1206G>C	c.G1206C	R402S
c.1207T>G	c.T1207G	L403V
c.1208T>C	c.T1208C	L403S
c.1209A>T	c.A1209T	L403F
c.1210A>G	c.A1210G	R404G

B

c.1211G>A	c.G1211A	R404K
c.1211G>C	c.G1211C	R404T
c.1211G>T	c.G1211T	R404I
c.1212A>T	c.A1212T	R404S
c.1213A>G	c.A1213G	S405G
c.1216C>G	c.C1216G	H406D
c.1217A>T	c.A1217T	H406L
c.1218C>G	c.C1218G	H406Q
c.1219A>T	c.A1219T	I407L
c.1220T>C	c.T1220C	I407T
c.1221A>G	c.A1221G	I407M
c.1222A>C	c.A1222C	N408H
c.1222A>G	c.A1222G	N408D
c.1222A>T	c.A1222T	N408Y
c.1223A>C	c.A1223C	N408T
c.1225C>A	c.C1225A	P409T
c.1225C>G	c.C1225G	P409A
c.1225C>T	c.C1225T	P409S
c.1226C>T	c.C1226T	P409L
c.1228A>G	c.A1228G	T410A
c.1228A>T	c.A1228T	T410S
c.1229C>T	c.C1229T	T410I
c.1231G>A	c.G1231A	G411S
c.1231G>T	c.G1231T	G411C

B

c.1232G>A	c.G1232A	G411D
c.1232G>C	c.G1232C	G411A
c.1232G>T	c.G1232T	G411V
c.1234A>C	c.A1234C	T412P
c.1234A>G	c.A1234G	T412A
c.1234A>T	c.A1234T	T412S
c.1235C>A	c.C1235A	T412N
c.1235C>T	c.C1235T	T412I
c.1237G>A	c.G1237A	V413I
c.1237G>T	c.G1237T	V413F
c.1238T>G	c.T1238G	V413G
c.1240T>G	c.T1240G	L414V
c.1242G>C	c.G1242C	L414F
c.1243C>A	c.C1243A	L415I
c.1244T>A	c.T1244A	L415H
c.1246C>G	c.C1246G	Q416E
c.1247A>T	c.A1247T	Q416L
c.1248G>C	c.G1248C	Q416H
c.1249C>A	c.C1249A	L417I
c.1252G>A	c.G1252A	E418K
c.1252G>C	c.G1252C	E418Q
c.1253A>C	c.A1253C	E418A
c.1253A>G	c.A1253G	E418G
c.1254A>T	c.A1254T	E418D

B

c.1255A>G	c.A1255G	N419D
c.1255A>T	c.A1255T	N419Y
c.1256A>C	c.A1256C	N419T
c.1256A>G	c.A1256G	N419S
c.1256A>T	c.A1256T	N419I
c.1258A>C	c.A1258C	T420P
c.1258A>T	c.A1258T	T420S
c.1259C>A	c.C1259A	T420K
c.1259C>G	c.C1259G	T420R
c.1261A>G	c.A1261G	M421V
c.1261A>T	c.A1261T	M421L
c.1262T>A	c.T1262A	M421K
c.1262T>C	c.T1262C	M421T
c.1262T>G	c.T1262G	M421R
c.1263G>C	c.G1263C	M421I
c.1265A>C	c.A1265C	Q422P
c.1267A>T	c.A1267T	M423L
c.1268T>A	c.T1268A	M423K
c.1268T>C	c.T1268C	M423T
c.1269G>C	c.G1269C	M423I
c.1271C>T	c.C1271T	S424L
c.1275A>C	c.A1275C	L425F
c.1279G>A	c.G1279A	D427N
c.1286T>G	c.T1286G	L429R

Dosaggio, formulazione e somministrazione

[00124] Al paziente con malattia di Fabry viene somministrato migalastat o un suo sale a una frequenza ogni due giorni (a cui si fa riferimento anche come "QOD"). In varie forme di realizzazione, le dosi descritte nella presente riguardano migalastat cloridrato o una dose
5 equivalente di migalastat o un suo sale diverso dal sale cloridrato. In alcune forme di realizzazione, queste dosi riguardano la base libera di migalastat. In forme di realizzazione alternative, queste dosi riguardano un sale di migalastat. In ulteriori forme di realizzazione, il sale di
10 migalastat è migalastat cloridrato. Nella presente, alla somministrazione di migalastat o di un sale di migalastat si fa riferimento come "terapia con migalastat".

[00125] La quantità efficace di migalastat o di un suo sale può essere nell'intervallo da circa 100 mg di FBE a circa 150 mg di FBE. Dosi
15 esemplificative includono circa 100 mg di FBE, circa 105 mg di FBE, circa 110 mg di FBE, circa 115 mg di FBE, circa 120 mg di FBE, circa 123 mg di FBE, circa 125 mg di FBE, circa 130 mg di FBE, circa 135 mg di FBE, circa 140 mg di FBE, circa 145 mg di FBE o circa 150 mg di FBE.

[00126] Ancora, si noti che 150 mg di migalastat cloridrato sono
20 equivalenti a 123 mg della forma di base libera di migalastat. Perciò, in una o più forme di realizzazione, la dose è 150 mg di migalastat cloridrato o una dose equivalente di migalastat o di un suo sale diverso dal sale cloridrato, somministrata a una frequenza di una volta ogni due giorni. Come esposto sopra, a questa dose si fa riferimento come 123 mg di
25 FBE di migalastat. In ulteriori forme di realizzazione, la dose è 150 mg di

migalastat cloridrato somministrati a una frequenza di una volta ogni due giorni. In altre forme di realizzazione, la dose è 123 mg della base libera di migalastat somministrati a una frequenza di una volta ogni due giorni.

[00127] In varie forme di realizzazione, la quantità efficace è
5 circa 122 mg, circa 128 mg, circa 134 mg, circa 140 mg, circa 146 mg,
circa 150 mg, circa 152 mg, circa 159 mg, circa 165 mg, circa 171 mg,
circa 177 mg o circa 183 mg di migalastat cloridrato.

[00128] Di conseguenza, in varie forme di realizzazione, la
terapia con migalastat include somministrare 123 mg di FBE a una
10 frequenza di una volta ogni due giorni, come 150 mg di migalastat
cloridrato ogni due giorni, per almeno 18 mesi, come definito nelle
rivendicazioni allegate.

[00129] La somministrazione di migalastat o di un suo sale. In
una o più forme di realizzazione, il migalastat o un suo sale viene
15 somministrato per una durata di almeno 20, 24, 30 o 36 mesi o almeno
2, 3, 4 o 5 anni. In varie forme di realizzazione, la terapia con migalastat
è una terapia con migalastat a lungo termine di almeno circa 2, 3, 4 o 5
anni.

[00130] La somministrazione di migalastat o di un suo sale
20 secondo la presente invenzione può essere in una formulazione adatta
per qualsiasi via di somministrazione, ma è preferibilmente
somministrata in una forma di dosaggio orale come una compressa, una
capsula o una soluzione. Come esempio, al paziente vengono
somministrate per via orale capsule contenenti ciascuna 150 mg di
25 migalastat cloridrato o una dose equivalente di migalastat o un suo sale

diverso dal sale cloridrato.

[00131] In alcune forme di realizzazione, il PC (ad esempio, migalastat o un suo sale) viene somministrato per via orale. In una o più forme di realizzazione, il PC (migalastat o suo sale) viene somministrato
5 mediante iniezione. Il PC può essere accompagnato da un trasportatore farmaceuticamente accettabile, che può dipendere dal metodo di somministrazione.

[00132] In una o più forme di realizzazione, il PC (ad esempio, migalastat o un suo sale) viene somministrato come monoterapia, e può
10 essere in una forma adatta per qualsiasi via di somministrazione, tra cui, ad esempio, per via orale nella forma di compresse o capsule o liquido, o in soluzione acquosa sterile per iniezione. In altre forme di realizzazione, il PC è fornito in una polvere liofilizzata secca da aggiungere alla formulazione dell'enzima sostitutivo durante o
15 immediatamente dopo la ricostituzione per impedire l'aggregazione dell'enzima *in vitro* prima della somministrazione.

[00133] Quando il PC (migalastat o un suo sale) è formulato per la somministrazione orale, le compresse o le capsule possono essere preparate mediante mezzi convenzionali con eccipienti
20 farmaceuticamente accettabili come agenti leganti (ad esempio, amido di mais pregelatinizzato, polivinilpirrolidone o idrossipropilmetilcellulosa); cariche (ad esempio, lattosio, cellulosa microcristallina o idrogenofosfato di calcio); lubrificanti (ad esempio, stearato di magnesio, talco o silice); disgreganti (ad esempio, amido di patata o glicolato di amido di sodio); o
25 agenti umettanti (ad esempio, sodio laurilsolfato). Le compresse possono

essere rivestite con metodi ben noti nell'arte. Le preparazioni liquide per somministrazione orale possono assumere la forma, ad esempio, di soluzioni, sciroppi o sospensioni, oppure possono essere presentate come prodotto secco per la costituzione con acqua o un altro veicolo
5 adatto prima dell'uso. Tali preparazioni liquide possono essere preparate con mezzi convenzionali con additivi farmaceuticamente accettabili come agenti di sospensione (ad esempio sciroppo di sorbitolo, derivati della cellulosa o grassi commestibili idrogenati); emulsionanti (ad esempio lecitina o acacia); veicoli non acquosi (ad esempio olio di mandorle, esteri
10 oleosi, alcool etilico o oli vegetali frazionati); e conservanti (ad esempio metil o propil-p-idrossibenzoati o acido sorbico). Le preparazioni possono anche contenere sali tampone, agenti aromatizzanti, coloranti e dolcificanti, a seconda dei casi. Le preparazioni per somministrazione orale possono essere formulate in modo adatto, a dare un rilascio
15 controllato del composto di chaperone attivo.

[00134] Le formulazioni farmaceutiche del PC (migalastat o un suo sale) adatte per uso parenterale/iniettabile generalmente includono soluzioni acquose sterili (laddove idrosolubili), o dispersioni e polveri sterili per la preparazione estemporanea di soluzioni iniettabili sterili o
20 dispersioni. In tutti i casi, la forma deve essere sterile e deve essere fluida al punto da essere facilmente siringabile. Deve essere stabile alle condizioni di produzione e conservazione e deve essere protetta dall'azione contaminante di microorganismi come batteri e funghi. Il trasportatore può essere un solvente o un mezzo di dispersione
25 contenente, ad esempio, acqua, etanolo, poliolo (ad esempio, glicerolo,

glicole di propilene, glicole di polietilene, e simili), loro miscele adatte e oli vegetali. La corretta fluidità può essere mantenuta, ad esempio, mediante l'uso di un rivestimento, come lecitina, mantenendo la granulometria richiesta nel caso di una dispersione e mediante l'uso di

5 tensioattivi. La prevenzione dell'azione di microrganismi può essere determinata da vari agenti antibatterici e antifungini, ad esempio parabenii, clorobutanolo, fenolo, alcol benzilico, acido sorbico, e simili. In molti casi, sarà ragionevole includere agenti isotonici, ad esempio zuccheri o cloruro di sodio. L'assorbimento prolungato delle composizioni

10 iniettabili può essere assolto mediante l'uso nelle composizioni di agenti che ritardano l'assorbimento, ad esempio monostearato di alluminio e gelatina.

