

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 002 433**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/445** (2006.01)

**A61P 13/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2018** **E 22165669 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2024** **EP 4062916**

54 Título: **Tratamiento de pacientes de Fabry que tienen determinadas mutaciones**

30 Prioridad:

**30.05.2017 US 201762512458 P**

**06.02.2018 US 201862626953 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la  
traducción de la patente:

**06.03.2025**

73 Titular/es:

**AMICUS THERAPEUTICS, INC. (100.00%)**

**3675 Market Street  
Philadelphia, PA 19104, US**

72 Inventor/es:

**CASTELLI, JEFF**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por la  
Oficina Europea de Patentes

ES 3 002 433 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Tratamiento de pacientes de Fabry que tienen determinadas mutaciones

5 **CAMPO TÉCNICO**

Los principios y las realizaciones de la presente invención se refieren en general a migalstat o la sal del mismo para su uso en el tratamiento de enfermedad de Fabry, particularmente en pacientes con diversos grados de disfunción renal.

10 **ANTECEDENTES**

Muchas enfermedades humanas resultan de mutaciones que provocan cambios en la secuencia de aminoácidos de una proteína que reducen su estabilidad y pueden impedir que se pliegue correctamente. En general, las proteínas se pliegan en una región específica de la célula conocida como el retículo endoplásmico, o RE. La célula tiene mecanismos de control de calidad que garantizan que las proteínas se plieguen en su forma tridimensional correcta antes de que puedan moverse del RE al destino apropiado en la célula, un proceso generalmente denominado tráfico de proteínas. Las proteínas mal plegadas suelen ser eliminadas por los mecanismos de control de calidad tras ser retenidas inicialmente en el RE. En algunos casos, las proteínas mal plegadas pueden acumularse en el RE antes de ser eliminadas. La retención de proteínas mal plegadas en el RE interrumpe su tráfico adecuado, y la reducción de la actividad biológica resultante puede conducir a un deterioro de la función celular y, en última instancia, a la enfermedad. Además, la acumulación de proteínas mal plegadas en el RE puede conducir a diversos tipos de estrés en las células, lo que también puede contribuir a la disfunción celular y a la enfermedad.

Dichas mutaciones pueden dar lugar a trastornos por almacenamiento lisosómico (LSD), que se caracterizan por deficiencias de enzimas lisosómicas debidas a mutaciones en los genes que codifican las enzimas lisosómicas. La enfermedad resultante provoca la acumulación patológica de sustratos de esas enzimas, que incluyen lípidos, hidratos de carbono y polisacáridos. Aunque hay muchos genotipos mutantes diferentes asociados a cada LSD, muchas de las mutaciones son mutaciones de aminoácido que pueden conducir a la producción de una enzima menos estable. Estas enzimas menos estables a veces son degradadas prematuramente por la vía de degradación asociada al RE. Esto provoca la deficiencia de la enzima en el lisosoma y la acumulación patológica de sustrato. Dichas enzimas mutantes se denominan a veces en la técnica pertinente "mutantes de plegamiento" o "mutantes conformacionales".

La enfermedad de Fabry es una LSD causada por una mutación en el gen GLA, que codifica la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A ( $\alpha$ -Gal A). La  $\alpha$ -Gal A es necesaria para el metabolismo de los glucoesfingolípidos. La mutación hace que el sustrato globotriaosilceramida (GL-3) se acumule en diversos tejidos y órganos. Los varones con enfermedad de Fabry son hemigotos porque los genes de la enfermedad están codificados en el cromosoma X. Se calcula que la enfermedad de Fabry afecta a 1 de cada 40.000 y 60.000 varones, y es menos frecuente en las mujeres.

Existen varios enfoques para el tratamiento de la enfermedad de Fabry. Una terapia aprobada para tratar la enfermedad de Fabry es la terapia de reemplazo enzimático (TRE), que normalmente consiste en la infusión intravenosa de una forma purificada de la correspondiente proteína de tipo salvaje. Actualmente existen dos productos de  $\alpha$ -Gal A para el tratamiento de la enfermedad de Fabry: agalsidasa alfa (Replagal®, Shire Human Genetic Therapies) y agalsidasa beta (Fabrazyme®, Sanofi Genzyme Corporation). Sin embargo, la TRE presenta varios inconvenientes. Una de las principales complicaciones de la TRE es la rápida degradación de la proteína infundida, que conduce a la necesidad de numerosas y costosas infusiones de dosis elevadas. La TRE tiene varios inconvenientes adicionales, tales como las dificultades con la generación a gran escala, la purificación y el almacenamiento de la proteína correctamente plegada; la obtención de proteína nativa glicosilada; la generación de una respuesta inmunitaria anti-proteína; y la incapacidad de la proteína para atravesar la barrera hematoencefálica para mitigar las patologías del sistema nervioso central (es decir, baja biodisponibilidad). Además, la enzima de reemplazo no puede penetrar en el corazón o el riñón en cantidades suficientes para reducir la acumulación de sustrato en los podocitos renales o los miocitos cardíacos, que ocupan un lugar destacado en la patología de Fabry.

Otro enfoque para tratar algunas deficiencias enzimáticas implica el uso de inhibidores de molécula pequeña para reducir la producción del sustrato natural de las proteínas enzimáticas deficientes, mejorando así la patología. Este enfoque de "reducción del sustrato" se ha descrito específicamente para una clase de aproximadamente 40 LSD que incluyen trastornos de almacenamiento de glucoesfingolípidos. Los inhibidores de molécula pequeña propuestos para su uso como terapia son específicos para inhibir las enzimas implicadas en la síntesis de glucolípidos, reduciendo la cantidad de glucolípido celular que debe ser descompuesto por la enzima deficiente.

Un tercer enfoque para tratar la enfermedad de Fabry ha sido el tratamiento con las denominadas chaperonas farmacológicas (PC). Estas PC incluyen inhibidores de molécula pequeña de  $\alpha$ -Gal A, que pueden unirse a la  $\alpha$ -Gal A para aumentar la estabilidad tanto de la enzima mutante como de la natural correspondiente.

La versión de mayo de 2016 del resumen de características del producto (SmPC) de Galafold (migalastat) de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) enumera mutaciones GLA que son tributarias de tratamiento con Galafold. Estas mutaciones no incluyen las mutaciones de la presente invención.

Un problema de los tratamientos actuales es la dificultad para tratar a los pacientes con disfunción renal, que es muy común en los pacientes de Fabry y progresa con la enfermedad. En promedio, los pacientes tardan entre 10 y 20 años en pasar de una función renal normal a una disfunción renal grave, informando algunos países de deterioros incluso más rápidos. Según algunas estimaciones, aproximadamente el 10 % de los pacientes de Fabry que reciben TRE pueden tener disfunción renal moderada. Otro 25 % de los varones y el 5 % de las mujeres que reciben TRE tienen una velocidad de filtración glomerular estimada (FGe) inferior a 30, lo que corresponde a una disfunción renal grave o incluso a una insuficiencia renal. De ellos, aproximadamente la mitad tiene disfunción renal grave y aproximadamente la mitad está en diálisis.

Lamentablemente, la disfunción renal progresará a pesar del tratamiento TRE. Un paciente con una FGe de 30 puede deteriorarse hasta el punto de necesitar diálisis en un plazo de dos a cinco años. Aproximadamente el 30 % de los pacientes que reciben TRE acabarán en diálisis o necesitarán un trasplante de riñón, dependiendo del inicio de TRE. Cuanto antes se inicie la TRE, más tiempo podrá preservarse la función renal, pero el inicio de la TRE puede retrasarse porque la enfermedad de Fabry es rara y a menudo se diagnostica erróneamente.

Además, y como se ha comentado anteriormente, la TRE a menudo no penetra lo suficiente en los riñones para reducir la acumulación de sustrato, permitiendo así un mayor daño durante la progresión de la enfermedad. Con el tratamiento con CP, los riñones son a menudo el medio por el que se elimina el fármaco del organismo, y la alteración renal puede afectar a la farmacocinética y/o farmacodinámica del fármaco. Por lo tanto, sigue siendo necesario un tratamiento para los pacientes de Fabry que tienen disfunción renal.

## SUMARIO

La presente invención se refiere a migalastat o la sal del mismo para su uso en el tratamiento de enfermedad de Fabry en un paciente que tiene una proteína  $\alpha$ -galactosidasa A que comprende una mutación sensible a un ensayo HEK seleccionada del grupo que consiste en N34D, N34T, G35V, I133M, F145S, P146R, L167V, L180W, R196G, M208R, I219L, Q221P, N224T, I242T, Q250R, Q250H, G261S, G261C, I303F, K326N, F337S, E358Q y G375E. La presente invención se define además en las reivindicaciones adjuntas.

Los pacientes de Fabry pueden tener disfunción renal y/p proteinuria elevada. Dicho tratamiento puede incluir la estabilización de la función renal, la reducción del índice de masa ventricular izquierda (LVMI), la reducción de la globotriaosilesfingosina (liso-Gb<sub>3</sub>) plasmática y/o el aumento de la actividad  $\alpha$ -Gal A en el paciente.

En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal, comprendiendo el tratamiento administrar al paciente una cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a una frecuencia de una vez cada dos días. En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de equivalente de base libre (FBE).

En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada.

En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve.

En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal moderada.

En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal grave.

En una o más realizaciones, el paciente es un paciente con tratamiento previo con TRE.

En una o más realizaciones, el paciente es un paciente sin tratamiento previo con TRE.

En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria inferior a 100 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.

En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.

En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.

En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo potencia la actividad de  $\alpha$ -Gal A en el paciente. En una o más realizaciones, la actividad de  $\alpha$ -Gal A es la actividad de  $\alpha$ -Gal A de glóbulos blancos (WBC).

- En una o más realizaciones, la administración de migalastat o la sal del mismo es eficaz para reducir el LVMi en el paciente.
- 5 En una o más realizaciones, la administración de migalastat o la sal del mismo es eficaz para estabilizar liso-Gb<sub>3</sub> plasmática en el paciente.
- En una o más realizaciones, la administración de migalastat o la sal del mismo es eficaz para estabilizar la función renal en el paciente.
- 10 En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de FBE.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de base libre de migalastat.
- En una o más realizaciones, la sal de migalastat es clorhidrato de migalastat.
- 15 En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 150 mg de clorhidrato de migalastat.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo está en una forma farmacéutica oral. En una o más realizaciones, la forma farmacéutica oral comprende un comprimido, una cápsula o una disolución.
- 20 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 28 días.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 6 meses.
- 25 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 12 meses.
- En diversas realizaciones, el tratamiento estabiliza la función renal en un paciente diagnosticado con enfermedad de Fabry y que tiene disfunción renal. En diversas realizaciones, el tratamiento comprende administrar al paciente aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de FBE de migalastat o la sal del mismo a una frecuencia de una vez cada dos días.
- 30 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve.
- 35 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal moderada.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal grave.
- 40 En una o más realizaciones, el paciente es un paciente con tratamiento previo con TRE.
- En una o más realizaciones, el paciente sin tratamiento previo con TRE.
- 45 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria inferior a 100 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 50 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria de superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo potencia la actividad de α-Gal A.
- 55 En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de FBE.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de base libre de migalastat.
- En una o más realizaciones, la sal de migalastat es clorhidrato de migalastat.
- 60 En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 150 mg de clorhidrato de migalastat.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo está en una forma farmacéutica oral. En una o más realizaciones, la forma farmacéutica oral comprende un comprimido, una cápsula o una disolución.
- 65 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 28 días.

- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 6 meses.
- 5 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 12 meses.
- En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes que tienen disfunción renal leve o moderada proporciona una tasa media anualizada de cambio en  $FG_{\text{eCKD-EPI}}$  superior a  $-1,0 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .
- 10 En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes que tienen disfunción renal leve proporciona una tasa media anualizada de cambio en  $FG_{\text{eCKD-EPI}}$  superior a  $-1,0 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .
- 15 En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes que tienen disfunción renal moderada proporciona una tasa media anualizada de cambio en  $FG_{\text{eCKD-EPI}}$  superior a  $-1,0 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .
- En diversas realizaciones, el tratamiento estabiliza liso-Gb<sub>3</sub> plasmática en un paciente diagnosticado con enfermedad de Fabry y que tiene disfunción renal. En diversas realizaciones, el tratamiento comprende administrar al paciente aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de FBE de migalastat o la sal del mismo a una frecuencia de una vez cada dos días.
- 20 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada.
- 25 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal moderada.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal grave.
- 30 En una o más realizaciones, el paciente es un paciente con tratamiento previo con TRE.
- En una o más realizaciones, el paciente es un paciente sin tratamiento previo con TRE.
- 35 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria inferior a 100 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 40 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria de superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 45 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo potencia la actividad de  $\alpha$ -Gal A.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de FBE.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de base libre de migalastat.
- 50 En una o más realizaciones, la sal de migalastat es clorhidrato de migalastat.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 150 mg de clorhidrato de migalastat.
- 55 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo está en una forma farmacéutica oral. En una o más realizaciones, la forma farmacéutica oral comprende un comprimido, una cápsula o una disolución.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 28 días.
- 60 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 6 meses.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 12 meses.
- 65 En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes sin tratamiento previo con TRE que tienen disfunción renal moderada proporciona una reducción media de liso-Gb<sub>3</sub> plasmática de al menos aproximadamente 5 nmol/l después de 24 meses de la administración de migalastat o la sal del mismo.

- 5 En diversas realizaciones, el tratamiento reduce LVMi en un paciente diagnosticado con enfermedad de Fabry y que tiene disfunción renal. En diversas realizaciones, el tratamiento comprende administrar al paciente aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de FBE de migalastat o la sal del mismo a una frecuencia de una vez cada dos días.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada.
- 10 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal moderada.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal grave.
- 15 En una o más realizaciones, el paciente es un paciente con tratamiento previo con TRE.
- En una o más realizaciones, el paciente es un paciente sin tratamiento previo con TRE.
- 20 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria inferior a 100 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 25 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo potencia la actividad de  $\alpha$ -Gal A.
- 30 En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de FBE.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de base libre de migalastat.
- En una o más realizaciones, la sal de migalastat es clorhidrato de migalastat.
- 35 En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 150 mg de clorhidrato de migalastat.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo está en una forma farmacéutica oral. En una o más realizaciones, la forma farmacéutica oral comprende un comprimido, una cápsula o una disolución.
- 40 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 28 días.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 6 meses.
- 45 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 12 meses.
- En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes sin tratamiento previo con TRE que tienen disfunción renal moderada proporciona una reducción media de LVMi de al menos aproximadamente 2 g/m<sup>2</sup> después de 24 meses de la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 50 En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes con tratamiento previo con TRE que tienen disfunción renal moderada proporciona una reducción media de LVMi de al menos aproximadamente 2 g/m<sup>2</sup> después de 18 meses de la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 55 En diversas realizaciones, el tratamiento aumenta la actividad de  $\alpha$ -Gal A de WBC en un paciente diagnosticado con enfermedad de Fabry y que tiene disfunción renal. En diversas realizaciones, el tratamiento comprende administrar al paciente aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de FBE de migalastat o la sal del mismo a una frecuencia de una vez cada dos días.
- 60 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve.
- 65 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal moderada.

- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal grave.
- 5 En una o más realizaciones, el paciente es un paciente con tratamiento previo con TRE.
- En una o más realizaciones, el paciente es un paciente sin tratamiento previo con TRE.
- 10 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria inferior a 100 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 15 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de FBE.
- 20 En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de base libre de migalastat.
- En una o más realizaciones, la sal de migalastat es clorhidrato de migalastat.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 150 mg de clorhidrato de migalastat.
- 25 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo está en una forma farmacéutica oral. En una o más realizaciones, la forma farmacéutica oral comprende un comprimido, una cápsula o una disolución.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 28 días.
- 30 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 6 meses.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 12 meses.
- 35 En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes sin tratamiento previo con TRE que tienen disfunción renal moderada proporciona un aumento medio en la actividad de  $\alpha$ -Gal A de WBC de al menos aproximadamente 1 4 MU/h/mg después de 24 meses de la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 40 En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes con tratamiento previo con TRE que tienen disfunción renal moderada proporciona un aumento medio en la actividad de  $\alpha$ -Gal A de WBC de al menos aproximadamente 1 4 MU/h/mg después de 18 meses de la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 45 En diversas realizaciones, el tratamiento estabiliza la función renal en un paciente diagnosticado con enfermedad de Fabry y que tiene elevada proteinuria. En diversas realizaciones, el tratamiento comprende administrar al paciente aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de FBE de migalastat o la sal del mismo a una frecuencia de una vez cada dos días.
- 50 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal moderada.
- 55 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal grave.
- En una o más realizaciones, el paciente es un paciente con tratamiento previo con TRE.
- En una o más realizaciones, el paciente es un paciente sin tratamiento previo con TRE.
- 60 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 65 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.

- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo potencia la actividad de  $\alpha$ -Gal A.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de FBE.
- 5 En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de base libre de migalastat.
- En una o más realizaciones, la sal de migalastat es clorhidrato de migalastat.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 150 mg de clorhidrato de migalastat.
- 10 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo está en una forma farmacéutica oral. En una o más realizaciones, la forma farmacéutica oral comprende un comprimido, una cápsula o una disolución.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 28 días.
- 15 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 6 meses.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 12 meses.
- 20 En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes que tienen un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo proporciona una tasa media anualizada de cambio en  $FG_{\text{eCKD-EPI}}$  superior a -2,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.
- 25 En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes que tienen un nivel de proteinuria de superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo proporciona una tasa media anualizada de cambio en  $FG_{\text{eCKD-EPI}}$  superior a -5,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.
- En diversas realizaciones, el paciente tiene proteinuria elevada, comprendiendo el tratamiento administrar al paciente una cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a una frecuencia de una vez cada dos días. En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de FBE.
- 30 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve.
- 35 En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal moderada.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal grave.
- 40 En una o más realizaciones, el paciente es un paciente con tratamiento previo con TRE.
- En una o más realizaciones, el paciente es un paciente sin tratamiento previo con TRE.
- 45 En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- En una o más realizaciones, el paciente tiene un nivel de proteinuria superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo.
- 50 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo potencia la actividad de  $\alpha$ -Gal A.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de FBE.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 123 mg de base libre de migalastat.
- 55 En una o más realizaciones, la sal de migalastat es clorhidrato de migalastat.
- En una o más realizaciones, la cantidad eficaz es aproximadamente 150 mg de clorhidrato de migalastat.
- 60 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo está en una forma farmacéutica oral. En una o más realizaciones, la forma farmacéutica oral comprende un comprimido, una cápsula o una disolución.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 28 días.
- En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 6 meses.
- 65 En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante al menos 12 meses.

En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes que tienen un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo proporciona una tasa media anualizada de cambio en  $FG_{eCKD-EPI}$  superior a -2,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

En una o más realizaciones, la administración de la cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo a un grupo de pacientes que tienen un nivel de proteinuria de superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar la administración de migalastat o la sal del mismo proporciona una tasa media anualizada de cambio en  $FG_{eCKD-EPI}$  superior a -5,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Diversas realizaciones se enumeran a continuación. Se entenderá que las realizaciones enumeradas a continuación se pueden combinar no solo como se enumeran a continuación, sino en otras combinaciones adecuadas según el alcance de la invención.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1A muestra las concentraciones plasmáticas de migalastat en pacientes no Fabry con diferentes grados de disfunción renal en función del  $CL_{CR}$ ;

la FIG. 1B muestra las concentraciones plasmáticas de migalastat en pacientes no Fabry con grados variables de disfunción renal en función del tiempo después de la dosis;

la FIG. 1C muestra el área bajo la curva (AUC) para pacientes no Fabry con grados variables de disfunción renal;

la FIG. 2 muestra la concentración de migalastat en función del tiempo en pacientes que tienen disfunción renal de moderada a grave;

la FIG. 3 muestra la correlación entre el  $AUC_{0-\infty}$  y la concentración de migalastat después de 48 horas para pacientes no Fabry con grados variables de disfunción renal;

la FIG. 4 muestra la concentración plasmática de migalastat después de 48 horas en función de la  $FG_{eMDRD}$  para pacientes no Fabry con grados variables de disfunción renal y dos pacientes de Fabry con disfunción renal;

la FIG. 5 muestra el  $AUC_{0-\infty}$  plasmático para pacientes no Fabry con grados variables de disfunción renal y dos pacientes de Fabry con disfunción renal;

las FIG. 6A-D muestran la mediana de la concentración simulada y observada de migalastat en función del tiempo para sujetos con disfunción renal normal, grave, leve y moderada, respectivamente;

las FIG. 7A-D muestran  $C_{máx}$ , AUC,  $C_{mín}$  y  $C_{48}$  simuladas, respectivamente, para sujetos con disfunción renal normal, leve, moderada y grave.

las FIG. 8A-D muestran la predicción del estado estacionario para QOD para sujetos con disfunción renal normal, grave, leve y moderada, respectivamente;

las FIG. 9A-D muestran  $C_{máx}$ , AUC,  $C_{mín}$  y  $C_{48}$ , respectivamente, para sujetos con disfunción renal normal, leve, moderada y grave;

las FIG. 10A-B muestran los diseños de estudio de dos estudios que investigan el uso de migalastat en pacientes de Fabry;

la FIG. 11 muestra la tasa anualizada de cambio de  $FG_{eCKD-EPI}$  para pacientes de Fabry en tratamiento con migalastat que tienen función renal normal y disfunción renal leve y moderada;

las FIG. 12A-B muestran la tasa anualizada de cambio de  $FG_{eCKD-EPI}$  y  $FG_{m_{iohexol}}$ , respectivamente, para pacientes de Fabry en terapia con migalastat y TRE que tienen función renal normal y disfunción renal;

la FIG. 13 muestra la tasa anualizada de cambio de  $FG_{eCKD-EPI}$  para pacientes de Fabry en terapia con migalastat y TRE que tienen función renal normal y disfunción renal leve y moderada;

las FIG. 14A-E muestra la secuencia completa de ADN del gen GLA de natural humano (SEQ ID NO: 1); y

la FIG. 15 muestra la proteína GLA natural (SEQ ID NO: 2).

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

Antes de describir varias realizaciones a modo de ejemplo de la invención, se debe entender que la invención no se limita a los detalles de construcción o etapas de proceso expuestos en la siguiente descripción. La invención es capaz de otras realizaciones y de ser puesta en práctica o de ser llevada a cabo de diversas formas.

Sorprendentemente, se ha descubierto que la terapia con migalastat estabiliza la función renal, reduce el LVMi, reduce la liso-Gb<sub>3</sub> plasmática y aumenta la actividad de  $\alpha$ -Gal A de los glóbulos blancos en pacientes de Fabry con disfunción renal leve y moderada. Por consiguiente, varios aspectos de la presente invención se refieren a pautas posológicas particulares de migalastat para pacientes de Fabry con disfunción renal. Migalastat es una chaperona farmacológica usada en el tratamiento de la enfermedad de Fabry. Esta chaperona farmacológica suele ser eliminada del organismo por los riñones. Sin embargo, es posible que los pacientes que tienen disfunción renal (un problema frecuente en los pacientes de Fabry) no puedan eliminar el migalastat del organismo, y hasta ahora no se sabía cómo responderían a la terapia con migalastat los pacientes con enfermedad de Fabry y disfunción renal. Dado que las chaperonas farmacológicas también son inhibidores, es muy difícil equilibrar los efectos potenciadores e inhibidores de enzimas de chaperonas farmacológicas como el migalastat. Además, debido a las complejas interacciones entre la enfermedad de Fabry y la función renal, y la falta de conocimiento sobre la función de una chaperona farmacológica, la administración de migalastat para pacientes de Fabry con disfunción renal es difícil de determinar sin datos clínicos significativos y/o modelización informática.

Por consiguiente, los aspectos de la presente invención se refieren a migalastat o la sal del mismo para su uso en el tratamiento de pacientes de Fabry que tienen disfunción renal y/o proteinuria elevada usando migalastat o una sal del mismo, tal como estabilizando la función renal, reduciendo el LVMi, reduciendo la liso-Gb<sub>3</sub> plasmática y/o aumentando la actividad  $\alpha$ -Gal A en el paciente.

En una o más realizaciones, el tratamiento comprende administrar al paciente aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de FBE de migalastat o la sal del mismo a una frecuencia de una vez cada dos días. El paciente puede tener disfunción renal leve, moderada o grave. En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada. En realizaciones específicas, el paciente tiene disfunción renal leve. En otras realizaciones específicas, el paciente tiene disfunción renal moderada.

### **Definiciones**

Las expresiones y los términos utilizados en esta memoria descriptiva tienen generalmente sus significados habituales en la técnica, dentro del contexto de esta invención y en el contexto específico en el que se utiliza cada término o expresión. Determinados términos y expresiones se discuten más adelante, o en otra parte de la memoria descriptiva, para proporcionar una orientación adicional al profesional.

El término "enfermedad de Fabry" se refiere a un error congénito ligado al cromosoma X del catabolismo de los glucoesfingolípidos debido a una actividad deficiente de la  $\alpha$ -Gal A lisosómica. Este defecto provoca la acumulación del sustrato globotriaosilceramida ("GL-3", también conocido como Gb<sub>3</sub> o trihexósido de ceramida) y glucoesfingolípidos relacionados en los lisosomas endoteliales vasculares del corazón, los riñones, la piel y otros tejidos. Otro sustrato de la enzima es la globotriaosilesfingosina plasmática ("liso-Gb<sub>3</sub> plasmática").

Una "portadora" es una mujer que tiene un cromosoma X con un gen  $\alpha$ -Gal A defectuoso y un cromosoma X con el gen normal y en la que la inactivación del cromosoma X del alelo normal está presente en uno o más tipos de células. A menudo se diagnostica la enfermedad de Fabry a una portadora.

Un "paciente" se refiere a un sujeto al que se le ha diagnosticado o se sospecha que padece una enfermedad particular. El paciente puede ser humano o animal.

Un "paciente de Fabry" se refiere a un individuo al que se le ha diagnosticado o se sospecha que tiene la enfermedad de Fabry y tiene una  $\alpha$ -Gal A mutada, como se define más adelante. Los marcadores característicos de la enfermedad de Fabry pueden darse en hemicígotos masculinos y en portadoras femeninas con la misma prevalencia, aunque las mujeres normalmente están menos gravemente afectadas.

El término "paciente sin tratamiento previo con TRE" se refiere a un paciente de Fabry que nunca ha recibido TRE o que no ha recibido TRE durante al menos 6 meses antes de iniciar la terapia con migalastat.

El término "paciente con tratamiento previo con TRE" se refiere a un paciente de Fabry que estaba recibiendo TRE inmediatamente antes de iniciar la terapia con migalastat. En algunas realizaciones, el paciente con tratamiento previo con TRE ha recibido al menos 12 meses de TRE inmediatamente antes de iniciar la terapia con migalastat.

$\alpha$ -Galactosidasa A humana ( $\alpha$ -Gal A) se refiere a una enzima codificada por el gen GLA humano. La secuencia completa de ADN de  $\alpha$ -Gal A, incluidos intrones y exones, está disponible en el n.º de acceso de GenBank X14448.1 y se muestra en SEQ ID NO: 1 y las FIG. 14A-E. La enzima  $\alpha$ -Gal A humana consiste en 429 aminoácidos y está disponible en los n.º de acceso de GenBank X14448.1 y U78027.1 y se muestra en SEQ ID NO: 2 y la FIG. 15

El término "proteína mutante" incluye una proteína que tiene una mutación en el gen que codifica la proteína que da lugar a la incapacidad de la proteína para alcanzar una conformación estable en las condiciones normalmente presentes en el RE. La incapacidad de alcanzar una conformación estable da lugar a que una cantidad sustancial de la enzima se degrade, en lugar de ser transportada al lisosoma. Dicha mutación se denomina a veces "mutante conformacional". Dichas mutaciones incluyen, pero no se limitan a, mutaciones de aminoácido y pequeñas delecciones e inserciones dentro del marco de lectura.

Como se usa en el presente documento en una realización, el término " $\alpha$ -Gal A mutante" incluye una  $\alpha$ -Gal A que tiene una mutación en el gen que codifica la  $\alpha$ -Gal A que da lugar a la incapacidad de la enzima para alcanzar una conformación estable en las condiciones normalmente presentes en el RE. La incapacidad de alcanzar una conformación estable da lugar a que una cantidad sustancial de la enzima se degrade, en lugar de ser transportada al lisosoma.

Como se usa en el presente documento, el término "chaperona farmacológica específica" ("SPC") o "chaperona farmacológica" ("PC") se refiere a cualquier molécula, incluida una molécula pequeña, proteína, péptido, ácido nucleico, hidrato de carbono, etc., que se une específicamente a una proteína y tiene uno o más de los siguientes efectos: (i) potencia la formación de una conformación molecular estable de la proteína; (ii) induce el tráfico de la proteína desde el RE a otra localización celular, preferiblemente una localización celular nativa, es decir, previene la degradación de la proteína asociada al RE; (iii) previene la agregación de proteínas mal plegadas; y/o (iv) restaura o potencia al menos parcialmente la función y/o actividad natural de la proteína. Un compuesto que se une específicamente a, por ejemplo,  $\alpha$ -Gal A, significa que se une y ejerce un efecto de chaperona sobre la enzima y no sobre un grupo genérico de enzimas relacionadas o no relacionadas. Más específicamente, este término no se refiere a chaperonas endógenas, tales como la BiP, ni a agentes no específicos que han mostrado actividad de chaperona no específica contra diversas proteínas, tales como el glicerol, el DMSO o el agua deuterada, es decir, chaperonas químicas. En una o más realizaciones de la presente invención, la PC puede ser un inhibidor competitivo reversible.