[00135] Soluzioni iniettabili sterili sono preparate incorporando l'enzima purificato (se presente) e il PC (migelastat o un suo sale) nella

15 quantità richiesta nel solvente appropriato con vari degli altri ingredienti elencati sopra, come necessario, a cui fa seguito sterilizzazione con filtro o terminale. Generalmente, le dispersioni sono preparate incorporando i vari ingredienti attivi sterilizzati in un veicolo sterile che contiene il mezzo di dispersione basico e gli altri ingredienti richiesti da quelli elencati

20 sopra. Nel caso di polveri sterili per la preparazione di soluzioni iniettabili sterili, i metodi di preparazione preferiti sono l'essiccazione sotto vuoto e la tecnica di liofilizzazione che danno una polvere dell'ingrediente attivo più qualsiasi ingrediente desiderato aggiuntivo da una relativa soluzione precedentemente sterilizzata per filtrazione.

25 **[00136]** La formulazione può contenere un eccipiente. Eccipienti

farmaceuticamente accettabili che possono essere inclusi nella formulazione sono tamponi come tampone citrato, tampone fosfato, tampone acetato, tampone bicarbonato, amminoacidi, urea, alcol, acido ascorbico e fosfolipidi; proteine, come albumina sierica, collagene e gelatina; sali come EDTA o EGTA, e cloruro di sodio; liposomi; 5 polivinilpirrolidone; zuccheri, come destrano, mannitolo, sorbitolo e glicerolo; glicole di propilene e glicole di polietilene (ad esempio, PEG-4000, PEG-6000); glicerolo; glicina o altri amminoacidi; e lipidi. I sistemi tampone per uso con le formulazioni includono tamponi citrato; acetato; 10 bicarbonato; e fosfato. Il tampone fosfato è una forma di realizzazione preferita.

[00137] La via di somministrazione del composto di chaperone può essere orale o parenterale, incluse endovenosa, sottocutanea, intra-arteriosa, intraperitoneale, oftalmica, intramuscolare, buccale, rettale, 15 vaginale, intraorbitale, intracerebrale, intradermica, intracranica, intraspinale, intraventricolare, intratecale, intracisternale, intracapsulare, intrapolmonare, intranasale, transmucosale, transdermica o tramite inalazione.

[00138] La somministrazione delle formulazioni parenterali descritte sopra del composto di chaperone può avvenire mediante 20 iniezioni periodiche di un bolo della preparazione, o possono essere somministrate mediante somministrazione endovenosa o intraperitoneale da un serbatoio che è esterno (ad esempio, una sacca e.v.) o interno (ad esempio, un impianto bioerodibile).

25 **[00139]** Le forme di realizzazione che riguardano le formulazioni

farmaceutiche e la somministrazione possono essere combinate con qualsiasi altra forma di realizzazione dell'invenzione, ad esempio, le forme di realizzazione che riguardano i metodi per trattare pazienti con malattia di Fabry, metodi per trattare pazienti con malattia di Fabry vergini
5 alla ERT, metodi per trattare pazienti con malattia di Fabry già trattati con ERT, metodi per ridurre il rischio di eventi di CBV, metodi per ridurre il rischio di esiti clinici compositi, metodi per giudicare i sintomi o gli esiti di un paziente o di gruppi di pazienti, metodi per valutare una terapia di trattamento, metodi per potenziare α -Gal A in un paziente a cui è stata
10 diagnosticata o si sospetta abbia malattia di Fabry, l'uso di uno chaperone farmacologico per α -Gal A per la fabbricazione di un medicinale per trattare un paziente a cui è stata diagnosticata la malattia di Fabry o uno chaperone farmacologico per α -Gal A per uso nel trattamento di un paziente a cui è stata diagnosticata la malattia di Fabry
15 nonché le forme di realizzazione che riguardano mutazioni suscettibili, i PC e i loro dosaggi adatti.

[00140] In una o più forme di realizzazione, il PC (migalastat o un suo sale) viene somministrato in combinazione con ERT. ERT aumenta la quantità di proteina introducendo in modo esogeno un
20 enzima di tipo selvatico o biologicamente funzionale per mezzo di infusione. Questa terapia è stata sviluppata per molti disturbi genetici, tra cui LSD come la malattia di Fabry, come riferito sopra. Dopo l'infusione, si prevede che l'enzima esogeno venga assorbito dai tessuti attraverso un meccanismo aspecifico o specifico per il recettore. In generale,
25 l'efficienza di captazione non è elevata, e il tempo di circolazione della

proteina esogena è breve. In aggiunta, la proteina esogena è instabile e soggetta a rapida degradazione intracellulare, oltre ad avere il potenziale per reazioni immunologiche avverse con trattamenti successivi. In una o più forme di realizzazione, lo chaperone viene somministrato nello stesso momento dell'enzima sostitutivo (ad esempio, α -Gal A sostitutivo). In alcune forme di realizzazione, lo chaperone è co-formulato con l'enzima sostitutivo (ad esempio, sostituzione di α -Gal A).

[00141] In una o più forme di realizzazione, un paziente passa dalla ERT alla terapia con migalastat. In alcune forme di realizzazione viene identificato un paziente sottoposto a ERT, la ERT del paziente viene interrotta e il paziente inizia a ricevere la terapia con migalastat. La terapia con migalastat può essere in conformità a qualsiasi dei metodi descritti nella presente.

Esiti clinici compositi

[00142] I regimi di dosaggio descritti nella presente possono ridurre il rischio di esiti clinici compositi (CCO) in pazienti con malattia di Fabry. Come descritto in ulteriore dettaglio negli Esempi di seguito, studi di Fase 3 hanno trovato che la terapia con migalastat riduce l'incidenza di CCO in pazienti con malattia di Fabry. Di conseguenza, la terapia con migalastat può essere usata per ridurre il rischio di CCO in pazienti con malattia di Fabry e/o trattare pazienti con malattia di Fabry che hanno un rischio elevato di CCO, inclusi pazienti che hanno una storia di eventi cardiovascolari, renali o cerebrovascolari o pazienti che non hanno una storia di questi eventi.

[00143] I CCO comprendono eventi renali, eventi cardiaci, eventi

cerebrovascolari e decesso. In una o più forme di realizzazione, gli eventi renali comprendono uno o più tra: una diminuzione di $eGFR_{CKD-EPI} \geq 15$ ml/min/1,73 m² con $eGFR$ diminuita < 90 ml/min/1,73 m² rispetto al basale; o un aumento delle proteine nelle urine delle 24 ore $\geq 33\%$, con
5 proteine elevate ≥ 300 mg rispetto al basale. In una o più forme di realizzazione, gli eventi cardiaci comprendono uno o più tra: infarto del miocardio; angina cardiaca instabile; nuova aritmia sintomatica che richiede terapia antiaritmica, cardioversione a corrente continua, impianto di pacemaker o di defibrillatore; o insufficienza cardiaca
10 congestizia [classe III o IV della New York Association]. In una o più forme di realizzazione, gli eventi cerebrovascolari comprendono uno o più tra ictus o attacco ischemico transitorio.

[00144] In una o più forme di realizzazione, il tasso di incidenza di CCO è inferiore a 1,0 per paziente•anno, come inferiore a 0,9, 0,8, 0,7,
15 0,6, 0,5 o 0,4 per paziente•anno.

[00145] In una o più forme di realizzazione, la terapia con migalastat fornisce un tasso di incidenza di CCO inferiore rispetto a una terapia di trattamento differente. In una o più forme di realizzazione, l'altra
20 terapia di trattamento comprende una o più tra ERT, terapia di riduzione del substrato o terapia genica. In una o più forme di realizzazione, l'altra terapia è ERT.

[00146] In una o più forme di realizzazione, il tasso di incidenza di CCO viene valutato dopo 18 mesi di trattamento. In una o più forme di
25 realizzazione, il tasso di incidenza di CCO viene valutato su periodi di trattamento a lungo termine di almeno 2, 3, 4 o più anni.

[00147] In una o più forme di realizzazione, il tempo mediano al primo CCO è superiore a 0,5 anni, come, ad esempio, superiore a 6 mesi, 7 mesi, 8 mesi, 9 mesi, 10 mesi, 11 mesi, 12 mesi o 1 anno.

[00148] In una o più forme di realizzazione, la terapia con migalastat fornisce un tempo più lungo al primo CCO rispetto a una
5 migalastat fornisce un tempo più lungo al primo CCO rispetto a una terapia di trattamento differente. In una o più forme di realizzazione, l'altra terapia di trattamento comprende una o più tra ERT, terapia di riduzione del substrato o terapia genica. In una o più forme di realizzazione, l'altra terapia è ERT.

10 **ESEMPI**

ESEMPIO 1: esiti clinici compositi durante la terapia con migalastat

[00149] Questo esempio descrive l'incidenza di esiti clinici compositi (CCO) in pazienti trattati con migalastat che erano stati precedentemente trattati con ERT.

15 **Disegni dello studio**

[00150] L'analisi includeva dati da 3 sperimentazioni cliniche di fase 3 con cut-off dei dati al 25 maggio 2019 come mostrato di seguito. L'analisi includeva pazienti già sottoposti a ERT con varianti di GLA suscettibili a migalastat che avevano ricevuto migalastat in ATTRACT e
20 nei successivi studi di estensione in aperto (OLE) (AT1001-041 [NCT01458119] e/o AT1001-042, [NCT02194985]). I pazienti hanno iniziato l'ERT ≥ 12 mesi prima dello studio.

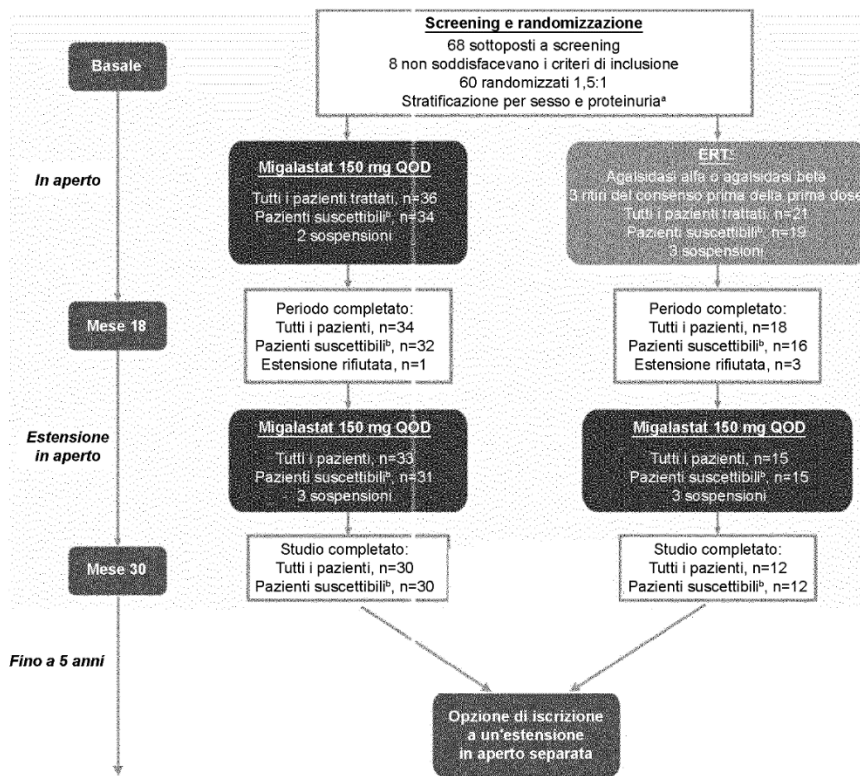
[00151] ATTRACT (AT1001-012, NCT01218659) è stato uno studio in aperto, di fase 3, a controllo attivo volto a confrontare l'efficacia
25 e la sicurezza di 18 mesi di migalastat HCl 150 mg QOD rispetto a ERT,

seguito da un OLE di 12 mesi con migalastat, in pazienti trattati con ERT con varianti di GLA suscettibili a migalastat.

[00152] AT1001-041 (NCT01458119) è stato uno studio OLE a lungo termine volto a valutare la sicurezza e l'efficacia a lungo termine di migalastat in pazienti che avevano completato uno studio precedente su migalastat.