Un "inhibidor competitivo" de una enzima puede referirse a un compuesto que se asemeja estructuralmente a la estructura química y geometría molecular del sustrato enzimático para unirse a la enzima aproximadamente en el mismo lugar que el sustrato. De este modo, el inhibidor compite por el mismo sitio activo que la molécula de sustrato, aumentando así la  $K_m$ . La inhibición competitiva suele ser reversible si suficientes moléculas de sustrato están disponibles para desplazar al inhibidor, es decir, los inhibidores competitivos pueden unirse de forma reversible. Por lo tanto, la cantidad de inhibición enzimática depende de la concentración de inhibidor, la concentración de sustrato y las afinidades relativas del inhibidor y el sustrato por el sitio activo.

Como se usa en el presente documento, el término "se une específicamente" se refiere a la interacción de una chaperona farmacológica con una proteína, tal como  $\alpha$ -Gal A, específicamente, una interacción con residuos de aminoácidos de la proteína que participan directamente en el contacto con la chaperona farmacológica. Una chaperona farmacológica se une específicamente a una proteína diana, por ejemplo,  $\alpha$ -Gal A, para ejercer un efecto de chaperona sobre la proteína y no sobre un grupo genérico de proteínas relacionadas o no relacionadas. Los residuos de aminoácidos de una proteína que interactúan con cualquier chaperona farmacológica dada pueden o no estar dentro del "sitio activo" de la proteína. La unión específica puede evaluarse mediante ensayos de unión rutinarios o mediante estudios estructurales, por ejemplo, cocrystalización, RMN y similares. El sitio activo de la  $\alpha$ -Gal A es el sitio de unión del sustrato.

"Actividad de  $\alpha$ -Gal A deficiente" se refiere a la actividad de  $\alpha$ -Gal A en células de un paciente que está por debajo del intervalo de la normalidad en comparación (usando los mismos métodos) con la actividad en individuos normales que no tienen o se sospecha que tienen Fabry o cualquier otra enfermedad (especialmente una enfermedad de la sangre).

Como se usa en el presente documento, los términos "potenciar la actividad de  $\alpha$ -Gal A" o "aumentar la actividad de  $\alpha$ -Gal A" se refieren a aumentar la cantidad de  $\alpha$ -Gal A que adopta una conformación estable en una célula en contacto con una chaperona farmacológica específica para la  $\alpha$ -Gal A, en relación con la cantidad en una célula (preferiblemente del mismo tipo celular o la misma célula, por ejemplo, en un momento anterior) no contactada con la chaperona farmacológica específica para la  $\alpha$ -Gal A. Este término también se refiere al aumento del tráfico de  $\alpha$ -Gal A al lisosoma en una célula contactada con una chaperona farmacológica específica para la  $\alpha$ -Gal A, en relación con el tráfico de  $\alpha$ -Gal A no contactada con la chaperona farmacológica específica para la proteína. Estos términos se refieren tanto a la  $\alpha$ -Gal A natural como a la mutante. En una realización, el aumento de la cantidad de  $\alpha$ -Gal A en la célula se mide midiendo la hidrólisis de un sustrato artificial en lisados de células que han sido tratadas con la PC. Un aumento de la hidrólisis es indicativo de un aumento de la actividad de  $\alpha$ -Gal A.

El término "actividad  $\alpha$ -Gal A" se refiere a la función fisiológica normal de una  $\alpha$ -Gal A de tipo salvaje en una célula. Por ejemplo, la actividad  $\alpha$ -Gal A incluye la hidrólisis de GL-3.

Un "respondedor" es un individuo diagnosticado o sospechoso de padecer un trastorno por almacenamiento lisosómico, tal como, por ejemplo, la enfermedad de Fabry, cuyas células muestran un aumento suficiente de la actividad  $\alpha$ -Gal A, respectivamente, y/o una mejora de los síntomas o un aumento de los marcadores sustitutos, en respuesta al contacto

con una PC. Ejemplos no limitantes de mejoras en marcadores sustitutos de Fabry son la liso-Gb<sub>3</sub> y los descritos en la publicación de solicitud de patente de EE. UU. n.º US 2010/0113517.

Ejemplos no limitantes de mejoras en marcadores sustitutos para la enfermedad de Fabry divulgados en el documento de patente US 2010/0113517 incluyen aumentos en los niveles o la actividad de  $\alpha$ -Gal A en células (por ejemplo, fibroblastos) y tejidos; reducción en la acumulación de GL-3; disminución de las concentraciones plasmáticas de homocisteína y molécula-1 de adhesión celular vascular (VCAM-1); disminución de la acumulación de GL-3 en células miocárdicas y fibrocitos valvulares; reducción de la liso-Gb<sub>3</sub> plasmática; reducción de la hipertrofia cardíaca (especialmente del ventrículo izquierdo), mejora de la insuficiencia valvular y arritmias; mejora de la proteinuria; disminución de las concentraciones urinarias de lípidos, tales como HTC, lactosilceramida y ceramida, y aumento de las concentraciones urinarias de glucosilceramida y esfingomielina; ausencia de cuerpos de inclusión laminares (cuerpos de Zebra) en las células epiteliales glomerulares; mejora de la función renal; mitigación de la hipohidrosis; ausencia de angioqueratomas; y mejora de las anomalías auditivas, tales como la pérdida auditiva neurosensorial de alta frecuencia, la sordera súbita o el tinnitus. Las mejoras en los síntomas neurológicos incluyen la prevención del accidente isquémico transitorio (AIT) o el ictus; y la mejora del dolor neuropático que se manifiesta como acroparestesia (ardor u hormigueo en las extremidades). Otro tipo de marcador clínico que puede evaluarse en la enfermedad de Fabry es la prevalencia de manifestaciones cardiovasculares perjudiciales. Los signos y síntomas cardíacos más comunes de la enfermedad de Fabry incluyen hipertrofia ventricular izquierda, valvulopatía (especialmente prolapso y/o regurgitación de la válvula mitral), arteriopatía coronaria prematura, angina de pecho, infarto de miocardio, anomalías de la conducción, arritmias, insuficiencia cardíaca congestiva.

Como se usa en el presente documento, la frase "estabilizar la función renal" y términos similares se refieren, entre otras cosas, a reducir el deterioro de la función renal y/o restablecer la función renal. Como se espera que los pacientes de Fabry no tratados tengan disminuciones significativas en la función renal, las mejoras en la tasa de deterioro de la función renal y/o las mejoras en la función renal demuestran un beneficio de la terapia con migalstat como se describe en el presente documento. En particular, la estabilización de la función renal puede manifestarse en un paciente de Fabry, independientemente de la gravedad de la función renal y de si ha recibido tratamiento previo con TRE o no ha recibido tratamiento de TRE, mediante la mejora de la función renal o el retraso de la tasa de deterioro de la función renal en comparación con un paciente análogo no tratado con una terapia de la presente invención, por ejemplo, tanto como 0,2 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> para una población de pacientes particular. Una ventaja del método de tratamiento divulgado en el presente documento en comparación con sin tratamiento (sin chaperona o tratamiento con TRE) o el tratamiento con TRE es que los pacientes de Fabry tratados con la presente invención presentan un deterioro menor o nulo de su función renal. Por ejemplo, pueden observarse mejoras con el tratamiento TRE inicialmente, pero la función renal de los pacientes tratados con TRE experimenta un declive precipitado después de los dos o tres años iniciales de la terapia, similar al grado de declive observado antes del tratamiento TRE. Por el contrario, la terapia descrita en el presente documento elimina el GL-3 lisosómico de forma más eficaz y ha demostrado provocar una mejoría en pacientes (por ejemplo, véase el Ejemplo 5) que no se esperaba que mejoraran, por ejemplo, en un paciente con tratamiento previo con TRE. Se espera que los datos clínicos hasta la fecha que usan la terapia descrita en el presente documento produzcan mejoras continuas en los resultados de los pacientes incluso dos años después del tratamiento. Así, en algunas realizaciones, un paciente tratado con la terapia descrita en el presente documento sigue estabilizando la función renal durante más de dos años después del tratamiento (por ejemplo, mejorando una velocidad de filtración glomerular (FG) o retrasando la tasa de disminución de una FG en el paciente).

"Disfunción renal" se refiere a un paciente con un FG inferior a 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Dos de las ecuaciones más comúnmente usadas para calcular una velocidad de filtración glomerular estimada (FGe) a partir de la creatinina sérica son la ecuación de la Colaboración en Epidemiología de la Enfermedad Renal Crónica (CKD-EPI) y la Modificación de la Dieta en la Enfermedad Renal (MDRD), que se denominan FGe<sub>CKD-EPI</sub> y FGe<sub>MDRD</sub>, respectivamente. La gravedad de la enfermedad renal crónica se ha definido en seis estadios.

- a. (Estadio 0) Función renal normal: FG superior a 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> y ausencia de proteinuria;
- b. (Estadio 1) - FG superior a 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> con evidencia de daño renal;
- c. (Estadio 2) (leve) - FG de 60 a 89 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> con evidencia de daño renal;
- d. (Estadio 3) (moderado) - FG de 30 a 59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>;
- e. (Estadio 4) (grave) - FG de 15 a 29 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>;
- f. (Estadio 5) insuficiencia renal - FG inferior a 15 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

"Proteinuria elevada" se refiere a niveles de proteína en orina por encima del intervalo de la normalidad. El intervalo de la normalidad de proteína en orina es de 0-150 mg al día, por lo que proteinuria elevada son niveles de proteínas en orina de aproximadamente 150 mg al día.

Como se usa en el presente documento, la frase "estabilizar la liso-Gb<sub>3</sub> plasmática" y términos similares se refieren a reducir el aumento de la liso-Gb<sub>3</sub> plasmática y/o reducir la liso-Gb<sub>3</sub> plasmática. Como se espera que los pacientes de Fabry no tratados tengan aumentos significativos de liso-Gb<sub>3</sub> plasmática, las mejoras en la tasa de acumulación de liso-Gb<sub>3</sub> plasmática y/o las mejoras en liso-Gb<sub>3</sub> plasmática demuestran un beneficio de la terapia con migalastat como se describe en el presente documento.

La dosis que logra una o más de las respuestas mencionadas es una "dosis terapéuticamente eficaz".

La frase "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que son fisiológicamente tolerables y no producen normalmente reacciones adversas cuando se administran a un ser humano. En algunas realizaciones, como se usa en el presente documento, el término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o incluido en la Farmacopea de EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en humanos. El término "portador" en referencia a un portador farmacéutico se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto. Dichos portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites. Las soluciones salinas en agua o disolución acuosa y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol se emplean preferentemente como portadores, particularmente para disoluciones inyectables. Los portadores farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E. W. Martin, 18.<sup>a</sup> edición, u otras ediciones.

El término "terapia de reemplazo enzimático" o "TRE" se refiere a la introducción de una enzima purificada no nativa en un individuo que tiene una deficiencia de dicha enzima. La proteína administrada puede obtenerse de fuentes naturales o mediante expresión recombinante (como se describe con mayor detalle más adelante). El término también hace referencia a la introducción de una enzima purificada en un individuo que, de otro modo, necesitaría o se beneficiaría de la administración de una enzima purificada, por ejemplo, si sufriera una insuficiencia enzimática. La enzima introducida puede ser una enzima purificada recombinante producida *in vitro*, o una proteína purificada a partir de tejido o líquido aislado, como, por ejemplo, placenta o leche animal, o a partir de plantas.

Como se usa en el presente documento, el término "aislado" significa que el material al que se hace referencia se retira del entorno en el que se encuentra normalmente. Así, un material biológico aislado puede estar libre de componentes celulares, es decir, componentes de las células en las que se encuentra o se produce el material. En el caso de las moléculas de ácido nucleico, un ácido nucleico aislado incluye un producto de PCR, una banda de ARNm en un gel, un ADNc o un fragmento de restricción. En otra realización, un ácido nucleico aislado es preferiblemente cortado del cromosoma en el que puede encontrarse, y más preferiblemente ya no está unido a regiones no reguladoras, no codificantes, o a otros genes, situados aguas arriba o aguas abajo del gen contenido por la molécula de ácido nucleico aislada cuando se encuentra en el cromosoma. En otra realización más, el ácido nucleico aislado carece de uno o más intrones. Los ácidos nucleicos aislados incluyen secuencias insertadas en plásmidos, cósmidos, cromosomas artificiales y similares. Por lo tanto, en una realización específica, un ácido nucleico recombinante es un ácido nucleico aislado. Una proteína aislada puede estar asociada con otras proteínas o ácidos nucleicos, o ambos, con los que se asocia en la célula, o con membranas celulares si es una proteína asociada a membrana. Un orgánulo, célula o tejido aislado se extrae del lugar anatómico en el que se encuentra en un organismo. Un material aislado puede ser purificado, aunque no necesariamente.

Los términos "alrededor de" y "aproximadamente" significarán en general un grado aceptable de error para la cantidad medida dada la naturaleza o precisión de las mediciones. Los grados de error típicos y a modo de ejemplo están dentro del 20 por ciento (%), preferiblemente dentro del 10 %, y más preferiblemente dentro del 5 % de un valor dado o intervalo de valores. Alternativamente, y particularmente en sistemas biológicos, los términos "alrededor de" y "aproximadamente" pueden significar valores que están dentro de un orden de magnitud, preferiblemente dentro de 10 o 5 veces, y más preferiblemente dentro de 2 veces de un valor dado. Las cantidades numéricas proporcionadas aquí son aproximadas a menos que se indique lo contrario, lo que significa que el término "alrededor de" o "aproximadamente" se puede inferir cuando no se señala expresamente.

Como se usa en el presente, el término "equivalente de base libre" o "FBE" se refiere a la cantidad de migalastat presente en el migalastat o su sal. En otras palabras, el término "FBE" se refiere a la cantidad de base libre de migalastat o a la cantidad equivalente de base libre de migalastat que proporciona por una sal de migalastat. Por ejemplo, debido al peso de la sal de clorhidrato, 150 mg de clorhidrato de migalastat solo proporcionan tanto migalastat como 123 mg de la forma de base libre de migalastat. Se espera que otras sales tengan factores de conversión diferentes, dependiendo del peso molecular de la sal.

El término "migalastat" abarca la base libre de migalastat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, HCl de migalastat), a menos que se indique específicamente lo contrario.

### **Enfermedad de Fabry**

La enfermedad de Fabry es un trastorno de almacenamiento lisosómico ligado al cromosoma X, raro, progresivo y devastador. Las mutaciones en el gen GLA dan como resultado una deficiencia de la enzima lisosómica  $\alpha$ -Gal A, que es necesaria para el metabolismo de los glucoesfingolípidos. A partir de una edad temprana, la reducción de la

actividad de la  $\alpha$ -Gal A da como resultado una acumulación de glucoesfingolípidos, que incluyen GL-3 y liso-Gb<sub>3</sub> plasmática, y conduce a los síntomas y las secuelas incapacitantes de la enfermedad de Fabry, incluidos dolor, síntomas gastrointestinales, insuficiencia renal, cardiomiopatía, eventos cerebrovasculares y mortalidad temprana. El inicio temprano de la terapia y el tratamiento de por vida ofrecen la oportunidad de ralentizar la progresión de la enfermedad y prolongar la esperanza de vida.

La enfermedad de Fabry engloba un espectro de gravedad y edad de aparición, aunque tradicionalmente se ha dividido en 2 fenotipos principales, "clásico" y "de inicio tardío". El fenotipo clásico se ha atribuido principalmente a varones con actividad de  $\alpha$ -Gal A indetectable o baja e inicio temprano de manifestaciones renales, cardíacas y/o cerebrovasculares. El fenotipo de inicio tardío se ha atribuido principalmente a varones con una actividad residual de  $\alpha$ -Gal A más alta y un inicio más tardío de estas manifestaciones de la enfermedad. Las mujeres portadoras heterocigóticas expresan normalmente el fenotipo de inicio tardío, pero dependiendo del patrón de inactivación del cromosoma X también pueden mostrar el fenotipo clásico.

Se han identificado más de 800 mutaciones de GLA causantes de la enfermedad de Fabry. Aproximadamente el 60 % son mutaciones de aminoácido, que dan lugar a sustituciones de un único aminoácido en la enzima  $\alpha$ -Gal A. Las mutaciones de aminoácido de GLA a menudo dan lugar a la producción de formas anormalmente plegadas e inestables de  $\alpha$ -Gal A y la mayoría están asociadas con el fenotipo clásico. Los mecanismos normales de control de calidad celular en el retículo endoplásmico bloquean el tránsito de estas proteínas anormales a los lisosomas y las dirigen a su degradación y eliminación prematuras. Muchas formas mutantes de aminoácido son dianas de migalastat, una chaperona farmacológica específica de  $\alpha$ -Gal A.

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Fabry abarcan un amplio espectro de gravedad y se correlacionan aproximadamente con los niveles residuales de  $\alpha$ -GAL del paciente. La mayoría de los pacientes tratados actualmente se denominan pacientes clásicos de la enfermedad de Fabry, la mayoría de los cuales son varones. Estos pacientes padecen la enfermedad en varios órganos, incluidos los riñones, el corazón y el cerebro, apareciendo los síntomas de la enfermedad por primera vez en la adolescencia y normalmente progresan en gravedad hasta la muerte en la cuarta o quinta década de vida. Varios estudios recientes indican que hay un gran número de varones y mujeres sin diagnosticar que presentan una serie de síntomas de la enfermedad de Fabry, tales como deterioro de la función cardíaca o renal y accidentes cerebrovasculares, que suelen aparecer por primera vez en la edad adulta. Los individuos con este tipo de enfermedad de Fabry, denominada enfermedad de Fabry de inicio tardío, tienden a tener niveles residuales de  $\alpha$ -GAL más elevados que los pacientes con enfermedad de Fabry clásica. Los individuos con enfermedad de Fabry de inicio tardío experimentan normalmente los primeros síntomas de la enfermedad en la edad adulta, y a menudo tienen síntomas de la enfermedad centrados en un solo órgano, tales como el agrandamiento del ventrículo izquierdo o la insuficiencia renal progresiva. Además, la enfermedad de Fabry de inicio tardío también puede presentarse en forma de accidentes cerebrovasculares de causa desconocida.

Los pacientes de Fabry tienen disfunción renal progresiva, y los pacientes no tratados presentan una disfunción renal terminal en la quinta década de vida. La deficiencia en la actividad de  $\alpha$ -Gal A conduce a la acumulación de GL-3 y glucoesfingolípidos relacionados en muchos tipos de células, incluidas las células del riñón. La GL-3 se acumula en podocitos, células epiteliales y células tubulares del túbulo distal y del asa de Henle. La disfunción de la función renal puede manifestarse como proteinuria y reducción de la velocidad de filtración glomerular.

Debido a que la enfermedad de Fabry puede causar un empeoramiento progresivo de la función renal, es importante conocer la farmacocinética (FC) de los posibles agentes terapéuticos en individuos con disfunción renal y particularmente para agentes terapéuticos que se eliminan predominantemente por excreción renal. La disfunción de la función renal puede conducir a la acumulación del agente terapéutico hasta niveles que se vuelvan tóxicos.

Debido a que la enfermedad de Fabry es rara, afecta a múltiples órganos, tiene un amplio intervalo de edad de aparición y es heterogénea, el diagnóstico adecuado es un reto. Los profesionales sanitarios están poco concienciados y los diagnósticos erróneos son frecuentes. El diagnóstico de la enfermedad de Fabry se confirma con mayor frecuencia basándose en la disminución de la actividad  $\alpha$ -Gal A en plasma o leucocitos periféricos (WBC) una vez que el paciente es sintomático, junto con el análisis mutacional. En las mujeres, el diagnóstico es aún más difícil, ya que la identificación enzimática de las mujeres portadoras es menos fiable debido a la inactivación aleatoria del cromosoma X en algunas células de las portadoras. Por ejemplo, algunas portadoras obligadas (hijas de varones clásicamente afectados) tienen actividades de la enzima  $\alpha$ -Gal A que oscilan de normales a muy bajas. Dado que los portadores pueden tener una actividad normal de la enzima  $\alpha$ -Gal A en los leucocitos, solo la identificación de una mutación de  $\alpha$ -Gal A mediante pruebas genéticas proporciona una identificación y/o diagnóstico precisos del portador.

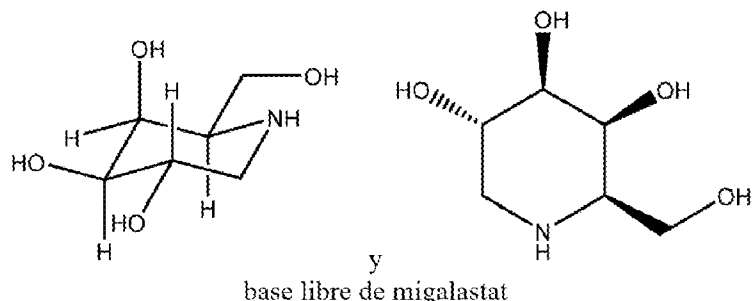
Las formas mutantes de  $\alpha$ -galactosidasa A consideradas susceptibles al migalastat se definen como aquellas que muestran un aumento relativo (migalastat +10  $\mu$ M) de  $\geq 1,20$  veces y un aumento absoluto (migalastat + 10  $\mu$ M) de  $\geq 3,0$  % de natural cuando la forma mutante de  $\alpha$ -galactosidasa A se expresa en células HEK-293 (denominado "ensayo HEK") según el ensayo *in vitro* validado por las buenas prácticas de laboratorio (GLP) (ensayo GLP HEK o de susceptibilidad de migalastat). Dichas mutaciones también se denominan en el presente documento mutaciones "susceptibles al ensayo HEK".

Se han proporcionado métodos de cribado anteriores que evalúan la potenciación enzimática antes del inicio del tratamiento. Por ejemplo, en ensayos clínicos se ha utilizado un ensayo usando células HEK-293 para predecir si una mutación dada responderá al tratamiento con chaperonas farmacológicas (por ejemplo, migalastat). En este ensayo, se crean construcciones de ADNc. Las formas mutantes de  $\alpha$ -Gal A correspondientes se expresan transitoriamente en células HEK-293. A continuación, las células se incuban  $\pm$  migalastat (17 nM a 1 mM) durante 4 a 5 días. Después, se miden los niveles de  $\alpha$ -Gal A en los lisados celulares usando un sustrato fluorogénico sintético (4-MU- $\alpha$ -Gal) o mediante transferencia Western. Esto se ha hecho para mutaciones de aminoácido o pequeñas mutaciones de inserción/delección dentro del marco de lectura que causan enfermedades conocidas. Las mutaciones que se han identificado previamente como sensibles a una PC (por ejemplo, migalastat) usando estos métodos se enumeran en la patente de EE. UU. n.º 8.592.362.

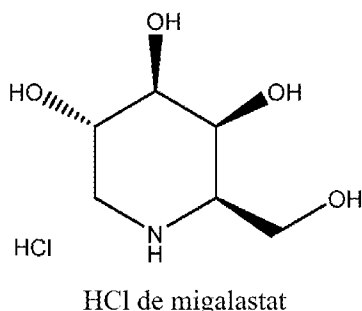
### **Chaperonas farmacológicas**

La unión de inhibidores de molécula pequeña de enzimas asociadas a las LSD puede aumentar la estabilidad tanto de la enzima mutante como de la correspondiente enzima natural (véanse las patentes de EE. UU. n.º 6.274.597; 6.583.158; 6.589.964; 6.599.919; 6.916.829 y 7.141.582). En particular, la administración de derivados de molécula pequeña de glucosa y galactosa, que son inhibidores competitivos específicos y selectivos de varias enzimas lisosómicas diana, aumentó eficazmente la estabilidad de las enzimas en células *in vitro* y, por tanto, aumentó el tráfico de las enzimas al lisosoma. Por lo tanto, al aumentar la cantidad de enzima en el lisosoma, se espera que aumente la hidrólisis de los sustratos enzimáticos. La teoría original detrás de esta estrategia era la siguiente: como la proteína enzimática mutante es inestable en el RE (Ishii et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 1996; 220: 812-815), la proteína enzimática se retrasa en la vía de transporte normal (RE  $\rightarrow$  aparato de Golgi  $\rightarrow$  endosomas  $\rightarrow$  lisosomas) y se degrada prematuramente. Por lo tanto, un compuesto que se une a una enzima mutante y aumenta su estabilidad, puede servir de "chaperona" para la enzima y aumentar la cantidad que puede salir del RE y pasar a los lisosomas. Además, dado que el plegamiento y el tráfico de algunas proteínas naturales es incompleto, con hasta el 70 % de algunas proteínas naturales que se degradan en algunos casos antes de alcanzar su ubicación celular final, las chaperonas pueden usarse para estabilizar las enzimas naturales y aumentar la cantidad de enzima que puede salir del RE y ser transportada a los lisosomas.

La chaperona farmacológica de la presente invención es migalastat o una sal del mismo. El compuesto migalastat, también conocido como 1-desoxigalactonojirimicina (1-DGJ) o (2R,3S,4R,5S)-2-(hidroximetil)piperidin-3,4,5-triol, es un compuesto que tiene la siguiente fórmula química:



Como se trata en el presente documento, también se pueden usar sales farmacéuticamente aceptables de migalastat en la presente invención. Cuando se usa una sal de migalastat, la dosis de la sal se ajustará de modo que la dosis de migalastat recibida por el paciente sea equivalente a la cantidad que se habría recibido si se hubiera usado la base libre de migalastat. Un ejemplo de sal farmacéuticamente aceptable de migalastat es HCl de migalastat:



Migalastat es un iminoazúcar de bajo peso molecular y es un análogo de la galactosa terminal de GL-3. Los estudios farmacológicos *in vitro* e *in vivo* han demostrado que migalastat actúa de chaperona farmacológica, uniéndose de forma selectiva y reversible, con gran afinidad, al sitio activo de la  $\alpha$ -Gal A natural y a formas mutantes específicas de

α-Gal A, cuyos genotipos se denominan mutaciones susceptibles de ensayo HEK. La unión de migalastat estabiliza estas formas mutantes de α-Gal A en el retículo endoplásmico, facilitando su tráfico adecuado a los lisosomas, donde la disociación de migalastat permite a α-Gal A reducir el nivel de GL-3 y otros sustratos. Aproximadamente el 30-50 % de los pacientes con enfermedad de Fabry tienen mutaciones susceptibles de ensayo HEK; la mayoría de las cuales están asociadas con el fenotipo clásico de la enfermedad. Una lista de mutaciones susceptibles de ensayo HEK incluye al menos las mutaciones enumeradas en la Tabla 1 a continuación. En una o más realizaciones, si una mutación doble está presente en el mismo cromosoma (hombres y mujeres), ese paciente se considera susceptible de ensayo HEK si la doble mutación está presente en una entrada de la Tabla 1 (por ejemplo, D55V/Q57L). En algunas realizaciones, si una mutación doble está presente en cromosomas diferentes (solo en mujeres), se considera que el paciente es susceptible de ensayo de HEK si una de las mutaciones individuales está presente en la Tabla 1. Además de la Tabla 1 que figura a continuación, las mutaciones susceptibles del ensayo HEK también pueden encontrarse en el resumen de las características del producto y/o en la información para la prescripción de GALAFOLD™ en los distintos países en los que se ha aprobado el uso de GALAFOLD™, o en el sitio web [www.galafoldamenabilitytable.com](http://www.galafoldamenabilitytable.com).

Tabla 1

| Cambio de nucleótido | Cambio de nucleótido | Cambio de secuencia de proteínas |
|----------------------|----------------------|----------------------------------|
| c.7C>G               | c.C7G                | L3V                              |
| c.8T>C               | c.T8C                | L3P                              |
| c.[11G>T; 620A>C]    | c.G11T/A620C         | R4M/Y207S                        |
| c.37G>A              | c.G37A               | A13T                             |
| c.37G>C              | c.G37C               | A13P                             |
| c.43G>A              | c.G43A               | A15T                             |
| c.44C>G              | c.C44G               | A15G                             |
| c.53T>G              | c.T53G               | F18C                             |
| c.58G>C              | c.G58C               | A20P                             |
| c.59C>A              | c.C59A               | A20D                             |
| c.70T>C o c.70T>A    | c.T70C o c.T70A      | W24R                             |
| c.70T>G              | c.T70G               | W24G                             |
| c.72G>C o c.72G>T    | c.G72C o c.G72T      | W24C                             |
| c.95T>C              | c.T95C               | L32P                             |
| c.97G>T              | c.G97T               | D33Y                             |
| c.98A>G              | c.A98G               | D33G                             |
| 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>T             | c.G104T              | G35V                             |
| 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.110C>T             | c.C110T              | A37V                             |
| 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                             |

| Cambio de nucleótido              | Cambio de nucleótido           | Cambio de secuencia de proteínas |
|-----------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| 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<br>c.126G>T | c.G126A o c.G126C o<br>c.G126T | M42I                             |
| c.137A>C                          | c.A137C                        | H46P                             |
| c.142G>C                          | c.G142C                        | E48Q                             |
| c.152T>A                          | c.T152A                        | M51K                             |
| c.153G>A o c.153G>T o<br>c.153G>C | c.G153A o c.G153T o<br>c.G153C | M51I                             |
| c.157A>G                          | c.A157G                        | N53D                             |
| c.[157A>C; 158A>T]                | c.A157C/A158T                  | N53L                             |
| c.160C>T                          | c.C160T                        | L54F                             |
| c.161T>C                          | c.T161C                        | L54P                             |
| c.164A>G                          | c.A164G                        | D55G                             |
| c.164A>T                          | c.A164T                        | D55V                             |
| c.[164A>T; 170A>T]                | c.A164T/A170T                  | D55V/Q57L                        |
| c.167G>T                          | c.G167T                        | C56F                             |
| c.167G>A                          | c.G167A                        | C56Y                             |
| c.170A>T                          | c.A170T                        | Q57L                             |
| c.175G>A                          | c.G175A                        | E59K                             |
| c.178C>A                          | c.C178A                        | P60T                             |
| c.178C>T                          | c.C178T                        | P60S                             |
| c.179C>T                          | c.C179T                        | P60L                             |
| c.196G>A                          | c.G196A                        | E66K                             |
| c.197A>G                          | c.A197G                        | E66G                             |
| c.207C>A o c.207C>G               | c.C207A o c.C207G              | F69L                             |
| c.214A>G                          | c.A214G                        | M72V                             |
| c.216G>A o c.216G>T o<br>c.216G>C | c.G216A o c.G216T o<br>c.G216C | M72I                             |
| c.218C>T                          | c.C218T                        | A73V                             |
| c.227T>C                          | c.T227C                        | M76T                             |
| c.239G>A                          | c.G239A                        | G80D                             |
| c.247G>A                          | c.G247A                        | D83N                             |
| c.253G>A                          | c.G253A                        | G85S                             |
| c.254G>A                          | c.G254A                        | G85D                             |
| c.[253G>A; 254G>A]                | c.G253A/G254A                  | G85N                             |
| c.[253G>A; 254G>T; 255T>G]        | c.G253A/G254T/T255G            | G85M                             |
| c.261G>C o c.261G>T               | c.G261C o c.G261T              | E87D                             |
| c.265C>T                          | c.C265T                        | L89F                             |
| c.272T>C                          | c.T272C                        | I91T                             |