[00153] AT1001-042 (NCT02194985) è uno studio OLE a lungo termine in corso volto a valutare la sicurezza e l'efficacia a lungo termine di migalastat in pazienti che hanno partecipato a AT1001-012 o AT1001-041.

Studi clinici inclusi nell'analisi



^aStratificazione della proteinuria: alta, $\geq 0,1$ g/24 ore; bassa, $< 0,1$ g/24 ore.

^bLa determinazione della suscettibilità si è basata sul test di suscettibilità al migalastat, validato secondo le norme di buone pratiche di laboratorio (GLP), resi disponibile durante lo studio. Pertanto, in seguito si è stabilito che alcuni pazienti inizialmente iscritti non erano suscettibili.

^cOtto (38%) e 13 (62%) pazienti ricevevano agalsidasi beta e agalsidasi alfa, rispettivamente.

[00154] I CCO sono stati definiti prima dell'analisi pianificata e includevano:

- Eventi renali (una diminuzione di $eGFR_{CKD-EPI} \geq 15$ ml/min/1,73 m² con $eGFR$ diminuita < 90 ml/min/1,73 m² rispetto al basale; o un aumento delle proteine nelle urine delle 24 ore $\geq 33\%$, con proteine elevate ≥ 300 mg rispetto al basale)
- Eventi cardiaci comprendono (infarto del miocardio; angina cardiaca instabile; nuova aritmia sintomatica che richiede terapia

antiaritmica, cardioversione a corrente continua, impianto di pacemaker o di defibrillatore; insufficienza cardiaca congestizia [classe III o IV della New York Association])

- Eventi cerebrovascolari (ictus o attacco ischemico transitorio)
- Decesso

Analisi dei dati

[00155] L'esposizione a migalastat è stata calcolata dal giorno della prima dose all'ultimo punto di dati disponibile o alla data di interruzione; per questa analisi, l'esposizione a ERT comprendeva la durata della partecipazione allo studio ATTRACT, e durava fino a 18 mesi.

[00156] I tassi di incidenza sono stati calcolati separatamente per eventi renali, cerebrovascolari e cardiaci e per gli esiti clinici compositi. Tutti gli eventi individuali sono stati conteggiati per calcolare l'incidenza. I tempi mediani al primo evento clinico sono stati calcolati in base agli stessi dati usati per i tassi di incidenza.

[00157] Un confronto diretto tra migalastat e ERT si è basato sull'esposizione di 18 mesi (i dati per ERT derivavano solo dai primi 18 mesi in ATTRACT); in aggiunta, l'incidenza di CCO per l'intero periodo di follow-up è stata calcolata per migalastat (ATTRACT e successivi studi OLE)

[00158] L'incidenza a lungo termine per migalastat è stata calcolata in base a tutti i dati disponibili per migalastat.

25 Risultati

Dati demografici e caratteristiche al basale

[00159] L'età media (deviazione standard) dei pazienti era di 49,4 (14,1) anni; in media, i pazienti hanno ricevuto 3,4 anni di ERT prima del trattamento con migalastat (Tabella 2). L'esposizione mediana (Q1-Q3) a migalastat era di 4,8 (2,1, 5,5) anni; i valori dei pazienti individuali variavano da 0,1 a 7,2 anni. I pazienti hanno ricevuto migalastat all'inizio di ATTRACT o vi sono passati da ERT dopo 18 mesi.

Tabella 2. Dati demografici dei pazienti e caratteristiche al

basale^a

Parametri	Pazienti già sottoposti a ERT		
	N=49		
	Nel complesso (N=49)	Maschi n=19	Femmine n=30
Età, anni			
Media (DS)	49,4 (14,1)	48,1 (14,7)	50,2 (14,0)
Mediana (intervallo)	53,0 (18,0-70,0)	48,0 (18,0-67,0)	53,5 (18,0-70,0)
Anni dalla diagnosi di malattia di Fabry, anni			
Media (DS)	11,6 (12,0)	9,2 (10,6)	13,0 (12,8)

B

Mediana (intervallo)	5,7 (1,2-42,9)	4,4 (1,9-38,2)	6,3 (1,2-42,9)
Durata dell'esposizione a ERT, anni			
Media (DS)	3,4 (2,4)	3,5 (2,3)	3,4 (2,5)
Mediana (intervallo)	2,3 (0,3-8,6)	2,4 (0,5-8,5)	2,2 (0,3-8,6)
eGFR_{CKD-EPI}, media (DS), ml/min/1,73 m²	89,3 (20,5)	90,1 (21,6)	88,8 (20,1)
LVMi, media (DS), g/m²	93,0 (25,6)	107,5 (29,5)	84,5 (18,9)

^{a1} I valori derivavano dall'inizio del trattamento con migalastat.

Incidenza di eventi clinici

[00160] Durante i primi 18 mesi di trattamento con migalastat o ERT, il tasso di incidenza di CCO era di 0,41 per paziente•anno per migalastat e 0,85 per paziente•anno per ERT. Nei pazienti maschi e
5 femmine che ricevevano il trattamento con migalastat, il tasso di incidenza di CCO durante i primi 18 mesi era 0,50 e 0,34 per paziente•anno, rispettivamente (Tabella 3).

[00161] Il tasso di incidenza di CCO è rimasto basso durante il follow-up a lungo termine ed era di 0,45 per paziente•anno in
10 corrispondenza del cut-off dei dati. Durante il follow-up a lungo termine, il tasso di incidenza di CCO era di 0,56 e 0,37 per paziente•anno in

corrispondenza del cut-off dei dati in pazienti maschi e femmine, rispettivamente (Tabella 3).

Tabella 3. Tasso di incidenza di esiti clinici composti per

trattamento e sesso

Per paziente•anno	ERT a 18 mesi		Migalastat a 18 Mesi		Migalastat a 4,8 anni ^a	
	Masch i, N=8	Femmin e, N=10	Masch i, N=19	Femmin e, N=30	Masch i, N=19	Femmin e, N=30
Esito clinico composito	0,68	0,98	0,50	0,34	0,56	0,37
Evento renale	0,58	0,56	0,43	0,29	0,51	0,33
Evento cardiaco	0	0,42	0,07	0,05	0,04	0,02
Evento cerebrovascol are	0,10	0	0	0	0,01	0,02
Decesso	0	0	0	0	0	0

5 **Tempo agli eventi clinici**

[00162] Nel complesso, il tempo mediano al primo CCO era di 1,17 e 0,25 anni con migalastat e ERT, rispettivamente. Il tempo mediano ai primi CCO per trattamento e sesso è mostrato nella Tabella 4.

Tabella 4. Tempo mediano al primo esito clinico composito

10 **per trattamento e sesso**

B

Anni	ERT (0-18 mesi)		Migalastat (0-4,8 anni)	
	Maschi	Femmine	Maschi	Femmine
Esito clinico composito	0,25	0,35	1,30	1,15

[00163] Come si può vedere dalle tabelle di cui sopra, il tasso di incidenza di CCO in pazienti in trattamento con migalastat era inferiore e il tempo al primo CCO era più lungo con migalastat rispetto a ERT durante il periodo di trattamento di 18 mesi nello studio ATTRACT.

5 Questo tasso di incidenza di CCO è stato mantenuto dai pazienti che hanno continuato con migalastat fino a 7,2 anni (follow-up mediano: 4,8 anni) nell'estensione in aperto. Questi dati hanno dimostrato i benefici a lungo termine del trattamento con migalastat in pazienti già sottoposti a ERT con malattia di Fabry e mutazioni di GLA suscettibili.

10 **ESEMPIO 2: esito riferito dal paziente con malattia di Fabry - Gastrointestinale (FABPRO-GI)**

[00164] Questo esempio descrive lo sviluppo di un nuovo strumento per esiti gastrointestinali (GI) specifico per la malattia di Fabry.

Attuali strumenti GI

15 [00165] La scala di classificazione dei sintomi gastrointestinali è stata usata per giudicare i sintomi GI in una sperimentazione clinica su migalastat; tuttavia, non sono disponibili strumenti convalidati specifici per la malattia di Fabry per valutare completamente l'impatto dei trattamenti sui sintomi GI correlati alla malattia di Fabry (Tabella 5).

20 **Tabella 5. Strumenti usati per giudicare i sintomi GI in**

pazienti con malattia di Fabry

Strumento	Vantaggi	Svantaggi
Scala di classificazione dei sintomi gastrointestinali	<ul style="list-style-type: none"> • Giudica una vasta gamma di sintomi GI • Può essere usata nella sua interezza o come un insieme di voci da cui è possibile selezionare le voci appropriate • È un esito riferito dal paziente 	<ul style="list-style-type: none"> • Non giudica molteplici voci per la diarrea (ad esempio, frequenza e gravità) • Non convalidata per i sintomi GI associati alla malattia di Fabry
Criteri Rome III (per pazienti adulti e pediatrici)	<ul style="list-style-type: none"> • Possono essere riferiti da prestatori di cure o pazienti • Convalidati per svariati disturbi GI funzionali 	<ul style="list-style-type: none"> • Raccomanda che i sintomi abbiano origine 6 mesi prima della diagnosi e siano attivi per 3 mesi • Non convalidati per i sintomi GI associati alla malattia di Fabry

^aSistema di punteggio diagnostico per la sindrome dell'intestino irritabile dato che i sintomi GI correlati alla malattia di Fabry simulano la sindrome dell'intestino irritabile

[00166] Sulla base dei difetti di questi altri strumenti, lo strumento FABPRO-GI (esito riferito dal paziente con malattia di Fabry - Gastrointestinale) è stato sviluppato per essere uno strumento basato

sulla revisione della letteratura e sull'analisi quantitativa progettato per giudicare i sintomi GI in pazienti con malattia di Fabry.

Metodi

[00167] Lo strumento FABPRO-GI è stato redatto sulla base dei risultati di una revisione completa della letteratura, di riunioni di consulenza specialistica e di interviste di elicitazione della conoscenza ai pazienti coerenti con le migliori pratiche di misurazione e la guida normativa.

[00168] Le prospettive dei pazienti riguardo ai sintomi GI correlati alla malattia di Fabry sono state ottenute tramite interviste di elicitazione della conoscenza. 15 pazienti che avevano la malattia di Fabry auto-riferita, erano fluenti in inglese, e di età di ≥ 16 anni con ≥ 1 sintomi GI auto-riportati nei 14 giorni precedenti l'ingresso nello studio sono stati inclusi nello studio. Dopo lo sviluppo dello strumento FABPRO-GI iniziale, sono state condotte interviste di debriefing cognitivo con altri 15 pazienti per valutarne il contenuto e produrre lo strumento FABPRO-GI finale. I dati demografici dei pazienti intervistati in interviste di elicitazione della conoscenza e interviste di debriefing cognitivo sono presentati nella Tabella 6.