| Cambio de nucleótido           | Cambio de nucleótido        | Cambio de secuencia de proteínas |
|--------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| c.288G>A o c.288G>T o c.288G>C | c.G288A o c.G288T o c.G288C | M96I                             |
| c.289G>C                       | c.G289C                     | A97P                             |
| c.290C>T                       | c.C290T                     | A97V                             |
| c.305C>T                       | c.C305T                     | S102L                            |
| c.311G>T                       | c.G311T                     | G104V                            |
| c.316C>T                       | c.C316T                     | L106F                            |
| c.322G>A                       | c.G322A                     | A108T                            |
| c.326A>G                       | c.A326G                     | D 109G                           |
| c.334C>G                       | c.C334G                     | R112G                            |
| c.335G>A                       | c.G335A                     | R112H                            |
| 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.352C>T                       | c.C352T                     | R118C                            |
| c.361G>A                       | c.G361A                     | A121T                            |
| c.368A>G                       | c.A368G                     | Y123C                            |
| c.373C>T                       | c.C373T                     | H125Y                            |
| c.374A>T                       | c.A374T                     | H125L                            |
| c.376A>G                       | c.A376G                     | S126G                            |
| c.383G>A                       | c.G383A                     | G128E                            |
| c.399T>G                       | c.T399G                     | I133M                            |
| c.404C>T                       | c.C404T                     | A135V                            |
| c.408T>A o c.408T>G            | c.T408A o c.T408G           | D136E                            |
| c.416A>G                       | c.A416G                     | N139S                            |
| c.419A>C                       | c.A419C                     | K140T                            |
| c.427G>A                       | c.G427A                     | A143T                            |
| c.431G>A                       | c.G431A                     | G144D                            |
| c.431G>T                       | c.G431T                     | G144V                            |
| c.434T>C                       | c.T434C                     | F145S                            |
| c.436C>T                       | c.C436T                     | P146S                            |
| c.437C>G                       | c.C437G                     | P146R                            |
| c.454T>C                       | c.T454C                     | Y152H                            |
| c.455A>G                       | c.A455G                     | Y152C                            |
| c.466G>A                       | c.G466A                     | A156T                            |
| c.467C>T                       | c.C467T                     | A156V                            |
| c.471G>C o c.471G>T            | c.G471C o c.G471T           | Q157H                            |
| c.484T>G                       | c.T484G                     | W162G                            |
| c.493G>C                       | c.G493C                     | D165H                            |
| c.494A>G                       | c.A494G                     | D165G                            |
| c.[496C>G; 497T>G]             | c.C496G/T497G               | L166G                            |
| c.496C>G                       | c.C496G                     | L166V                            |

| Cambio de nucleótido              | Cambio de nucleótido           | Cambio de secuencia de proteínas |
|-----------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| c.496_497delinsTC                 | c.496_497delinsTC              | L166S                            |
| c.499C>G                          | c.C499G                        | L167V                            |
| c.506T>C                          | c.T506C                        | F169S                            |
| c.511G>A                          | c.G511A                        | G171S                            |
| c.520T>C                          | c.T520C                        | C174R                            |
| c.520T>G                          | c.T520G                        | C174G                            |
| c.525C>G o c.525C>A               | c.C525G o c.C525A              | D175E                            |
| c.539T>G                          | c.T539G                        | L180W                            |
| c.540G>C                          | c.G540C                        | L180F                            |
| c.548G>C                          | c.G548C                        | G183A                            |
| c.548G>A                          | c.G548A                        | G183D                            |
| c.550T>A                          | c.T550A                        | Y184N                            |
| c.551A>G                          | c.A551G                        | Y184C                            |
| c.553A>G                          | c.A553G                        | K185E                            |
| c.559A>G                          | c.A559G                        | M187V                            |
| c.559_564dup                      | c.559_564dup                   | p.M187_S188dup                   |
| c.560T>C                          | c.T560C                        | M187T                            |
| c.561G>T o c.561G>A o<br>c.561G>C | c.G561T o c.G561A o<br>c.G561C | M187I                            |
| c.572T>A                          | c.T572A                        | L191Q                            |
| c.581C>T                          | c.C581T                        | T194I                            |
| c.584G>T                          | c.G584T                        | G195V                            |
| c.586A>G                          | c.A586G                        | R196G                            |
| c.593T>C                          | c.T593C                        | I198T                            |
| c.595G>A                          | c.G595A                        | V199M                            |
| c.596T>C                          | c.T596C                        | V199A                            |
| c.596T>G                          | c.T596G                        | V199G                            |
| c.599A>G                          | c.A599G                        | Y200C                            |
| c.602C>T                          | c.C602T                        | S201F                            |
| c.602C>A                          | c.C602A                        | S201Y                            |
| c.608A>T                          | c.A608T                        | E203V                            |
| c.609G>C o c.609G>T               | c.G609C o c.G609T              | E203D                            |
| c.613C>A                          | c.C613A                        | P205T                            |
| c.613C>T                          | c.C613T                        | P205S                            |
| c.614C>T                          | c.C614T                        | P205L                            |
| c.619T>C                          | c.T619C                        | Y207H                            |
| c.620A>C                          | c.A620C                        | Y207S                            |
| c.623T>G                          | c.T623G                        | M208R                            |
| c.628C>T                          | c.C628T                        | P210S                            |
| c.629C>T                          | c.C629T                        | P210L                            |
| c.638A>G                          | c.A638G                        | K213R                            |

| Cambio de nucleótido | Cambio de nucleótido | Cambio de secuencia de proteínas |
|----------------------|----------------------|----------------------------------|
| c.638A>T             | c.A638T              | K213M                            |
| c.640C>T             | c.C640T              | P214S                            |
| c.641C>T             | c.C641T              | P214L                            |
| c.643A>G             | c.A643G              | N215D                            |
| c.644A>G             | c.A644G              | N215S                            |
| c.644A>T             | c.A644T              | N215I                            |
| c.[644A>G; 937G>T]   | c.A644G/G937T        | N215S/D313Y                      |
| c.646T>G             | c.T646G              | Y216D                            |
| c.647A>G             | c.A647G              | Y216C                            |
| c.655A>C             | c.A655C              | I219L                            |
| c.656T>A             | c.T656A              | I219N                            |
| c.656T>C             | c.T656C              | I219T                            |
| c.659G>A             | c.G659A              | R220Q                            |
| c.659G>C             | c.G659C              | R220P                            |
| c.662A>C             | c.A662C              | Q221P                            |
| c.671A>C             | c.A671C              | N224T                            |
| c.671A>G             | c.A671G              | N224S                            |
| c.673C>G             | c.C673G              | H225D                            |
| c.683A>G             | c.A683G              | N228S                            |
| c.687T>A o c.687T>G  | c.T687A o c.T687G    | F229L                            |
| c.695T>C             | c.T695C              | I232T                            |
| c.713G>A             | c.G713A              | S238N                            |
| c.716T>C             | c.T716C              | I239T                            |
| c.720G>C o c.720G>T  | c.G720C o c.G720T    | K240N                            |
| 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.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.733T>G             | c.T733G              | W245G                            |
| c.740C>G             | c.C740G              | S247C                            |
| c.747C>G o c.747C>A  | c.C747G o c.C747A    | N249K                            |
| c.749A>C             | c.A749C              | Q250P                            |
| c.749A>G             | c.A749G              | Q250R                            |
| c.750G>C             | c.G750C              | Q250H                            |
| c.758T>C             | c.T758C              | I253T                            |
| c.758T>G             | c.T758G              | I253S                            |

| Cambio de nucleótido | Cambio de nucleótido | Cambio de secuencia de proteínas |
|----------------------|----------------------|----------------------------------|
| c.760-762delGTT      | c.760_762delGTT      | p.V254del                        |
| c.769G>C             | c.G769C              | A257P                            |
| c.770C>G             | c.C770G              | A257G                            |
| c.772G>C o c.772G>A  | c.G772C o c.G772A    | G258R                            |
| c.773G>T             | c.G773T              | G258V                            |
| c.776C>G             | c.C776G              | P259R                            |
| c.776C>T             | c.C776T              | P259L                            |
| 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.788A>G             | c.A788G              | N263S                            |
| c.790G>T             | c.G790T              | D264Y                            |
| c.794C>T             | c.C794T              | P265L                            |
| c.800T>C             | c.T800C              | M267T                            |
| c.805G>A             | c.G805A              | V269M                            |
| c.806T>C             | c.T806C              | V269A                            |
| c.809T>C             | c.T809C              | I270T                            |
| 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.823C>G             | c.C823G              | L275V                            |
| c.827G>A             | c.G827A              | S276N                            |
| c.829T>G             | c.T829G              | W277G                            |
| c.831G>T o c.831G>C  | c.G831T o c.G831C    | W277C                            |
| c.832A>T             | c.A832T              | N278Y                            |
| c.835C>G             | c.C835G              | Q279E                            |
| c.838C>A             | c.C838A              | Q280K                            |
| c.840A>T o c.840A>C  | c.A840T o c.A840C    | Q280H                            |
| c.844A>G             | c.A844G              | T282A                            |
| c.845C>T             | c.C845T              | T282I                            |
| c.850A>G             | c.A850G              | M284V                            |
| c.851T>C             | c.T851C              | M284T                            |
| c.860G>T             | c.G860T              | W287L                            |
| c.862G>C             | c.G862C              | A288P                            |
| c.866T>G             | c.T866G              | I289S                            |
| c.868A>C o c.868A>T  | c.A868C o c.A868T    | M290L                            |
| c.869T>C             | c.T869C              | M290T                            |

| Cambio de nucleótido           | Cambio de nucleótido        | Cambio de secuencia de proteínas |
|--------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 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.877C>A                       | c.C877A                     | P293T                            |
| c.881T>C                       | c.T881C                     | L294S                            |
| 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.893A>G                       | c.A893G                     | N298S                            |
| c.897C>G o c.897C>A            | c.C897G o c.C897A           | D299E                            |
| c.898C>T                       | c.C898T                     | L300F                            |
| c.899T>C                       | c.T899C                     | L300P                            |
| c.901C>G                       | c.C901G                     | R301G                            |
| c.902G>C                       | c.G902C                     | R301P                            |
| c.902G>A                       | c.G902A                     | R301Q                            |
| c.902G>T                       | c.G902T                     | R301L                            |
| c.907A>T                       | c.A907T                     | I303F                            |
| c.908T>A                       | c.T908A                     | I303N                            |
| c.911G>A                       | c.G911A                     | S304N                            |
| c.911G>C                       | c.G911C                     | S304T                            |
| c.919G>A                       | c.G919A                     | A307T                            |
| c.922A>G                       | c.A922G                     | K308E                            |
| c.924A>T o c.924A>C            | c.A924T o c.A924C           | K308N                            |
| c.925G>C                       | c.G925C                     | A309P                            |
| c.926C>T                       | c.C926T                     | A309V                            |
| c.928C>T                       | c.C928T                     | L310F                            |
| c.931C>G                       | c.C931G                     | L311V                            |
| c.935A>G                       | c.A935G                     | Q312R                            |
| 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                            |
| c.946G>A                       | c.G946A                     | V316I                            |
| c.947T>G                       | c.T947G                     | V316G                            |
| c.950T>C                       | c.T950C                     | I317T                            |
| c.955A>T                       | c.A955T                     | I319F                            |
| c.956T>C                       | c.T956C                     | I319T                            |
| c.959A>T                       | c.A959T                     | N320I                            |

| Cambio de nucleótido  | Cambio de nucleótido | Cambio de secuencia de proteínas |
|-----------------------|----------------------|----------------------------------|
| 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.966C>A o c.966C>G   | c.C966A o c.C966G    | D322E                            |
| c.968C>G              | c.C968G              | P323R                            |
| c.973G>A              | c.G973A              | G325S                            |
| c.973G>C              | c.G973C              | G325R                            |
| c.978G>C o c.978G>T   | c.G978C o c.G978T    | K326N                            |
| c.979C>G              | c.C979G              | Q327E                            |
| c.980A>T              | c.A980T              | Q327L                            |
| c.983G>C              | c.G983C              | G328A                            |
| c.989A>G              | c.A989G              | Q330R                            |
| c.1001G>A             | c.G1001A             | G334E                            |
| c.1010T>C             | c.T1010C             | F337S                            |
| c.1012G>A             | c.G1012A             | E338K                            |
| c.1016T>A             | c.T1016A             | V339E                            |
| c.1027C>A             | c.C1027A             | P343T                            |
| c.1028C>T             | c.C1028T             | P343L                            |
| c.1033T>C             | c.T1033C             | S345P                            |
| c.1046G>C             | c.G1046C             | W349S                            |
| c.1055C>G             | c.C1055G             | A352G                            |
| c.1055C>T             | c.C1055T             | A352V                            |
| c.1061T>A             | c.T1061A             | I354K                            |
| c.1066C>G             | c.C1066G             | R356G                            |
| c.1066C>T             | c.C1066T             | R356W                            |
| c.1067G>A             | c.G1067A             | R356Q                            |
| c.1067G>C             | c.G1067C             | R356P                            |
| 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.1076T>C             | c.T1076C             | I359T                            |
| c.1078G>A             | c.G1078A             | G360S                            |
| c.1078G>T             | c.G1078T             | G360C                            |
| c.1079G>A             | c.G1079A             | G360D                            |
| c.1082G>A             | c.G1082A             | G361E                            |
| c.1082G>C             | c.G1082C             | G361A                            |
| c.1084C>A             | c.C1084A             | P362T                            |

| Cambio de nucleótido | Cambio de nucleótido | Cambio de secuencia de proteínas |
|----------------------|----------------------|----------------------------------|
| c.1085C>T            | c.C1085T             | P362L                            |
| c.1087C>T            | c.C1087T             | R363C                            |
| c.1088G>A            | c.G1088A             | R363H                            |
| c.1102G>A            | c.G1102A             | A368T                            |
| c.1117G>A            | c.G1117A             | G373S                            |
| c.1124G>A            | c.G1124A             | G375E                            |
| c.1153A>G            | c.A1153G             | T385A                            |
| c.1168G>A            | c.G1168A             | V390M                            |
| c.1172A>C            | c.A1172C             | K391T                            |
| c.1184G>A            | c.G1184A             | G395E                            |
| c.1184G>C            | c.G1184C             | G395A                            |
| c.1192G>A            | c.G1192A             | E398K                            |
| c.1202_1203insGACTTC | c.1202_1203insGACTTC | p.T400_S401dup                   |
| c.1208T>C            | c.T1208C             | L403S                            |
| c.1225C>G            | c.C1225G             | P409A                            |
| c.1225C>T            | c.C1225T             | P409S                            |
| c.1225C>A            | c.C1225A             | P409T                            |
| c.1228A>G            | c.A1228G             | T410A                            |
| c.1229C>T            | c.C1229T             | T410I                            |
| c.1232G>A            | c.G1232A             | G411D                            |
| c.1235C>A            | c.C1235A             | T412N                            |
| c.1253A>G            | c.A1253G             | E418G                            |
| c.1261A>G            | c.A1261G             | M421V                            |

### **Función renal en pacientes de Fabry**

5 El deterioro progresivo de la función renal es una complicación importante de la enfermedad de Fabry. Por ejemplo, los pacientes asociados con un fenotipo de Fabry clásico presentan una disfunción renal progresiva que eventualmente puede requerir diálisis o trasplante renal.