Tabella 6. Caratteristiche demografiche e della malattia dei pazienti con malattia di Fabry che partecipano a CEI e CDI

	CEI (N=17)	CDI (N=15)
Età, anni, (SD) media	33,7 (14,2)	39,6 (16,7)
Femmina, n. (%)	10 (58,8)	11 (73,3)
Razza, n. (%)		

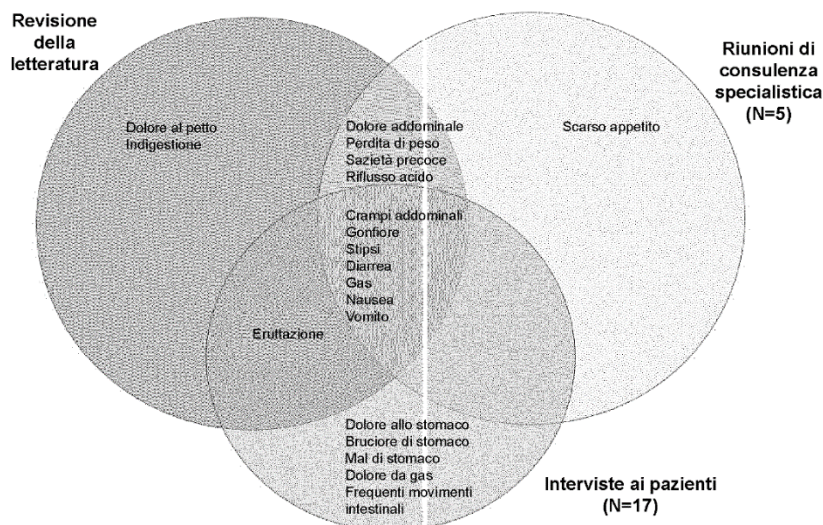
B

Caucasica	11 (64,7)	13 (86,7)
Nera o afro-americana	-	2 (13,3)
Altro	5 (29,4)	-
Nessuna risposta	1 (5,8)	-
Tempo dalla diagnosi, media (DS)	11,8 (12,2)	7,9 (6,2)
Gravità dei sintomi GI correlati alla malattia di Fabry, n (%) ^a		
Molto lieve	1 (5,9)	1 (6,7)
Lieve	3 (17,6)	2 (13,3)
Moderata	11 (64,7)	11 (73,3)
Grave	1(5,9)	1 (6,7)
Molto grave	1 (5,9)	-

CDI=interviste di debriefing cognitivo; CEI=interviste di elicitazione della conoscenza; FANS=farmaci antinfiammatori non steroidei;

^aRiferito dal paziente; ^bNon mutualmente esclusivi; ^cLa terapia enzimatica sostitutiva è stata esclusa; ^dAd esempio, fenitoina, carbamazepina o gabapentin; ^eAd esempio, narcotici, oppioidi come codeina, idrocodone, Demerol, OxyContin, o Percocet.

[00169] Tre insiemi di modelli concettuali sono stati derivati dalla revisione della letteratura, dalle riunioni di consulenza specialistica e dalle interviste di elicitazione della conoscenza ai pazienti, che mostrano sintomi GI ampiamente sovrapposti:



[00170] Lo strumento FABPRO-GI iniziale è stato rivisto in base al feedback dalle interviste di debriefing cognitivo per produrre lo strumento FABPRO-GI a 11 voci finale (Tabella 7).

5

Tabella 7. Voci finali dello strumento FABPRO-GI finale^a

Dominio	Voce
Gravità dei sintomi GI correlati alla malattia	1. Nelle ultime 24 ore, quanto è stato grave il tuo peggiore gonfiore ?
	2. Nelle ultime 24 ore, quanto è stato grave il tuo peggiore dolore allo stomaco ?
	3. Nelle ultime 24 ore, quanto sono stati gravi i tuoi peggiori crampi ?
	4. Nelle ultime 24 ore, quanto è stata grave la tua peggiore nausea ?
	5. Nelle ultime 24 ore, quanto è stato grave il tuo peggiore riflesso acido ?
	6. Nelle ultime 24 ore, quanto è stato grave il tuo peggiore bruciore di stomaco ?

	8. Nelle ultime 24 ore, quanto è stata grave la tua peggiore stipsi ?
	12. Nelle ultime 24 ore, quanto è stata grave la tua peggiore diarrea ?
Frequenza dei movimenti intestinali	9. Nelle ultime 24 ore, quanti movimenti intestinali hai avuto?
Frequenza della diarrea	10. Nelle ultime 24 ore, quante volte hai avuto la diarrea ?
Consistenza della diarrea	11. Nelle ultime 24 ore, qual era la consistenza della tua peggiore diarrea ?

^aAlle voci è stato dato un punteggio su una scala da 0 a 10.

[00171] Dei sintomi GI correlati alla malattia di Fabry identificati dagli esperti, dolore addominale, diarrea e sazietà precoce sono stati considerati come alcuni dei più importanti a cui puntare durante il trattamento. Tra i sintomi GI correlati alla malattia di Fabry menzionati dai

5 pazienti durante le interviste di elicitazione della conoscenza, i sintomi più comunemente riferiti includevano diarrea, gonfiore e gonfiore. Su una scala da 0 a 10, dove punteggi più alti indicavano più fastidio, preoccupazione e impatto, i pazienti hanno classificato più frequentemente diarrea, gonfiore e stipsi come i sintomi principali

10 (Tabella 8).

Tabella 8. Sintomi GI e loro fastidio, preoccupazione e impatto

Conoscenza ^a	Sintomi riferiti e valutati dal paziente ^b	Valutazione del fastidio ^c	Valutazione della preoccupazione ^c	Valutazione dell'impatto ^c
		Media (DS)	Media (DS)	Media (DS)
Diarrea	11/13	6,4 (2,0)	3,5 (2,9)	5,1 (3,3)
Gonfiore	9/10	4,9 (2,3)	3,6 (3,2)	3,3 (3,3)
Stipsi	9/10	6,4 (3,0)	5,5 (3,3)	5,8 (2,8)
Crampi	8/9	6,5 (2,3)	4,4 (2,7)	6,0 (3,4)
Dolore allo stomaco	7/7	6,1 (2,9)	4,9 (1,7)	5,0 (2,9)
Nausea	5/8	6,2 (2,8)	2,4 (1,9)	4,0 (3,5)
Gas	4/4	3,8 (3,3)	4,5 (5,3)	5,0 (4,2)
Bruciore di stomaco	4/4	5,5 (3,7)	4,5 (3,8)	3,8 (1,7)
Mal di stomaco	3/4	5,7 (2,1)	3,0 (2,6)	5,0 (4,4)
Dolore da gas	2/3	6,5 (0,7)	3,0 (4,2)	4,5 (4,9)
Frequenti movimenti intestinali	1/2	7,0	8,0	6,0
Eruttazione	0/1	-	-	-
Vomito	1/1	8,0	4,0	5,0

^aIn base a CEI. ^bIl secondo numero indica il numero totale di pazienti che hanno riferito di avere manifestato il sintomo durante la discussione aperta; il numero di pazienti che hanno avuto l'opportunità di fornire una valutazione per il sintomo può essere inferiore al conteggio della frequenza totale per alcuni sintomi poiché i pazienti erano in grado di valutare solo i sintomi di cui l'intervistatore ha specificamente chiesto informazioni durante l'intervista, prima dell'analisi completa dei dati qualitativi. ^cValutato su una scala da 0 a 10 dove un punteggio più alto indica più fastidio, preoccupazione o impatto.

[00172] Sulla base di quanto sopra, FABPRO-GI è un nuovo strumento con convalida del contenuto sviluppato sulla base di revisione della letteratura, consulenza specialistica e prospettive dei pazienti che può essere usato per giudicare i sintomi GI in un periodo di riferimento di
5 24 ore in pazienti con malattia di Fabry. La comprensibilità generale, la rilevanza e la completezza dello strumento FABPRO-GI sono state convalidate in un sottoinsieme di pazienti con malattia di Fabry.

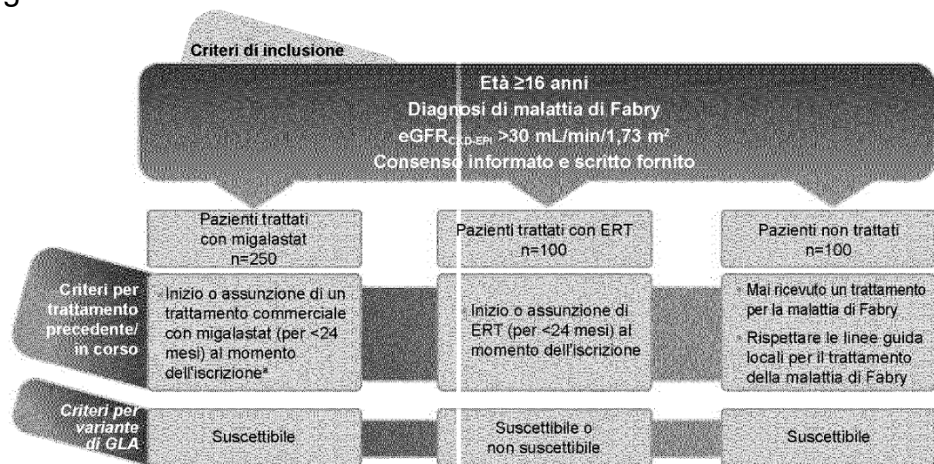
ESEMPIO 3: caratteristiche del paziente al basale di followME, un nuovo registro osservazionale, prospettico, incentrato sul paziente per la malattia di Fabry che valuta migalastat, ERT e una coorte a decorso naturale
10

[00173] Questo esempio descrive followME, un registro unico focalizzato sul paziente, prospettico, osservazionale, multinazionale progettato per giudicare l'impatto reale del trattamento con migalastat
15 tramite sicurezza, efficacia ed esiti riportati dal paziente (PRO). I dati demografici e le caratteristiche al basale dei pazienti attualmente iscritti

nel registro followME sono stati analizzati e sono presentate di seguito.

Disegno dello studio

Pazienti che ricevono migalastat, ERT o nessuna terapia specifica per la malattia di Fabry (controllo a decorso naturale) sono iscritti e seguiti fino a 5 anni. I criteri di ammissibilità sono presentati di seguito:



*I pazienti in trattamento con migalastat nell'ambito di uno studio clinico devono aver effettuato il passaggio al medicinale commerciale entro e non oltre la data di arruolamento.

Metodi

[00174] Dopo la conferma del consenso del paziente, i medici raccolgono dati al basale per ciascun paziente all'atto dell'iscrizione nel registro, che includono dati demografici, genotipo e anamnesi medica (ad esempio anamnesi della malattia di Fabry e anamnesi degli eventi clinici).

[00175] La popolazione di sicurezza include tutti i pazienti con malattia di Fabry che hanno acconsentito a partecipare al registro e hanno ricevuto almeno 1 dose di migalastat o ERT o non hanno mai ricevuto il trattamento

[00176] Dati demografici, caratteristiche al basale e anamnesi

medica (ad esempio anamnesi di malattia di Fabry e anamnesi di eventi clinici) sono riepilogati per gruppo di trattamento iniziale.

Risultati

Dati demografici del paziente

5 **[00177]** Un totale di 144 pazienti (migalastat: 67; ERT: 35; nessun trattamento: 42) provenienti da 15 centri in Nord America e in Europa è stato iscritto al registro. I dati demografici dei pazienti sono presentati nella Tabella 9. Le pazienti femmine costituivano rispettivamente il 41,8%, il 48,6% e l'88,1% delle coorti migalastat, ERT
10 e nessun trattamento.

Tabella 9. Dati demografici dei pazienti attualmente iscritti al registro followME (popolazione di sicurezza)

Parametro	Complessivi, N=144	Migalastat (n=67)	ERT (n=35)	Nessun trattamento^a (n=42)	
Età all'iscrizione, anni					
	Media (DS)	50,2 (15,3)	52,8 (15,5)	50,4 (13,6)	45,8 (15,5)
	Mediana (intervallo)	52,0 (16- 81)	56,0 (16-78)	52,0 (20- 76)	45,0 (18- 81)
Fasce di età, n (%)					
≥ 10 - <20 anni	2 (1,4)	1 (1,5)	0 (0,0)	1 (2,4)	

B

≥20 - <30 anni	15 (10,4)	7 (10,4)	3 (8,6)	5 (11,9)
≥30 - <40 anni	22 (15,3)	6 (9,0)	4 (11,4)	12 (28,6)
≥40 - <50 anni	24 (16,7)	7 (10,4)	9 (25,7)	8 (19,0)
≥50 anni	80 (55,6)	46 (68,7)	19 (54,3)	15 (35,7)
Mancante	1 (0,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,4)
Sesso, n (%)^b				
Maschio	61 (42,4)	38 (56,7)	18 (51,4)	5 (11,9)
Femmina	82 (56,9)	28 (41,8)	17 (48,6)	37 (88,1)
Etnia, n.(%)				
Asiatico	3 (2,1)	1 (1,5)	1 (2,9)	1 (2,4)
Nero	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Ispanico	26 (18,1)	14 (20,9)	5 (14,3)	7 (16,7)
Caucasica	35 (83,3)	66 (98,5)	31 (88,6)	35 (83,3)
Altro	6 (14,3)	0 (0,0)	3 (8,6)	6 (14,3)

^aMancano informazioni sull'età per 1 paziente nella coorte con nessun trattamento.

^bMancano informazioni di genere per 1 paziente nella coorte con migalastat.

Anamnesi di malattia di Fabry

[00178] Nel complesso, l'età mediana all'esordio dei sintomi era di 45,5 anni nei maschi e di 28 anni nelle femmine nei gruppi di trattamento; la distribuzione dell'età all'esordio dei sintomi per gruppo di trattamento e del genere è mostrata nella Figura 4A. Il tempo mediano tra l'esordio dei sintomi più precoci e la diagnosi era di 1,2 anni nei

maschi e di 1,4 anni nelle femmine (Figura 4B).

[00179] Nella coorte con migalastat, il tempo mediano tra la diagnosi e l'inizio del trattamento era di 2,4 anni nei maschi e di 1,8 anni nelle femmine; nella coorte con ERT, il tempo mediano tra la diagnosi e l'inizio del trattamento era di 0,6 anni nei maschi e di 9,6 anni nelle femmine (Figura 4B).

Anamnesi di trattamento

[00180] Nella coorte con migalastat, il 3,0% dei pazienti era stato precedentemente trattato con ERT.

[00181] Nella coorte con ERT, l'85,7% era stato trattato con ERT prima dell'iscrizione (durata mediana [intervallo] del trattamento con ERT: 1,3 (0-15,6) anni)

Genotipi del paziente

[00182] Il genotipo di GLA è stato giudicato rispettivamente nell'86,6,1%, nell'82,9% e nel 100% delle coorti con migalastat, con ERT e con nessun trattamento. 17 varianti erano presenti in più di 1 paziente e rappresentano il 74,2% dei pazienti con genotipo noto (Tabella 10). La variante più comune era p.N215S (n=24 [18,8%]), una variante associata al fenotipo a esordio tardivo della malattia di Fabry.

Tabella 10. Genotipi dei pazienti rappresentati da ≥1 paziente nel registro followME (popolazione di sicurezza)^a

	Suscettibilità	N. totale=14	Migalastat N=67	ERT N=3	Nessun trattamento N=42
p.N215S	Suscettibile	24	15	2	7

p.R301Q	Suscettibile	10	5	0	5
p.R301G	Suscettibile	9	6	2	1
p.R356W	Suscettibile	7	2	2	3
p.S238N	Suscettibile	7	4	0	3
p.R118C	Suscettibile	6	3	1	2
p.T1941	Suscettibile	5	2	0	3
p.S345P	Suscettibile	5	1	3	1
p.A143T	Suscettibile	4	3	0	1
p.R227Q	Non suscettibile	3	0	2	1
p.F113L	Suscettibile	3	1	2	0
c.1201dup T	Non suscettibile	2	0	0	2
c.1288delT	Non suscettibile	2	0	1	1
p.I232T	Suscettibile	2	1	1	0
p.I317T	Suscettibile	2	1	0	1
p.Q386X	Non suscettibile	2	0	2	0
p.R342Q	Non suscettibile	2	0	1	1

^aQuesto è uno studio in corso. Il genotipo non è stato confermato in 10 e 6 pazienti nei gruppi con migalastat e con ERT, rispettivamente.

Segni e sintomi della malattia di Fabry

B

[00183] I segni e i sintomi della malattia di Fabry riferiti dai pazienti coinvolgono più sistemi di organi (Figura 5A). I segni e sintomi più comunemente riferiti tra i pazienti maschi erano acroparestesia (37,7%), perdita dell'udito (36,1%) e segni e sintomi GI (32,8%) tra i gruppi di trattamento. Tra i pazienti femmina, i segni e sintomi riferiti più comunemente erano segni e sintomi GI (40,2%), cornea verticillata (34,1%) e acroparestesia (34,1%).

[00184] Solo un sottoinsieme di pazienti ha fornito l'età all'esordio per segni e sintomi specifici (Figura 5B). Tra i pazienti maschi con dati, ipoidrosi, segni e sintomi gastrointestinali e acroparestesia sono stati i segni e sintomi più precoci. Tra i pazienti di sesso femminile con dati, cornea verticillata, segni e sintomi GI e acroparestesia sono stati i segni e sintomi più precoci.

[00185] Nelle Figure 5A e 5B, a = Lesioni della sostanza bianca; b = I dati dei sintomi non sono stati raccolti per un piccolo sottoinsieme di pazienti: cornea verticillata (1 paziente con ERT e 1 con migalastat), angiocheratoma (4 pazienti con migalastat), segni e sintomi GI (1 paziente con migalastat), cambiamenti alla RM (4 pazienti con migalastat), linfedema (7 pazienti con migalastat), cambiamenti polmonari (5 pazienti con migalastat); c = I dati dei sintomi di 1 paziente senza nessun trattamento e 1 paziente migalastat non sono stati raccolti per cornea verticillata, angiocheratoma, acroparestesia, ipoidrosi, segni e sintomi GI, perdita dell'udito, linfedema e cambiamenti polmonari. L'anamnesi per RM cerebrale non è stata raccolta per 1 paziente senza nessun trattamento e 3 pazienti con migalastat.

Manifestazioni cardiache

[00186] Le statistiche riassuntive per l'indice di massa ventricolare sinistra (LVMI) sono mostrate nella Tabella 11. I pazienti femmina non trattati hanno avuto il minor coinvolgimento cardiaco sia in termini di LVMI media sia in percentuale di pazienti con ipertrofia ventricolare sinistra (LVH). Tuttavia, ~40% dei pazienti femmina nei gruppi con migalastat e con ERT manifestava LVH.

Tabella 11. Parametri cardiaci in pazienti iscritti nel registro followME (popolazione di sicurezza)

	Maschio			Femmina		
Parametro	Migalastat N=38	ERT N=18	Nessun trattamento N=5	Migalastat N=28	ERT N=7	Nessun trattamento N=37
LVM^a, g/m²						
n	15	12	2	11	10	16
Media (DS)	96,3 (61,6)	83,8 (37,5)	102,4 (63,4)	90,5 (44,5)	87,1 (20,7)	67,7 (21,4)
LVH, n (%)^b	4 (26,7)	2 (16,7)	1 (50)	4 (36,4)	4 (40)	2 (12,5)

^aCalcolato in base a misurazioni ecocardiografiche.

^bLVH definito come valore LVMI al basale $>115 \text{ g/m}^2$ per i maschi e $>95 \text{ g/m}^2$ per le femmine. Le percentuali sono state calcolate in base al numero di pazienti con ecocardiogramma.

Manifestazioni renali

[00198] La maggior parte dei pazienti presenta un coinvolgimento renale in base alle percentuali di pazienti con proteine rilevabili nelle urine (tutti ad eccezione di 1 paziente trattato con ERT) e diminuita velocità di filtrazione glomerulare stimata (dal 33,3% al 55%) nelle coorti senza nessun trattamento, con ERT e con migalastat, rispettivamente (Tabella 12). Nessun paziente era sottoposto a dialisi al momento dell'iscrizione; 1 paziente femmina con ERT aveva avuto un trapianto di rene.

10 **Tabella 12. Malattia renale in pazienti iscritti nel registro followME (popolazione di sicurezza)**

	Maschio			Femmina		
	Migalast at N=38	ERT N=1 8	Nessun trattament o N=5	Migalast at N=28	ERT N=17	Nessun trattament o N=37
eGFR_{CKD-EPI}, ml/min/1,73 m²						
n	33	17	5	20	13	24
Media (DS)	81,7 (29,0)	91,3 (23,9)	66,1 (36,8)	88,5 (15,1)	91,0 (17,5)	100,0 (15,3)

Categoria eGFR_{CKD-EPI}, n (%)						
≥90 ml/min/1,7 3 m ²	16 (48,5)	9 (52,9)	2 (40,0)	9 (45,0)	7 (53,8)	16 (66,7)
≥60 e <90 ml/min/1,7 3 m ²	10 (30,3)	6 (35,3)	1 (20,0)	10 (50,0)	6 (46,2)	8 (33,3)
≥30 e <60 ml/min/1,7 3 m ²	7 (21,2)	2 (11,8)	1 (20,0)	1 (5,0)	0	0
Creatinina, mg/dl						
n	33	16	5	20	15	30
Media (DS)	1,1 (0,4)	1,0 (0,3)	2,6 (3,6)	0,8 (0,2)	1,2 (1,8)	0,7 (0,1)
Proteine nelle urine, mg/dl						
n	27	14	5	12	10	18
Mediana (intervallo)	10,7 (3- 1800)	13,6 (0- 100)	7,1 (4-108)	6,9 (3- 148)	11,5 (2-43)	7,4 (3-500)
Proteine rilevabili nelle urine, n (%)	27 (100,0)	13 (92,9)	5 (100,0)	12 (100,0)	10 (100,0)	18 (100,0)

Anamnesi di eventi cardiaci, renali e cerebrovascolari

[00188] Nei pazienti maschi, eventi cardiaci precedenti (18,0%) erano più comuni rispetto a eventi renali (8,2%) o cerebrovascolari (1,6%); nei pazienti femmina, eventi renali precedenti (7,3%) erano più comuni rispetto a eventi cardiaci (4,9%) o cerebrovascolari (4,9%) (Tabella 13).

Tabella 13. Anamnesi di eventi clinici prima dell'iscrizione nel registro followME (popolazione di sicurezza)

	Maschio			Femmina		
	Migalast at N=38	ERT N=1 8	Nessun trattame nto N=5	Migalast at N=28	ERT N=1 7	Nessun trattame nto N=37
Eventi renali^a, n (%)	1 (20)	1 (5,6)	3 (7,9)	5 (17,9)	0	1 (2,7)
Eventi cardiaci^b, n (%)	7 (18,4)	4 (22, 2)	0	2 (7,1)	0	2 (5,4)
Eventi cerebrovascol ari^c, n (%)	0	1 (5,6)	0	4 (14,3)	0	0

^aGli eventi renali includono lo sviluppo di ESRD che richiede dialisi a lungo termine o trapianto.

^bGli eventi cardiaci includevano infarto del miocardio; palpitazioni come sintomo di aritmia; aritmia sintomatica che richiede terapia, cardioversione a corrente continua o procedura interventistica (ad esempio, ablazione, impianto di pacemaker o di defibrillatore; angina instabile accompagnata da cambiamenti elettrocardiografici che portano al ricovero o accompagnata da peptide natriuretico di tipo B elevato; qualsiasi procedura medica maggiore (ad esempio sostituzione valvolare, impianto di stent o trapianto).

^cGli eventi cerebrovascolari includevano attacco ischemico transitorio e ictus.

[00189] L'analisi delle caratteristiche al basale dei pazienti attualmente iscritti mostra che i pazienti nel registro followME sono rappresentativi di pazienti con malattia di Fabry in contesti del mondo reale.

5 **[00190]** Acroparestesia e segni e sintomi GI sono tra i segni e sintomi di malattia di Fabry più comuni e precoci. La maggior parte dei pazienti presentava un coinvolgimento renale e ~26% dei pazienti ha sperimentato LVH.