10 Un método frecuentemente usado en la técnica para evaluar la función renal es la FG. En general, la FG es el volumen de líquido filtrado de los capilares glomerulares renales a la cápsula de Bowman por unidad de tiempo. Clínicamente, las estimaciones de la FG se hacen basándose en el aclaramiento de creatinina del suero. La FG puede estimarse recogiendo orina para determinar la cantidad de creatinina que se ha eliminado de la sangre en un intervalo de tiempo determinado. También pueden tenerse en cuenta la edad, el tamaño corporal y el sexo. Cuanto más baja sea la cifra de la FG, más avanzado está el daño renal.

15 Algunos estudios indican que los pacientes de Fabry no tratados experimentan un descenso promedio de la FG entre 7,0 y 18,9 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> al año, mientras que los pacientes que reciben TRE pueden experimentar un descenso promedio de la FG entre 2,0 y 2,7 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> al año, aunque pueden producirse descensos más rápidos en pacientes con proteinuria más significativa o con una enfermedad renal crónica más grave.

20 La FG estimada (FGe) se calcula a partir de la creatinina sérica usando una ecuación contrastable por espectrometría de masas de dilución isotópica (IDMS). Dos de las ecuaciones más comúnmente usadas para estimar la velocidad de filtración glomerular (FG) a partir de la creatinina sérica son la ecuación de la Colaboración en Epidemiología de la Enfermedad Renal Crónica (CKD-EPI) y la ecuación del estudio Modificación de la Dieta en la Enfermedad Renal (MDRD). Tanto la ecuación del estudio MDRD como la CKD-EPI incluyen variables de edad, sexo y raza, lo que puede permitir a los proveedores observar la presencia de CKD a pesar de que la concentración de creatinina sérica parezca estar dentro o justo por encima del intervalo de referencia de la normalidad.

25

La ecuación de CKD-EPI usa una "interpolación polinómica segmentaria" de 2 pendientes para modelar la relación entre la FG y la creatinina sérica, la edad, el sexo y la raza. La ecuación CKD-EPI expresada como una única ecuación:

$$FG = 141 \times \min(S_{cr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(S_{cr}/\kappa, 1)^{-1,209} \times 0,993^{Edad} \times 1,018 [\text{si es mujer}] \times 1,159 [\text{si es de raza negra}]$$

donde:

$S_{cr}$  es la creatinina sérica en mg/dl,

$\kappa$  es 0,7 para las mujeres y 0,9 para los hombres,

$\alpha$  es -0,329 para las mujeres y -0,411 para los hombres,

mín indica el mínimo de  $S_{cr}/\kappa$  o 1, y

máx indica el máximo de  $S_{cr}/\kappa$  o 1.

A continuación, se presenta la ecuación del estudio MDRD contrastable por IDMS (para métodos de creatinina calibrados con un método de referencia de IDMS):

$$FG \text{ (ml/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (Scr)^{-1,154} \times (Edad)^{-0,203} \times (0,742 \text{ si es mujer}) \times (1,212 \text{ si es afroamericano})$$

La ecuación no requiere variables de peso o estatura porque los resultados se comunican normalizados a 1,73 m<sup>2</sup> de superficie corporal, que es una superficie de adulto promedio aceptada. La ecuación ha sido validada ampliamente en poblaciones caucásicas y afroamericanas de entre 18 y 70 años con función renal alterada (FGe < 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) y ha mostrado un buen rendimiento en pacientes con todas las causas comunes de enfermedad renal.

Un método para estimar la tasa de aclaramiento de creatinina ( $C_{Cr}$ ) es usar la ecuación de Cockcroft-Gault, que a su vez estima la FR en ml/min:

$$\text{Aclaramiento de creatinina (ml/min)} = [(140 - \text{Edad}) \times \text{Masa (kg)}] \div 72 \times \text{Creatinina sérica (mg/dl)}$$

[\* multiplicado por 0,85 si es mujer]

La ecuación de Cockcroft-Gault es la sugerida por la Administración de Alimentos y Medicamentos para los estudios de disfunción renal. Es habitual que el aclaramiento de creatinina calculado mediante la fórmula de Cockcroft-Gault se normalice para una superficie corporal de 1,73 m<sup>2</sup>. Por lo tanto, esta ecuación puede expresarse como la FGe estimada en ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. El intervalo normal de FG, ajustado a la superficie corporal, es de 100-130 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> en hombres y 90-120 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> en mujeres menores de 40 años.

La gravedad de la enfermedad renal crónica se ha definido en seis estadios (véase también la Tabla 2): (Estadio 0) Función renal normal - FG superior a 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> y sin proteinuria; (Estadio 1) - FG superior a 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> con evidencia de daño renal; (Estadio 2) (leve) - FG de 60 a 89 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> con evidencia de daño renal; (Estadio 3) (moderado) - FG de 30 a 59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; (Estadio 4) (grave) - FG de 15 a 29 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; (Estadio 5) disfunción renal - FG inferior a 15 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. La Tabla 2 muestra los distintos estadios de la enfermedad renal con sus correspondientes niveles de FG.

Tabla 2

| Estadio de la disfunción renal crónica | Nivel de FG (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ) |
|----------------------------------------|-------------------------------------------|
| Estadio 1 (Normal)                     | ≥ 90                                      |
| Estadio 2 (Leve)                       | 60 - 89                                   |
| Estadio 3 (Moderado)                   | 30 - 59                                   |
| Estadio 4 (Grave)                      | 15 - 29                                   |
| Estadio 5 (Insuficiencia renal)        | < 15                                      |

### **Dosis, formulación y administración**

Uno o más de las pautas posológicas descritas en el presente documento son particularmente adecuadas para los pacientes de Fabry que presentan algún grado de disfunción renal. Varios estudios han investigado el uso de 150 mg de clorhidrato de migalastat cada dos días (QOD) en pacientes de Fabry. Un estudio fue un ensayo de 24 meses, incluido un periodo de doble ciego controlado con placebo de 6 meses, en 67 pacientes sin tratamiento previo con TRE. Otro estudio fue un ensayo comparativo con tratamiento activo de 18 meses en 57 pacientes con tratamiento previo con TRE con una extensión abierta (OLE) de 12 meses. Ambos estudios incluyeron pacientes que tenían una velocidad de filtración glomerular estimada (FGe)  $\geq 30$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. En consecuencia, ambos estudios incluyeron pacientes de Fabry con función renal normal, así como pacientes con disfunción renal leve y moderada, pero ninguno de los estudios incluyó pacientes con disfunción renal grave.

Los estudios sobre el tratamiento con migalastat de pacientes de Fabry establecieron que 150 mg de clorhidrato de migalastat cada dos días ralentizaban la progresión de la enfermedad, como muestran los marcadores sustitutos.

Así pues, en una o más realizaciones, al paciente de Fabry se le administra migalastat o una sal del mismo con una frecuencia de una vez cada dos días (también denominada "QOD"). En varias realizaciones, las dosis descritas en el presente documento corresponden a clorhidrato de migalastat o una dosis equivalente de migalastat o una sal del mismo distinta de la sal clorhidrato. En algunas realizaciones, estas dosis corresponden a la base libre de migalastat. En realizaciones alternativas, estas dosis corresponden a una sal de migalastat. En otras realizaciones, la sal de migalastat es clorhidrato de migalastat. La administración de migalastat o una sal de migalastat se denomina en el presente documento "terapia con migalastat".

La cantidad eficaz de migalastat o la sal del mismo puede estar en el intervalo de aproximadamente 100 mg de FBE a aproximadamente 150 mg de FBE. Las dosis a modo de ejemplo incluyen aproximadamente 100 mg de FBE, aproximadamente 105 mg de FBE, aproximadamente 110 mg de FBE, aproximadamente 115 mg de FBE, aproximadamente 120 mg de FBE, aproximadamente 123 mg de FBE, aproximadamente 125 mg de FBE, aproximadamente 130 mg de FBE, aproximadamente 135 mg de FBE, aproximadamente 140 mg de FBE, aproximadamente 145 mg de FBE o aproximadamente 150 mg de FBE.

Una vez más, se observa que 150 mg de clorhidrato de migalastat son equivalentes a 123 mg de la forma de base libre de migalastat. Por lo tanto, en una o más realizaciones, la dosis es 150 mg de clorhidrato de migalastat o una dosis equivalente de migalastat o una sal del mismo distinta de la sal de clorhidrato, administrada con una frecuencia de una vez cada dos días. Como se ha indicado anteriormente, esta dosis se denomina 123 mg de FBE de migalastat. En realizaciones adicionales, la dosis es 150 mg de clorhidrato de migalastat administrados con una frecuencia de una vez cada dos días. En otras realizaciones, la dosis es 123 mg de la base libre de migalastat administrada con una frecuencia de una vez cada dos días.

En diversas realizaciones, la cantidad eficaz es de aproximadamente 122 mg, aproximadamente 128 mg, aproximadamente 134 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 146 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 152 mg, aproximadamente 159 mg, aproximadamente 165 mg, aproximadamente 171 mg, aproximadamente 177 mg o aproximadamente 183 mg de clorhidrato de migalastat.

Por consiguiente, en diversas realizaciones, la terapia con migalastat incluye la administración de 123 mg de FBE con una frecuencia de una vez cada dos días, tal como 150 mg de clorhidrato de migalastat cada dos días.

La administración de migalastat o la sal del mismo puede ser durante un periodo de tiempo determinado. En una o más realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administra durante una duración de al menos 28 días, tal como al menos 30, 60 o 90 días, o al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20, 24, 30 o 36 meses, o al menos 1, 2, 3, 4 o 5 años. En diversas realizaciones, la terapia con migalastat es una terapia con migalastat a largo plazo de al menos 6 meses, tal como al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20, 24, 30 o 36 meses o al menos 1, 2, 3, 4 o 5 años.

La administración de migalastat o la sal del mismo según la presente invención puede ser en una formulación adecuada para cualquier vía de administración, pero se administra preferentemente en una forma de administración oral, tal como un comprimido, una cápsula o una disolución. Como un ejemplo, al paciente se le administran por vía oral cápsulas que contienen 150 mg de clorhidrato de migalastat o una dosis equivalente de migalastat o una sal del mismo distinta de la sal clorhidrato.

En algunas realizaciones, la PC (migalastat o la sal del mismo) se administra por vía oral. En una o más realizaciones, la PC (migalastat o la sal del mismo) se administra mediante inyección. La PC puede ir acompañada de un portador farmacéuticamente aceptable, que puede depender del método de administración.

En una o más realizaciones, la PC (migalastat o la sal del mismo) se administra como monoterapia, y puede estar en una forma adecuada para cualquier vía de administración, incluyendo, por ejemplo, por vía oral en forma de comprimidos o cápsulas o líquido, o en disolución acuosa estéril para inyección. En otras realizaciones, la PC se proporciona en un polvo liofilizado seco que se añade a la formulación de la enzima de sustitución durante o

inmediatamente después de la reconstitución para prevenir la agregación de la enzima *in vitro* antes de la administración.

5 Cuando la PC (migalstat o la sal del mismo) se formula para administración oral, los comprimidos o cápsulas pueden prepararse por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); cargas (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); desintegrantes (por ejemplo, almidón de patata o glicolato sódico de almidón); o humectantes (por ejemplo, laurilsulfato sódico). Los comprimidos pueden recubrirse por métodos bien conocidos en la técnica. Los preparados líquidos para 10 administración oral pueden adoptar la forma de, por ejemplo, disoluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichos preparados líquidos pueden prepararse por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de la celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábica); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Los preparados también pueden contener sales tampón, aromatizantes, colorantes y edulcorantes, según proceda. Los preparados para administración oral pueden formularse 15 adecuadamente para proporcionar una liberación controlada del compuesto activo de chaperona.

20 Las formulaciones farmacéuticas de la PC (migalstat o la sal del mismo) adecuadas para uso parenteral/inyectable incluyen generalmente disoluciones acuosas estériles (cuando son solubles en agua), o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser líquida hasta el punto de que exista fácil jeringabilidad. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y se debe conservar contra la acción contaminante de microorganismos, tales como 25 bacterias y hongos. El portador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol, y similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede conseguirse mediante diversos agentes 30 antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, alcohol bencílico, ácido sórbico y similares. En muchos casos, será razonable incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro sódico. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasen la absorción, por ejemplo, monoesterato de aluminio y gelatina.

35 Las disoluciones inyectables estériles se preparan incorporando la enzima purificada (si existe) y la PC (migalstat o la sal del mismo) en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios de los otros ingredientes enumerados anteriormente, según proceda, seguido de esterilización por filtro o terminal. En general, las dispersiones se preparan incorporando los diversos principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los demás ingredientes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la 40 preparación de disoluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son el secado a vacío y la técnica de liofilización que producen un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de la disolución estéril previamente filtrada del mismo.

45 La formulación puede contener un excipiente. Los excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden incluirse en la formulación son tampones, tales como tampón citrato, tampón fosfato, tampón acetato, tampón bicarbonato, aminoácidos, urea, alcoholes, ácido ascórbico y fosfolípidos; proteínas, como seroalbúmina, colágeno y gelatina; sales, tales como EDTA o EGTA, y cloruro sódico; liposomas; polivinilpirrolidona; azúcares, tales como dextrano, manitol, sorbitol y glicerol; propilenglicol y polietilenglicol (por ejemplo, PEG-4000, PEG-6000); glicerol; glicina u otros aminoácidos; y lípidos. Los sistemas tampón que se pueden usar con las formulaciones incluyen citrato, acetato, 50 bicarbonato y tampones fosfato. El tampón fosfato es una realización preferida.

La vía de administración del compuesto de chaperona puede ser oral o parenteral, incluyendo intravenosa, subcutánea, intrarterial, intraperitoneal, oftálmica, intramuscular, yugal, rectal, vaginal, intraorbital, intracerebral, intradérmica, intracraneal, intraespinal, intraventricular, intratecal, intracisternal, intracapsular, intrapulmonar, intranasal, 55 transmucosa, transdérmica o por inhalación.

La administración de las formulaciones parenterales descritas anteriormente del compuesto de chaperona puede realizarse mediante inyecciones periódicas de un bolo del preparado, o puede administrarse por administración intravenosa o intraperitoneal desde un reservorio externo (por ejemplo, una bolsa i.v.) o interno (por ejemplo, un 60 implante bioerosionable).

Las realizaciones referentes a formulaciones farmacéuticas y la administración pueden combinarse con cualquiera de las otras realizaciones de la invención, por ejemplo, realizaciones referentes a migalstat o la sal del mismo para su uso en el tratamiento de un paciente diagnosticado con la enfermedad de Fabry, así como realizaciones referentes a 65 mutaciones susceptibles, la PC y las dosis adecuadas de las mismas.

En una o más realizaciones, la PC (migalastat o la sal del mismo) se administra en combinación con TRE. La TRE aumenta la cantidad de proteína mediante la introducción exógena de enzimas naturales o biológicamente funcionales por infusión. Esta terapia se ha desarrollado para muchos trastornos genéticos, incluidas las LSD, tales como la enfermedad de Fabry, a la que se ha hecho referencia anteriormente. Tras la infusión, se espera que la enzima exógena sea absorbida por los tejidos a través de un mecanismo no específico o específico de receptor. En general, la eficiencia de captación no es alta y el tiempo de circulación de la proteína exógena es corto. Además, la proteína exógena es inestable y está sujeta a una rápida degradación intracelular, además de tener el potencial de reacciones inmunológicas adversas con tratamientos posteriores. En una o más realizaciones, la chaperona se administra al mismo tiempo que la enzima de reemplazo (por ejemplo,  $\alpha$ -Gal A de reemplazo). En algunas realizaciones, la chaperona se coformula con la enzima de reemplazo (por ejemplo,  $\alpha$ -Gal A de reemplazo).

En una o más realizaciones, un paciente se cambia de TRE a terapia con migalastat. En algunas realizaciones, se identifica a un paciente en TRE, se interrumpe la TRE del paciente y el paciente comienza a recibir la terapia con migalastat. La terapia con migalastat puede ser según cualquiera de los métodos descritos en el presente documento.

### **Estabilización de la función renal**

Las pautas posológicas descritas en el presente documento pueden estabilizar la función renal en pacientes de Fabry con grados variables de disfunción renal. En una o más realizaciones, a un paciente de Fabry con disfunción renal se le administran aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de FBE de migalastat o la sal del mismo a una frecuencia de una vez cada dos días. En una o más realizaciones, al paciente se le administran 123 mg de FBE de migalastat o la sal del mismo, tal como 123 mg de migalastat o 150 mg de clorhidrato de migalastat cada dos días. En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada. En realizaciones específicas, el paciente tiene disfunción renal leve. En otras realizaciones específicas, el paciente tiene disfunción renal moderada. El paciente puede no haber recibido TRE o haber recibido tratamiento previo con TRE.

La administración de migalastat puede ser durante un determinado periodo de tiempo. En una o más realizaciones, el migalastat se administra durante al menos 28 días, tal como al menos 30, 60 o 90 días o al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20 o 24 meses o al menos 1, 2, 3, 4 o 5 años. En diversas realizaciones, la terapia con migalastat es una terapia a largo plazo de al menos 6 meses, tal como al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20 o 24 meses o al menos 1, 2, 3, 4 o 5 años.

La terapia con migalastat puede reducir el deterioro de la función renal de un paciente de Fabry en comparación con el mismo paciente sin tratamiento con terapia con migalastat. En una o más realizaciones, la terapia con migalastat proporciona un cambio anualizado en  $FG_{eCKD-EPI}$  para un paciente que es mayor que (es decir, más positivo que)  $-5,0 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ , tal como mayor que  $-4,5, -4,0, -3,5, -3,0, -2,5, -2,0, -1,5, -1,0, -0,9, -0,8, -0,7, -0,6, -0,5, -0,4, -0,3, -0,2, -0,1$  o incluso mayor que  $0 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ . En una o más realizaciones, la terapia con migalastat proporciona un cambio anualizado en la  $FG_{mIoHexol}$  para un paciente que es superior a  $-5,0 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ , por ejemplo, superior a  $-4,5, -4,0, -3,5, -3,0, -2,5, -2,0, -1,5, -1,0, -0,9, -0,8, -0,7, -0,6, -0,5, -0,4, -0,3, -0,2, -0,1$  o incluso superior a  $0 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ . Por consiguiente, el tratamiento con migalastat puede reducir el deterioro o incluso mejorar la función renal del paciente. Estas tasas anualizadas de cambio pueden medirse durante un periodo de tiempo específico, tal como durante 6 meses, 12 meses, 18 meses, 24 meses, 30 meses, 36 meses, 48 meses o 60 meses.

La terapia con migalastat puede reducir el deterioro de la función renal de un grupo de pacientes de Fabry, tal como subpoblaciones de pacientes de Fabry que tienen diversos grados de disfunción renal. En una o más realizaciones, la terapia con migalastat proporciona una tasa media anualizada de cambio en  $FG_{eCKD-EPI}$  en pacientes de Fabry con disfunción renal leve, moderada o grave que es superior a  $-5,0 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ , tal como superior a  $-4,5, -4,0, -3,5, -3,0, -2,5, -2,0, -1,5, -1,0, -0,9, -0,8, -0,7, -0,6, -0,5, -0,4, -0,3, -0,2, -0,1$  o incluso superior a  $0 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ . En una o más realizaciones, el tratamiento con migalastat proporciona una tasa media anualizada de cambio de  $FG_{mIoHexol}$  en pacientes con disfunción renal leve, moderada o grave superior a  $-5,0 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ , por ejemplo, superior a  $-4,5, -4,0, -3,5, -3,0, -2,5, -2,0, -1,5, -1,0, -0,9, -0,8, -0,7, -0,6, -0,5, -0,4, -0,3, -0,2, -0,1$  o incluso superior a  $0 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ . Estas tasas medias anualizadas de cambio pueden medirse durante un periodo de tiempo específico, tal como durante 6 meses, 12 meses, 18 meses, 24 meses, 30 meses, 36 meses, 48 meses o 60 meses.

### **Masa ventricular izquierda**

Las pautas posológicas descritas en el presente documento pueden mejorar el LMVi en pacientes de Fabry. La historia natural de la LMVi y la hipertrofia cardíaca en pacientes de Fabry no tratados, independientemente del fenotipo (Patel, O'Mahony et al. 2015), es un aumento progresivo del LMVi entre  $+4,07$  y  $+8,0 \text{ g/m}^2/\text{año}$  (Kampmann, Linhart et al. 2008; Wyatt, Henley et al. 2012; Germain, Weidemann et al. 2013). Como los pacientes de Fabry no tratados presentan normalmente un aumento de la LMVi con el tiempo, tanto la disminución como el mantenimiento de la LMVi son indicios de un beneficio de la terapia con migalastat.

La terapia con migalastat puede reducir el aumento de la LMVi en un paciente de Fabry en comparación con el mismo paciente sin tratamiento con la terapia con migalastat. En una o más realizaciones, la terapia con migalastat proporciona un cambio en el LMVi para un paciente que es menor que (es decir, más negativo que)  $0 \text{ g/m}^2$ , tal como

menor o igual que aproximadamente -0,5, -1, -1,5, -2, -2,5, -3, -3,5, -4, -4,5, -5, -5,5, -6, -7, -8, -9, -10, -11, -12, -13, -14, -15, -16, -17, -18, -19 o -20 g/m<sup>2</sup>. Expresado de otro modo, en una o más realizaciones, la terapia con migalastat proporciona una reducción en LVMi superior a 0 g/m<sup>2</sup>, tal como reducciones de al menos aproximadamente 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 g/m<sup>2</sup>. En una o más realizaciones, el paciente tiene disfunción renal leve o moderada. En realizaciones específicas, el paciente tiene disfunción renal leve. En otras realizaciones específicas, el paciente tiene disfunción renal moderada. El paciente puede no haber recibido TRE o haber recibido tratamiento previo con TRE.

En una o más realizaciones, la terapia con migalastat proporciona una disminución promedio de LVMi en un grupo de pacientes con tratamiento previo con TRE de al menos aproximadamente 1 g/m<sup>2</sup> tras 18 meses de administración de migalastat o una sal del mismo. En diversas realizaciones, la disminución promedio en el grupo de pacientes con tratamiento previo con TRE tras 18 meses de administración de migalastat o una sal del mismo es de al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 g/m<sup>2</sup>.

En una o más realizaciones, la terapia con migalastat proporciona una disminución promedio de LVMi en un grupo de pacientes con tratamiento previo con TRE que tienen disfunción renal moderada de al menos aproximadamente 1 g/m<sup>2</sup> tras 18 meses de administración de migalastat o una sal del mismo. En diversas realizaciones, la disminución promedio en el grupo de pacientes con tratamiento previo con TRE tras 18 meses de administración de migalastat o una sal del mismo es de al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 g/m<sup>2</sup>.

En una o más realizaciones, la terapia con migalastat proporciona una disminución promedio de LVMi en un grupo de pacientes sin tratamiento previo con TRE de al menos aproximadamente 1 g/m<sup>2</sup> después de 24 meses de administración de migalastat o una sal del mismo. En diversas realizaciones, la disminución promedio en el grupo de pacientes sin tratamiento previo con TRE después de 24 meses de administración de migalastat o una sal del mismo es de al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 g/m<sup>2</sup>.

En una o más realizaciones, la terapia con migalastat proporciona una disminución promedio del LVMi en un grupo de pacientes sin tratamiento previo con TRE que tienen disfunción renal moderada de al menos aproximadamente 1 g/m<sup>2</sup> después de 24 meses de administración de migalastat o una sal del mismo. En diversas realizaciones, la disminución promedio en el grupo de pacientes sin tratamiento previo con TRE después de 24 meses de administración de migalastat o una sal del mismo es de al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 g/m<sup>2</sup>.

Referencia en toda esta memoria descriptiva a "una realización", "ciertas realizaciones", "diversas realizaciones", "una o más realizaciones" o "una realización" significa que una característica, estructura, material o característica particular descrito a propósito de la realización se incluye en al menos una realización de la invención. Por lo tanto, apariciones de las expresiones tales como "en una o más realizaciones", "en ciertas realizaciones", "en diversas realizaciones" o "en una realización" en diversos lugares en toda esta memoria descriptiva no son necesariamente con referencia a la misma realización de la invención. Además, las características, estructuras, materiales o características particulares se pueden combinar en cualquier modo adecuado en una o más realizaciones.

Aunque la invención en el presente documento se ha descrito con referencia a realizaciones particulares, se debe entender que estas realizaciones son simplemente ilustrativas de los principios y aplicaciones de la presente invención. Será evidente para los expertos en la técnica que se pueden hacer diversas modificaciones y variaciones a la presente invención. Por lo tanto, se pretende que la presente invención incluya modificaciones y variaciones que están dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

En toda la presente solicitud se citan patentes, solicitudes de patente, publicaciones, descripciones de producto y protocolos.

## EJEMPLOS

### **Ejemplo 1: Farmacocinética de migalastat en pacientes no Fabry con disfunción renal**

Se realizó un ensayo clínico para estudiar la farmacocinética y la seguridad del HCl de migalastat en sujetos no Fabry con disfunción renal. Se administró una dosis única de 150 mg de HCl de migalastat a sujetos con disfunción renal leve, moderada y grave, y función renal normal. La FGe se estimó mediante la ecuación de Cockcroft-Gault según la Guía de la FDA para estudios de disfunción renal.

Los voluntarios se inscribieron en dos cohortes estratificadas según la función renal calculada mediante la ecuación de Cockcroft-Gault para el aclaramiento de creatinina (CL<sub>CR</sub>). Los sujetos se asignaron a los grupos basándose en un CL<sub>CR</sub> estimado en el momento del cribado, calculado usando la ecuación de Cockcroft-Gault. Para cada sujeto, se determinaron los siguientes parámetros FC de migalastat plasmático mediante análisis no compartimental con el software WinNonlin® (Pharsight Corporation, Versión 5.2).

C<sub>máx</sub> concentración máxima observada

t<sub>máx</sub> tiempo hasta la concentración máxima

AUC<sub>0-t</sub> área bajo la curva concentración-tiempo desde la hora 0 hasta la última concentración medible, calculada usando la regla lineal trapezoidal para concentraciones crecientes y la regla logarítmica para concentraciones decrecientes

AUC<sub>0-∞</sub> área bajo la curva concentración-tiempo extrapolada al infinito, calculada usando la fórmula

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t / \lambda Z$$

donde C<sub>t</sub> es la última concentración medible y λZ es la constante de velocidad de eliminación terminal aparente

λZ constante de velocidad de eliminación terminal aparente, donde λZ es la magnitud de la pendiente de la regresión lineal del logaritmo de la concentración frente al perfil de tiempo durante la fase terminal

t<sub>1/2</sub> semivida de eliminación terminal aparente (siempre que sea posible), donde

$$t_{1/2} = (\ln 2) / \lambda Z$$

CL/F aclaramiento oral, calculado como Dosis/AUC<sub>0-∞</sub>

Vd/F volumen de distribución oral, calculado como Dosis/ AUC<sub>0-∞</sub> · λZ

C<sub>48</sub> concentración a las 48 horas después de la dosis

Los parámetros farmacocinéticos determinados fueron: área bajo la curva concentración-tiempo (AUC) desde el tiempo cero hasta la última concentración medible después de la dosis (AUC<sub>0-t</sub>) y extrapolada al infinito (AUC<sub>0-∞</sub>), concentración máxima observada (C<sub>máx</sub>), tiempo hasta la C<sub>máx</sub> (t<sub>máx</sub>), concentración a las 48 horas después de la dosis (C<sub>48</sub>), semivida de eliminación terminal (t<sub>1/2</sub>), aclaramiento oral (CL/F) y constante de velocidad de eliminación terminal aparente (λZ).

Se definió que los sujetos del estudio presentaban disfunción renal si el aclaramiento de creatinina (CL<sub>CR</sub>) era inferior a 90 ml/min (es decir, CL<sub>CR</sub> <90 ml/min), como se determina usando la fórmula de Cockcroft-Gault. Los sujetos se agruparon según el grado de disfunción renal: leve (CL<sub>CR</sub> ≥60 y <90 ml/min), moderada (CL<sub>CR</sub> ≥30 y <60 ml/min) o grave (CL<sub>CR</sub> ≥15 y <30 ml/min).