10 **[00191]** Rispetto ai pazienti maschi, è più probabile che i pazienti femmina non siano trattati anche se alcuni avevano manifestato segni e sintomi della malattia di Fabry classica. I pazienti femmina presentavano un ritardo molto più lungo tra la diagnosi e l'inizio del trattamento ERT rispetto ai pazienti maschi

[00192] Il follow-up di questi pazienti genererà dati di esito a lungo termine con migalastat, ERT, e l'andamento naturale della malattia di Fabry che forniranno preziose informazioni riguardo all'esperienza del mondo reale con migalastat e altri trattamenti per la malattia di Fabry.

5 **[00193]** Le rivendicazioni allegate non devono essere limitate dalle specifiche forme di realizzazione esposte negli esempi, ma devono essere interpretate nel modo più ampio coerente con la descrizione nel suo insieme.

10 **[00194]** Brevetti, domande di brevetto, pubblicazioni, descrizioni di prodotti, numeri di accesso GenBank e protocolli sono citati in tutta questa domanda.

RIVENDICAZIONI

1. Migalastat o suo sale per uso in un metodo per ridurre il rischio di esiti clinici compositi (CCO) in un paziente femmina avente la malattia di Fabry, in cui il CCO comprende eventi renali, eventi cardiaci, 5 eventi cerebrovascolari e decesso, il metodo comprendendo somministrare al paziente una formulazione comprendente una quantità efficace di migalastat o di un suo sale ogni due giorni per almeno 18 mesi, in cui la quantità efficace è da circa 100 mg a circa 150 mg di equivalente di base libera (FBE).
- 10 2. Migalastat o suo sale per uso secondo la rivendicazione 1, in cui gli eventi renali comprendono uno o più tra: una diminuzione di $eGFR_{CKD-EPI} \geq 15$ ml/min/1,73 m², con l'eGFR diminuita < 90 ml/min/1,73 m² rispetto al basale; o un aumento delle proteine nelle urine delle 24 ore $\geq 33\%$, con proteine elevate ≥ 300 mg rispetto al basale.
- 15 3. Migalastat o suo sale per uso secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui gli eventi cardiaci comprendono uno o più tra: infarto del miocardio; angina cardiaca instabile; nuova aritmia sintomatica che richiede terapia antiaritmica, cardioversione a corrente continua, impianto di pacemaker o di defibrillatore; o insufficienza cardiaca 20 congestizia [classe III o IV della New York Association].
4. Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-3, in cui gli eventi cerebrovascolari comprendono uno o più tra ictus o attacco ischemico transitorio.
- 25 5. Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-4, in cui il migalastat o il suo sale potenzia l'attività di α -

galattosidasi.

6. Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-5, in cui al paziente vengono somministrati circa 123 mg di FBE del migalastat o del suo sale ogni due giorni.

5 **7.** Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-6, in cui al paziente vengono somministrati circa 123 mg di base libera di migalastat ogni due giorni.

8. Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-6, in cui al paziente vengono somministrati circa 150 mg
10 di migalastat cloridrato ogni due giorni.

9. Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-8, in cui la formulazione comprende una forma di dosaggio orale.

10. Migalastat o suo sale per uso secondo la rivendicazione 9,
15 in cui la forma di dosaggio orale comprende una compressa, una capsula o una soluzione.

11. Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-10, in cui il migalastat o il suo sale viene somministrato per almeno 3 anni o per almeno 4 anni.

20 **12.** Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-11, in cui il tasso di incidenza di CCO per un gruppo di pazienti in terapia con migalastat per 18 mesi è inferiore a 1,0 per paziente•anno o inferiore a 0,5 per paziente•anno.

13. Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle
25 rivendicazioni 1-12, in cui il paziente è un paziente già sottoposto a ERT.

B

14. Migalastat o suo sale per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-13, in cui il paziente ha una mutazione in α -galattosidasi A suscettibile al saggio HEK.

*** **

5 Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede.

LEGENDA DELLE TAVOLE DEI DISEGNI

TAVOLA 7/10

Figura 4A

“Distribution of Age of Symptom Onset” = Distribuzione dell'età

5 all'esordio dei sintomi

“% of Patients” = % di pazienti

“Age of Symptom Onset, Years” = Età all'esordio dei sintomi, anni

“Migalastat Male” = Migalastat, maschio

“Migalastat Female” = Migalastat, femmina

10 “ERT Male” = ERT, maschio

“ERT Female” = ERT, femmina

“Untreated Male” = Maschio non trattato

“Untreated Female” = Femmina non trattata

TAVOLA 8/10

15 Figura 4B

“Males” = Maschi

“Females” = Femmine

“Time between earliest symptom onset and diagnosis” = Tempo tra l'esordio dei sintomi più precoci e la diagnosi

20 “Time between diagnosis and treatment initiation” = Tempo tra la diagnosi e l'inizio del trattamento

“Time since initial diagnosis at enrollment” = Tempo dalla diagnosi iniziale all'iscrizione

“Years (median)” = Anni (mediana)

25 “Untreated” = Nessun trattamento

TAVOLA 9/10

Figura 5A

“Males” = Maschi

“Females” = Femmine

5 “Acroparesthesias” = Acroparestesia

“GI signs and symptoms” = Segni e sintomi GI

“Hearing loss” = Perdita dell'udito

“Corneal whirling” = Cornea verticillata

“Angiokeratomas” = Angiocheratomi

10 “Hypohidrosis” = Ipoidrosi

“Pulmonary changes” = Cambiamenti polmonari

“Lymphedema” = Linfedema

“Brain MRI changes” = Cambiamenti alla RM cerebrale

“Proportion of Patients” = Proporzione di pazienti

15 “Untreated” = Nessun trattamento

TAVOLA 10/10

Figura 5B

“Males” = Maschi

“Females” = Femmine

20 “Acroparesthesias” = Acroparestesia

“GI signs and symptoms” = Segni e sintomi GI

“Hearing loss” = Perdita dell'udito

“Corneal whirling” = Cornea verticillata

“Angiokeratomas” = Angiocheratomi

25 “Hypohidrosis” = Ipoidrosi

“Pulmonary changes” = Cambiamenti polmonari

“Lymphedema” = Linfedema

“Brain MRI changes” = Cambiamenti alla RM cerebrale

“Median (range) age, years” = Età mediana (intervallo), anni

5 “Untreated” = Nessun trattamento

*** **

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede.

B

ctgtaggggcagagagggtctacttcaactactgcgtctcctgggaaggccatcag	ccott
gactgctggcctaaagtgggaaccaggactccttggtaggttaagaatttgggtatttat	60
gtgtgttatacacattttttaaactgtaacgacatcaggttgagcagtcgtctccgg	120
gtggggaattatgtgtatttttaaactttatactatattgttatttttcaaagtgtogaa	180
attgaatatgtagattgttgtttatcagcagaaaaataaacattattcaaatactctattc	240
agtaaagtaatttattggggccttggtaagcaacgatttgcoctagatgtgactctaca	300
gataaaattcacttggggcctccccctacagacaatcaggcagtgagagactgagtgcoctg	360
aatggatagaccagcactcagaccactattttcagtatctgtttttcttaactcaggggc	420
gtggttttcaaacggttttctgccttaccgtcacccttagggctccccgagaccggccag	480
acagacagatatacaaaaacacatacacagtcgatgagcgtccaccatttccccaccaggc	540
gcagccaccggcgttccccgcactgagatgggggggagggaggagagcgcagggggg	600
gaggggaaagcagagaaacgaaagaggogggagggggccccgaacccogctctggcttca	660
tcatacccccctgggtccccagttccccaccacacacccaacctctaaccgataccgggt	720
aattttctctctctctctctcaaacggctatagcagagcggtagacgacgaccagaacta	780
cttctgctcagtaagcagtaatacagtgagcgcctacgtcatgtgagatctcggctac	840
gtgagcaactctcgggttaaactcgggatcaactaagggtgcgcgactctctctcgttgg	900
aaataggggcgggtcaatatacaagaaaggaaagggtgattgggtagcggaaactctacg	960
tgactgattatgggtctacctctggggataaccgtcccagttgcccagagaaacaataacg	1020
tcattatataaagtcacatgggtgattgggtccgcctcaggttaactctaaaagcccag	1080
gttaccgcgggaaatttatgctgtccgggtcaccgtgacaatgcagctgaggaaccagaa	1140
ctacatctgggtcgcgcttgcgcttgcctctcctggcctcgtttctctgggacatcct	1200
ggggctagagcactggacaatggattggcaaggacgcctaccatgggctggctgcactgg	1260
gagcgtctcatgtgcaaccttgactgccagggaagagccagattcctgcatacaggtatcag	1320
atattgggtactcctctccttctgttttccatgtgtttgggtgtgtttggggaaactgga	1380
gagctcacaacgggaacagttgagcccgaggagagctcccccaaccgactctgctgctgc	1440
ttttttatcccagcaaacgtcccgaatcaggactagccctaaactttctctgtgtgac	1500
ctttctgggatgggagtcggccagcggccctgtttcttctctctctctctctctct	1560
cgttct	1620
ttctctttttcactgctccttgacagcagggccacccccataggcaggtgtgcccaggt	1680
agccctgcccgggtctctatcagaccctctctgtgaactctctgctctctctctgcccgggtg	1740
ctaacogttagaacatctagggtgggtaggaggaatggggaactaagattcgtgcoattt	1800
ttctctcttttggggctcgtggattctcggcagtatctcgaggagttagagagaccata	1860
aggctcgtgagatctccccactcggccatgagcgtggcatcaggctggaagggtgaca	1920
tgagggaactttatacatttaacactttgcgtgaggggtgagcgtggattagataggat	1980
tgacacatctgacccctcacaactcttatctgtaaaattgggatatacaaccttttaatttc	2040
agggagctgacaaaaaaaaatctgaaaaatagttcttatctcacacaggtgagtttcaag	2100
gagataacctatttaagtaacatagcacagcgttgaccattcaactgcgcttacagagc	2160
aaatgttcaatgggaaaaatgaatgtaaatctacaaaatctgaatgaatagtggtattttc	2220
tggagagaggatattacctttcttcaaatctcacaagggtctgtgatttaaaaaagggt	2280
taggaatcactgatagatgttggtaaaagggtggcagtcacagtaacattctgtgtccata	2340
agttattcctatgaatatctttatagataaagtcaggatgttggtcagacatcacagaag	2400
aaatggccttgtatgtttctatgtgacccctgtggtaacagtatgtgtggcaattttgccc	2460
tcacggatttttttttattgggtatttgcactctgattataaaactaatgcatgatcattgc	2520
aaaaaatgtagataaagaagagcaaaaatgaaaataaagatttcccccaaccgttccacca	2580
ccagaaaataatcattggtttaaatgtaatacaaaccttacaattgtttctatataaaa	2640
tgaaaaacatagattcttttattcattattttccataaaaaatggatcattgtttatgtca	2700
tgtttggctaatggcaagaccctggcaccagctcgggctcaaatctgcctcattgtta	2760
cttagccctgtgacattgggtaaatataactttttttttttttttttttttggagcgggg	2820
	2880

FIG.1A

B

tctatcaacagtgcttccaccagtatctctaaaaatctctctgaatcagcccacttctt 8700
ccatcttcaactacatgcacctggccttccaagctactatcggctctcaaccagactgct 8760
gggacccacctgatctctctgcttccactctgtctcaacccccatctattttccaagcagc 8820
actagagttatcatattaaaaatgtaaatatcagtttttttttaagaaaaaacctga 8880
gacttaacagagttataaaaaatataaatgtcatcactcagttccctgcttaaacctta 8940
aactcgttcccaattgcacttggaaatgaaacaaaactgcactgatccagcccttgcctgcc 9000
tccccaaagtcgaaggggtcatggctctttccctggctacactggttttctttctgtccc 9060
tcaacactgcaagcctatttgcctgccccagggcctttacacttgcctttttctgtcctaga 9120
acagttcttccccaaagatttttaaggggcgggctccttaacatggaagtgcagacca 9180
aacgccacatatagcagacagttcttctctaactactt.aaaatagccctctgtccattca 9240
ttcttcatcacattaacctgtttaattttctctcagagctccacactatttgggaagtat 9300
ttggtgacttgttaccatgtctccccactagagtgtaagtttcatgagggcagggacctt 9360
gtctgaacttgaactgtatctctcgcataaggttaagtggttaaatagttattatggaatg 9420
aatccctattatccctcattatctctgcaaaaatagctctttttctcaacatcttaacc 9480
tgatataccacactgctatctacaaaacttttttttggcgaacagagctcactgtcaccca 9540
ggctagagtgcaagtgccgcctctcggctcactgcaacctccgcctccgggttttaagcg 9600
attctcttgcctcagcctcccagtagctgggattatagggctgctaccacatctggct 9660
aatttttgtatttttagtagagatgggtttcaacctgttggcaggcttgtctcgaactcc 9720
tgacctcagatgatccacctgctcggcctcccaagtgctgggattacaggoatgagcc 9780
accgtgcccagcctctacaaaactttttattccattacaaaactatagctgggatttaag 9840
ttttcttaacttgaaggagctcctatgtaatttctgagcttttaatttactaagacca 9900
ttttagttctgattatagaagttaattaaactttagggatttcaagttatagggcctact 9960
ctggaagcaaacctcttcaagtgaaaattcattataagggttttagacctccttatggaga 10020
cgttcaactctgtaaacctcaagagaaaggtacaagtgccctctttaaactgttttcatctc 10080
acaaggatggttagtagaaagttaaacagaagagtcatactgttttccacagcccaattata 10140
cagaaaatccgacagtaactgcaatcactggcgaatatttgcagacattgatgatctcggga 10200
aaagtataaagagtatcttggactggacatcttttaaccaggagagaaattggtgatgttg 10260
ctggaccagggggttggaaatgacccagataggttaaaaacttgagccctccttgttcaag 10320
accctgcggtaggcttgtttcctattttgacattcaaggtaaatcacaggtaaagttcctg 10380
ggaggaggctttatgtgagagtacttagagcaggatgctgtggaaaagtggtttctccata 10440
tgggtcatctaggtaactttaagaatggtttcctcctctcttgtttgaattatttcattct 10500
ttttctcagtttagtgattggcaactttggcctcagctggaatcagcaagtaactcagatg 10560
gacctctgggctatcatggctgctcctttattcaggtctaatgacctcgaacacatcagc 10620
cctcaagccaaagctcctctcaggataaggacgtaattgccaatcaatcaggacccttg 10680
ggcaagcaagggtaaccagcttagacaggttaataagagtataatattttagatggcttta 10740
tatacccaataaccaactttgtcttgggcctaaatctattttttcccttgcctcttgatgt 10800
tactatcagtaataaagcttcttgcagaaaacttactttatttccaaaataatgctaca 10860
ggatcatttttaatttttcccaagtgcttgatagttctgacattaaagaatgaatgocaa 10920
actaacaggggocacttatcactagttgctaaagcaaccacactttcttgggttttccagga 10980
gacaactttgaagtggtgggaacgacctctctcaggttagcctgggctgtagctatgata 11040
aacgggcaggagattgggtggacctcgtctctataccatcgcagttgcttccctgggtaaa 11100
ggagtgggctgttaactcctgctgcttcatcaacacagctcctccctgtgaaaagggaagcta 11160
gggttctatgaatggacttcaaggttaagaagtcacataaatcccacaggaactgttttg 11220
cttcagctagaaaaatacaatgcagatgtcattaaaaagacttactttaaaatggtttat 11280
attgccaactactacttctgtccaccttttctccattcactttaaaagctcaaggcta 11340
gggtgctcatgctgttaatcccagcactttgggaggtgagggcggcagatcacctgagg 11400
tgggactttgagaccgcctggacaacatggtgaaaccccatttctaataaaaaataaa 11460
aaattagccaggtgtggtggcgcacctgtggtcccagctactctggggctgagggcatga 11520

FIG.1D

B

```
gaatcgcttgaaccgggagtgagggttcattgagctgagatcatgccacctcactcca 11580
gcctgggcaacaaaagattccatctcaaaaaaaaaaaaaagccaggcacagtggtcatg 11640
cctggaatcccagcacttttgaagctgaggcaggcagatcacttgaggttaggatttca 11700
agaccagcctggctaacatagtaaaagccctgtctctactaaaaatacaaaaattagccag 11760
gtatggtggcgagcttctgtagccccagctactcaggagactgaggcaggagaatcactt 11820
gaaccogggaaagtgggggggtgcagtgaccaagatcacgccaactgcattccagcctggg 11880
caacagagcaagactccatctcaaaaaaaaaaagttctatttcocttgaataaaaatttccg 11940
aagtttaaaacttttaggaataaaaactatataaacccgtatttactcatccagatcccaccc 12000
cccttgttgagattctctccaattatcaaaatggttagcatatttaactaccaagagct 12060
aaacatcattaaagactgaaatgtattaagaaggagtataggccaggcacggtgtctcac 12120
gctgtaatcccaacactttgggaggccaagtggggcggatcacgaggtcaggagatgga 12180
gaccatcctggccaacatggtgaaaccccctctctactaaaaatacaaaaattagccagg 12240
caggtggcaggcactgtaatcccagctactccagaggctgaggcaggacaatcacttga 12300
acctgggaggcagaggctgcagtgagctgaggttgtaccaattgcactccagcctaggt 12360
acgagoaacactccatctcaaaaaagaaaaaaaaaagatgtataatttggactgtta 12420
agaggaattttaaaga 12436
```

FIG. 1E

B

MQLRNPELHL	GCALALRFLA	LVSWDIPGAR	ALDNLARTP	TMGWLHWERF	MCNLDCQEEP	60
DSCISEKLFM	EMAELMVSEG	WKDAGYEYLC	IDDCWMAPQR	DSEGRLOADP	QRFPHGIRQL	120
ANYVHSKGLK	LGIYADVGNK	TCAGFPGSFG	YYDIDAQTFA	DWGVDLLKFD	GCYCDSLENL	180
ADGYKHMSLA	LNRTGRSIVY	SCEWPLYMWP	FQKPNYTEIR	QYCNHWRNEA	DIDDSWKSJK	240
SILDWTSFNQ	ERIVDVAGPG	GWNDPDLVI	GNFGLSWNQ	VTQMALWAIM	AAPLFMSNDL	300
RHISPOAKAL	LQDKDVIAIN	QDPLGKQGYQ	LRQGNFEVW	ERPLSGLAWA	VAMINRQEIG	360
GPRSYTIAVA	SLGKGVACNP	ACFITQLLPV	KRKLGFYEW	SRLRSHINPT	GTVLLQLENT	420
MQMSLKDLL						429

FIG.2

Atgcagctgaggaaatccogagctccactgggctgtgctctggctctgoggttccctggcc	60
Ctctgtgctcctgggacatccctggcgttagggccctcgataacggactggcccgaccccc	120
Acaatgggatggctccactgggaaaggttcatgtgcaatctggactgtcaggaggaacc	180
Gactcctgcatcagcgaagctcttcatggagatggcogagctgatggtgagcggagggc	240
Tggaaggacgocggctacgagtatctgtgcatcgatgactgctggatggccctcaaagg	300
Gactccgaaggcaggctgcaggctgatccccaaaggttccccacggaaatccggcagctc	360
Gccaactacgtgcatccaaggcctcaagctcggcatctacgccgactgggcaacaaa	420
Acatgocccggattccccggcagcttcggctactacgacatcgacgcccagacattcgtc	480
Gattggggagtggaacctgctgaagttcgacggctgttactgctgattccctggaaaacctg	540
Gccgacggctacaaacacatgtccctcgccctgaaccggacagggcaggtccatcgtgtac	600
Agctgogagtgccctgtacatgtggcctttccagaagcccaactacacagagatcagg	660
Cagtaactgcaaccactggaggaacttcgctgacatcgacgactcctggaagagcatcaag	720
Agcatcctggactggaccagcttcaaccaggagagatcgtggacgtggctggaccoggga	780
Ggctggaacgacccccgatatgctggtgattggcaacttcggactgagctggaaccagcag	840
Gtgacccagatggccctgtgggcccattatggcogctccctgttcatgtccaacgacctg	900
Aggcacatcagccccaggcccaaggctctgctgcaggacaaggatgtgatcgccatcaac	960
Caggacccccctgggcaagcaggctaccagctgagggcaaggagataacttcgaggtgtgg	1020
Gagaggccccctgtccggactggcttgggcccgtggccatgatcaatcggcaggagatcggc	1080
Ggacccccgtcctacaccattgctgtggccagcctgggaaaaggagctcgcctgcaacccc	1140
Gcctgcttcattaccagctgctccccgtgaagcggaaagctgggcttctatgagtgacc	1200
Agcaggctgaggtcccatatcaatcctaccggcaaccgtccctccagctcgagaataacc	1260
Atgcagatgagcctcaaggatctgctgtga	1290

FIG.3

Distribution of Age of Symptom Onset

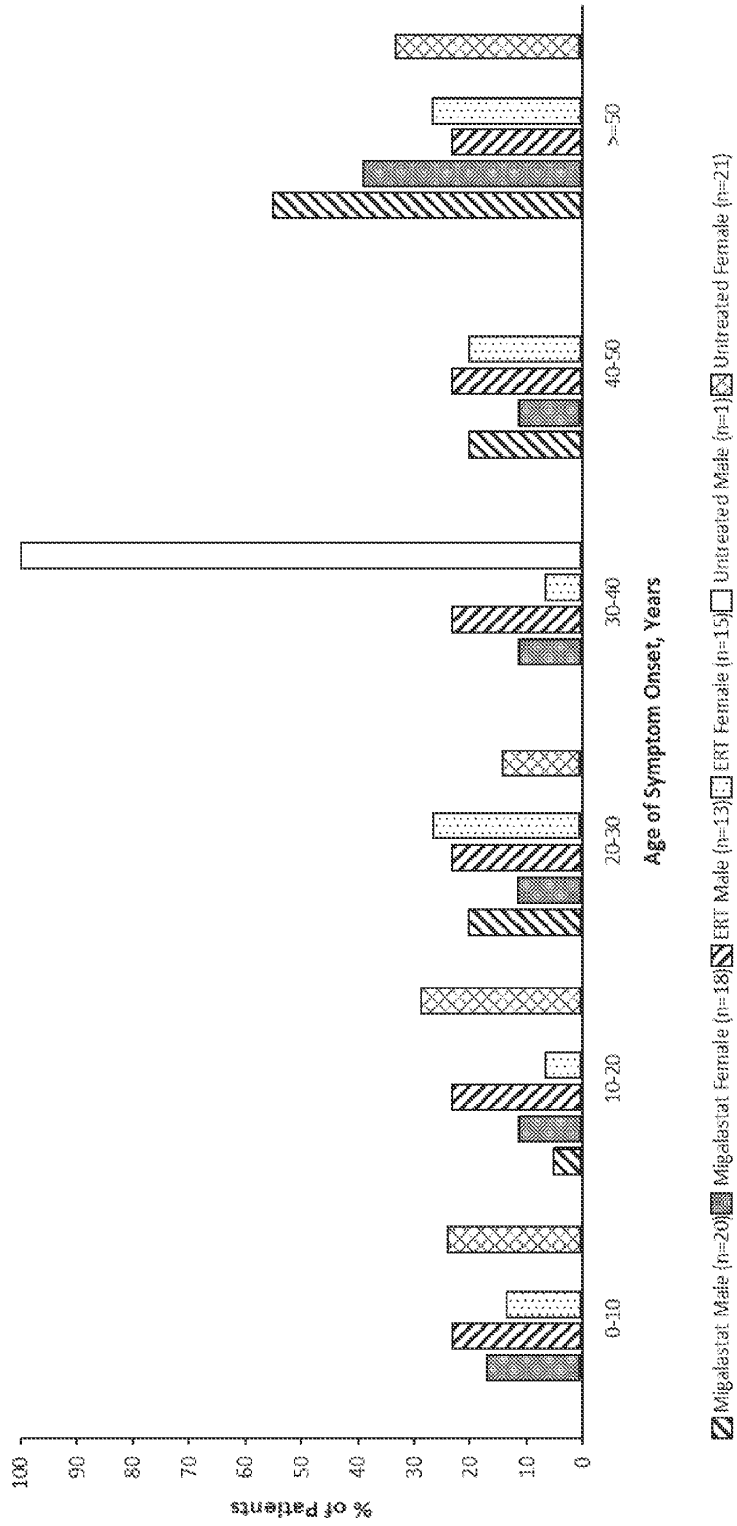


FIG. 4A

B

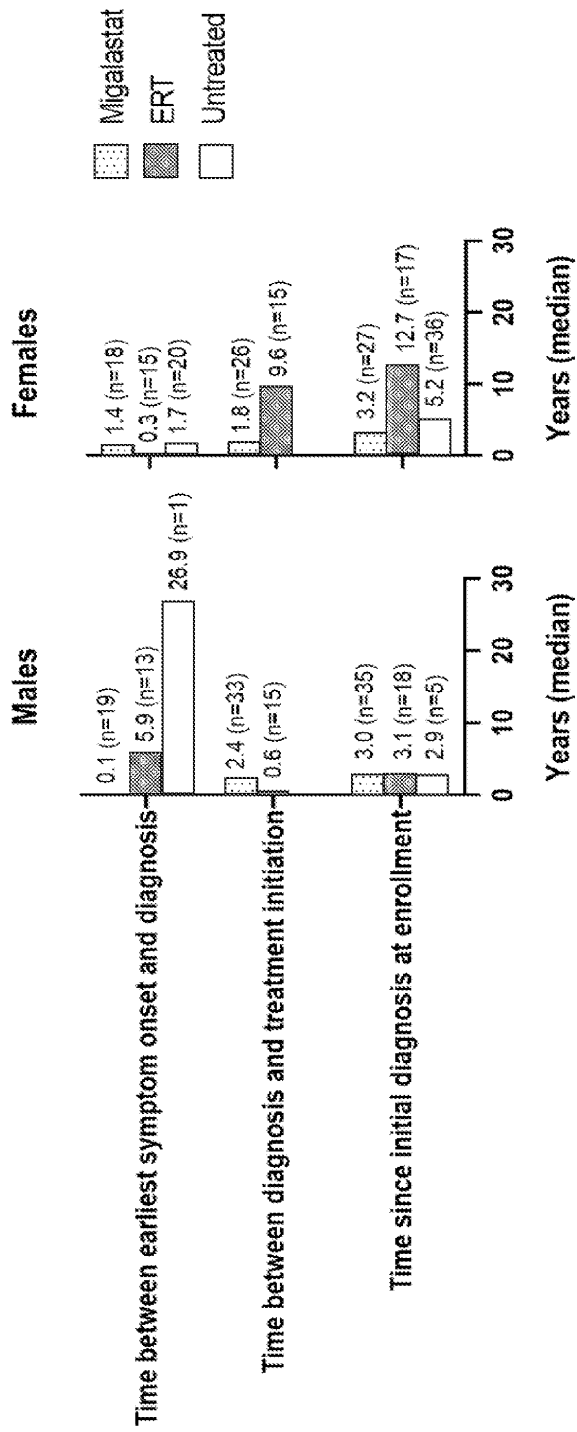


FIG. 4B

BR

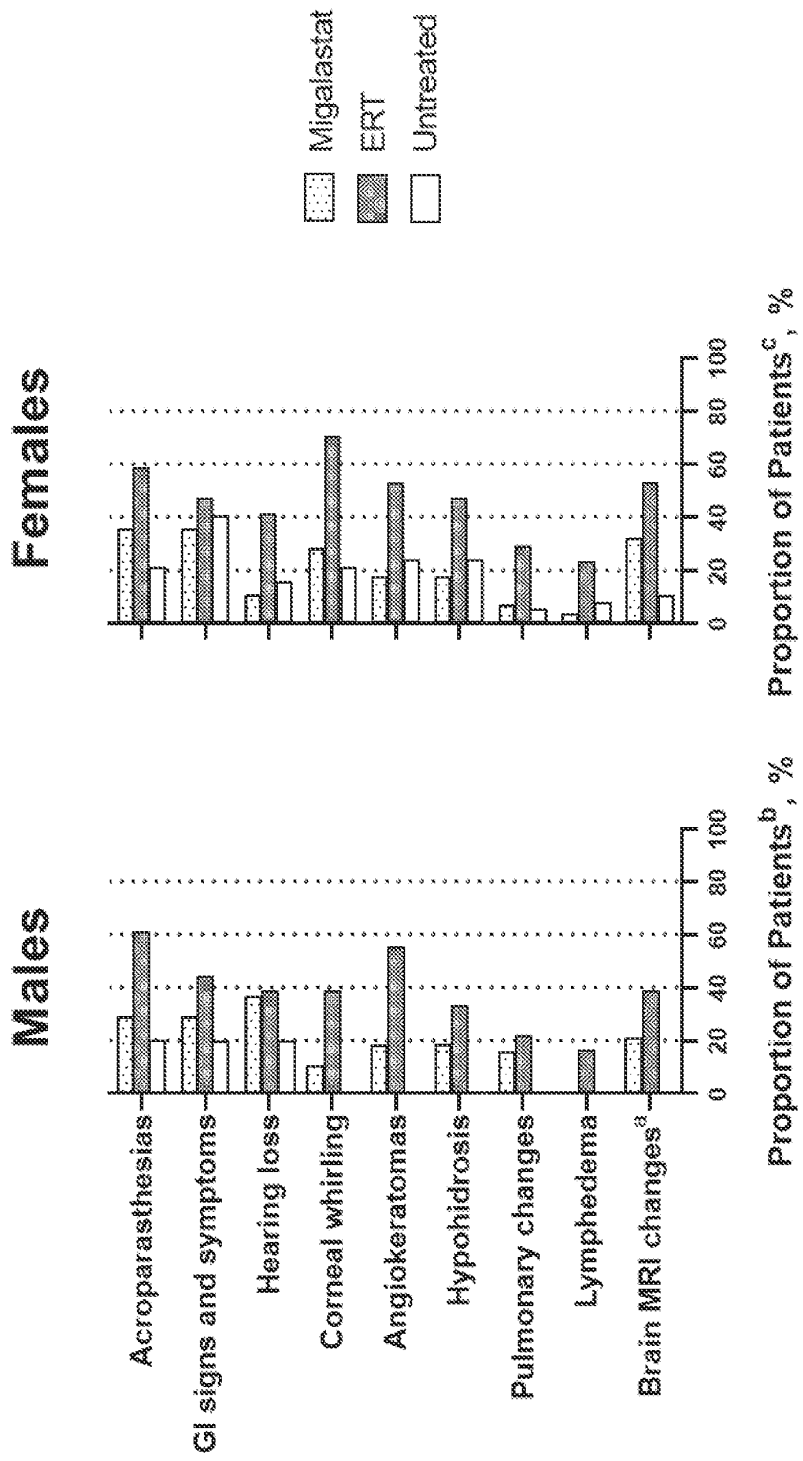


FIG. 5A

B

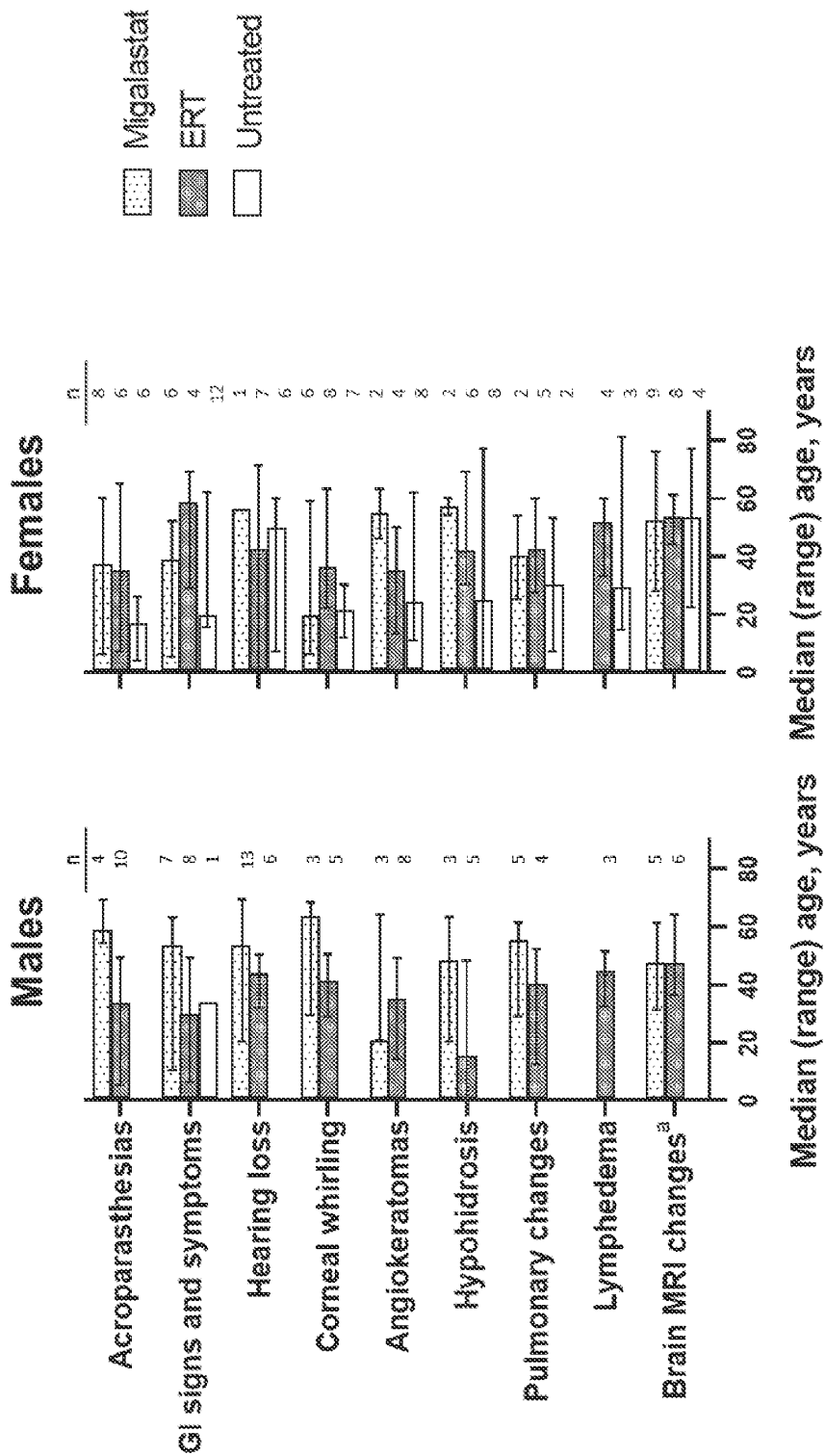


FIG. 5B

B