La farmacocinética plasmática y urinaria de migalastat se ha estudiado en voluntarios sanos y en pacientes de Fabry con función renal de normal a ligeramente alterada. En los estudios de dosis única, migalastat tuvo una velocidad de absorción moderada, alcanzando concentraciones máximas en aproximadamente 3 horas (intervalo, 1 a 6 horas) tras la administración oral en el intervalo de dosis estudiado. Los valores medios de C<sub>máx</sub> y AUC<sub>0-t</sub> aumentaron de forma proporcional a la dosis tras dosis orales de 75 mg a 1250 mg de migalastat. Las semividas de eliminación medias (t<sub>1/2</sub>) oscilaron de 3,04 a 4,79 horas. El porcentaje medio de la dosis recuperada en orina de las dosis evaluadas en el estudio de dosis única ascendente (SAD) fue del 32,2 %, 43,0 %, 49,3 % y 48,5 % para los grupos de dosis de 25 mg, 75 mg, 225 mg y 675 mg, respectivamente. En estudios de dosis múltiples ascendentes, solo se observó una acumulación mínima de migalastat plasmático. En un estudio de TQT, migalastat fue negativo en cuanto al efecto sobre la repolarización cardíaca con dosis únicas de 150 mg y 1250 mg (Johnson et al., Clin Pharmacol Drug Dev. 2013 Apr;2(2):120-32).

En este estudio de disfunción renal de dosis única realizado en sujetos no Fabry, las concentraciones plasmáticas de dosis única de HCl de migalastat de 150 mg aumentaron al aumentar el grado de insuficiencia renal en comparación con sujetos con función renal normal. Tras una dosis oral única de HCl de migalastat de 150 mg, la media del AUC<sub>0-∞</sub> de migalastat plasmático aumentó en sujetos con disfunción renal leve, moderada o grave en 1,2 veces, 1,8 veces y 4,5 veces, respectivamente, en comparación con sujetos sanos de control. Los aumentos de los valores plasmáticos de AUC<sub>0-∞</sub> de migalastat fueron estadísticamente significativos en sujetos con disfunción renal moderada o grave, pero no en sujetos con disfunción renal leve tras la administración de dosis única en comparación con sujetos con función renal normal. La t<sub>máx</sub> de migalastat se retrasó ligeramente en el grupo grave; la C<sub>máx</sub> no aumentó en ninguno de los grupos tras una dosis oral única de HCl de migalastat 150 mg en sujetos con grados variables de disfunción renal en comparación con sujetos de control sanos. Los niveles plasmáticos de migalastat C<sub>48</sub> fueron elevados en sujetos con disfunción renal moderada (predominantemente de sujetos con Cr<sub>CL</sub> <50 ml/min) y grave en comparación con sujetos de control sanos. La t<sub>1/2</sub> de migalastat en plasma aumentó a medida que aumentaba el grado de disfunción renal (media aritmética [mín, máx]: 6,4 [3,66, 9,47], 7,7 [3,81, 13,8], 22,2 [6,74, 48,3] y 32,3 [24,6, 48,0] h) en sujetos con función renal normal y en aquellos con disfunción renal leve, moderada o grave, respectivamente. La CL/F media disminuyó al aumentar el grado de insuficiencia renal y osciló de 12,1 a 2,7 l/h de disfunción renal de leve a grave (Johnson, et al., American College of Clinical Pharmacology 4.4 (2015): 256-261).

El aclaramiento de migalastat disminuyó al aumentar la disfunción renal, dando lugar a aumentos en la  $t_{1/2}$  plasmática de HCl de migalastat,  $AUC_{0-\infty}$  y  $C_{48}$  en comparación con sujetos con función renal normal. La incidencia de acontecimientos adversos fue comparable en todos los grupos de función renal.

5 Tras una dosis oral única de 150 mg de HCl de migalastat, la exposición plasmática (expresada como  $AUC_{0-t}$ ) aumentó a medida que aumentaba el grado de disfunción renal. La FIG. 1A muestra un aumento de los valores de  $AUC_{0-t}$  de migalastat a medida que disminuyen los valores de  $CL_{CR}$ . La FIG. 1B muestra los perfiles de concentración plasmática media (EE) de migalastat-tiempo para cada grupo de función renal. Los valores BLQ se introdujeron como cero y se incluyeron en el cálculo de las medias.

10 Como se demuestra en la FIG. 1C, a medida que empeora la disfunción renal, los valores de  $AUC_{0-t}$  de migalastat plasmático aumentan de manera no lineal. Los resultados demostraron que, a medida que empeoraba la disfunción renal, disminuía el aclaramiento de migalastat plasmático, lo que se traducía en un  $t_{1/2}$  prolongado, valores de  $C_{48}$  más elevados y una mayor exposición plasmática global ( $AUC_{0-\infty}$ ), en particular en sujetos con disfunción renal grave.

15 Migalastat se elimina principalmente sin cambios en la orina. Así pues, un aumento de la exposición a migalastat plasmático es coherente con un empeoramiento de la disfunción renal.

Conclusiones: El aclaramiento plasmático de migalastat disminuyó al aumentar el grado de disfunción renal.

20 En la Tabla 3 se muestra un resumen de los resultados FC.

Tabla 3

| FC                 |           | Grupo de función renal |                   |                   |                   |
|--------------------|-----------|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Parámetro          | Unidades  | Normal (N=8)           | Leve (N=8)        | Moderada (N=8)    | Grave (N=8)       |
| AUC <sub>0-t</sub> | (ng·h/ml) | 12306 (27,9)           | 14389 (31,1)      | 22126 (42,8)      | 53070 (27,0)      |
| AUC <sub>0-∞</sub> | (ng·h/ml) | 12397 (27,7)           | 14536 (30,7)      | 22460 (42,2)      | 56154 (24,9)      |
| C <sub>máx</sub>   | (ng/ml)   | 2100 (26,0)            | 2191 (28,8)       | 1868 (32,1)       | 2078 (45,5)       |
| t <sub>máx</sub>   | (h)       | 2,50 (1,50, 3,00)      | 2,50 (1,50, 4,00) | 3,00 (1,50, 4,00) | 4,27 (3,00, 8,00) |
| t <sub>1/2</sub>   | (h)       | 6,42 (1,93)            | 7,66 (3,02)       | 22,2 (14,2)       | 32,3 (7,35)       |
| CL/F               | (l/h)     | 12,1 (27,7)            | 10,3 (30,7)       | 6,68 (42,2)       | 2,67 (24,9)       |
| C <sub>48</sub>    | (ng/ml)   | 5,70 (3,63)            | 9,34 (7,57)       | 64,5 (68,1)       | 334 (126)         |

**Ejemplo 2: Simulaciones de dosis múltiples en sujetos con disfunción renal**

- 5 En el estudio de disfunción renal del Ejemplo 1, se observaron aumentos coherentes del área bajo la curva (AUC) y de la concentración mínima de migalastat a las 48 horas después de la dosis después de la administración QOD (C<sub>48</sub>) de 2 a 4 veces en valores de FGe ≤ 35 ml/min en relación con sujetos con función renal normal.

- 10 Se desarrolló un modelo FC poblacional para predecir las exposiciones y el tiempo por encima de Cl<sub>50</sub> en pacientes de Fabry con grados variables de disfunción renal. Este ejemplo proporciona simulaciones por ordenador de la administración de los sujetos con disfunción renal del Ejemplo 1. La suposición clave fue que la exposición caracterizada en sujetos no Fabry con disfunción renal es la misma que en pacientes de Fabry con disfunción renal. El programa de software fue WinNonlin versión 5.2 o superior. Las condiciones del modelo se describen a continuación. Se incluyeron en el ejercicio de modelización 11 sujetos que tenían un FGe<sub>Cockcroft-Gault</sub> ajustado por BSA ≤ 35 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; 3 tenían disfunción renal moderada, pero eran ≥ 30 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> y ≤ 35 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, y 8 eran ≥ 14 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> y < 30 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Se asumió el estado estacionario en la 7.<sup>a</sup> dosis.

- 20 Se usó un modelo de 2 compartimentos para estimar la Vd y las constantes de velocidad de eliminación a partir de los datos de dosis única. Estas estimaciones se introdujeron en cada régimen de simulación de dosis molecular.

- La FIG. 2 muestra los gráficos de simulación media para el régimen de dosis de 150 mg de HCl de migalastat QOD. La Tabla 4 muestra a continuación las exposiciones y los cocientes de acumulación.

- 25 La FIG. 3 muestra el AUC frente a C<sub>48</sub> del Ejemplo 1. Este gráfico vectorial proporciona una correlación visual del AUC con la concentración de C<sub>48</sub> en todos los niveles de función renal, y demuestra que los dos valores están bien correlacionados visualmente.

Tabla 4

| Sujeto           | Grupo de función renal | FGe-Cockcroft-Gault aj. por BSA (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ) | AUC <sub>0-48h</sub> | R <sub>ac48h</sub> |
|------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------|--------------------|
| 1                | Moderada (≥30 - ≤35)   | 35,3                                                          | 31920                | 1,12               |
| 2                | Moderada (≥30 - ≤35)   | 35,0                                                          | 35320                | 1,17               |
| 3                | Moderada (≥30 - ≤35)   | 32,2                                                          | 17507                | 1,12               |
| 4                | Grave (<30)            | 18,4                                                          | 59178                | 1,42               |
| 5                | Grave (<30)            | 17,0                                                          | 44124                | 1,21               |
| 6                | Grave (<30)            | 20,6                                                          | 37409                | 1,28               |
| 7                | Grave (<30)            | 15,8                                                          | 41687                | 1,54               |
| 8                | Grave (<30)            | 21,9                                                          | 45790                | 1,29               |
| 9                | Grave (<30)            | 29,3                                                          | 56331                | 1,17               |
| 10               | Grave (<30)            | 14,4                                                          | 23732                | 1,45               |
| 11               | Grave (<30)            | 24,4                                                          | 39012                | 1,26               |
| Media geométrica |                        | 22,9                                                          | 37256                | 1,27               |
| % de CV          |                        | 33,8                                                          | 33,4                 | 11,1               |

**Ejemplo 3: Farmacocinética de migalastat en pacientes de Fabry con disfunción renal**

El modelado informático anterior proporciona escenarios para la exposición plasmática a migalastat, pero no tiene en cuenta la disfunción renal en pacientes de Fabry. Es decir, los datos no incluyen el componente farmacodinámico (liso-Gb<sub>3</sub> plasmática). Así pues, se evaluaron dos pacientes de Fabry con disfunción renal. Un paciente (P1) tenía una disfunción renal moderada, mientras que el otro paciente (P2) tenía una disfunción renal grave. La Tabla 5 a continuación muestra la concentración plasmática de migalastat para P1 en comparación con un estudio de pacientes de Fabry sin tratamiento previo con TRE y sujetos con disfunción moderada del estudio de disfunción renal del Ejemplo 1. Hay dos conjuntos de mediciones de la concentración de migalastat tomados con 6 meses de diferencia, y el paciente había sido tratado previamente con migalastat. La Tabla 6 muestra información similar para P2, excepto en comparación con los pacientes con disfunción renal grave del estudio de disfunción renal del Ejemplo 1. El estudio con tratamiento previo con TRE se llevó a cabo en pacientes de Fabry con mutaciones susceptibles donde la FC poblacional se realizó a partir de muestras de sangre dispersas. La comparación con los resultados del estudio sin tratamiento previo con TRE permite comparar la FC en la población de Fabry con pacientes de Fabry mayoritariamente normales, pero algunos leves y unos pocos con disfunción moderada. Ninguno de los pacientes del estudio sin tratamiento previo con TRE tenía disfunción renal grave debido a que estos pacientes fueron excluidos del estudio.

Tabla 5

| Hora Nominal | Tiempo (h)        | Conc. de migalastat (ng/ml) | Conc. de migalastat 6 meses después (ng/ml) | Comparación con la FC del estudio sin tratamiento previo con TRE | Comparación con la disfunción moderada del Ejemplo 1 |
|--------------|-------------------|-----------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 0            | Antes de la dosis | 19,9                        | 36,4                                        | 8,70                                                             | 64,5 (105,6%)                                        |
| 3            | 3 h después       | 1620                        | 2160                                        | 1180 (31,0%)                                                     | 1868 (29,7%)                                         |
| 24           | 24 h después      | 168                         | 211                                         | -                                                                | 239 (85,1%)                                          |
| 48           | 48 h después      | 41,8                        | 62,4                                        | 8,70                                                             | 64,5 (105,6%)                                        |

Tabla 6

| Hora Nominal | Tiempo Texto | Ocasión | Concentración de migalastat (ng/ml) | Comparación con la FC del estudio sin tratamiento previo con TRE | Comparación con la disfunción grave del Ejemplo 1 |
|--------------|--------------|---------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 2            | 2 h          | 1       | 564                                 | -                                                                | 1549 (59,3%)                                      |
| 48           | 48 h         | 1       | 322                                 | 8,70                                                             | 334 (38,2%)                                       |
| 24           | 24 h         | 2       | 569                                 | -                                                                | 770 (26,5%)                                       |
| 48           | 48 h         | 2       | 260                                 | 8,70                                                             | 334 (38,2%)                                       |

Como se observa en la Tabla 5, la concentración de C<sub>48</sub>, aunque ha aumentado en un 49 %, sigue siendo similar a la de los sujetos no Fabry del Ejemplo 1 con disfunción renal moderada. C<sub>máx</sub> ha aumentado un 33 %, pero sigue siendo similar a la del Ejemplo 1. C<sub>24</sub> es similar a la del Ejemplo 1 para la disfunción renal moderada. La FG<sub>EMDRD</sub> también se mantiene dentro del intervalo para la disfunción moderada (32 ml/min).

Los porcentajes entre paréntesis son los coeficientes de variación, que son relativamente altos, correspondientes a la variabilidad en las concentraciones de tiempo 0 h o tiempo 48 h. Este resultado se debe probablemente al hecho de que la mitad de los sujetos del Ejemplo 1 con disfunción renal moderada tenían concentraciones bajas y la otra mitad concentraciones altas.

Las concentraciones a las 48 horas son más altas que a las 0 horas para P1 (tercera y cuarta columnas), pero para una persona con disfunción moderada del Ejemplo 1, la concentración a las 48 horas es la misma que a las 0 horas. Esto se debe a que en P1 se tomaron muestras de sangre separadas a las 0 y a las 48 horas. Sin embargo, en el Ejemplo 1 se usaron resultados de simulación de modelado de dosis repetidas a partir de datos de dosis única, por lo que los valores son uno en el mismo.

En la Tabla 6 se observan tendencias similares. En consecuencia, las Tablas 5 y 6 confirman una farmacocinética similar de migalastat en pacientes de Fabry y no Fabry que tienen disfunción renal similar.

La FIG. 4 muestra las concentraciones plasmáticas mínimas de migalastat de los pacientes de Fabry ( $C_{48}$ ) frente al estudio de disfunción renal del Ejemplo 1. La FIG. 5 muestra las exposiciones medias (DE) del estudio de disfunción renal frente a las AUC estimadas de pacientes de Fabry. Como se observa en la figura, P1 y P2 siguieron la tendencia general de los resultados del estudio de disfunción renal en pacientes no Fabry.

La Tabla 7 a continuación muestra liso-GB<sub>3</sub>/FGe para P1.

Tabla 7

| Visitas               | Liso-GB <sub>3</sub> (nM/l) | FGe (MDRD), Trazable por IDMS |
|-----------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Visita a los 18 meses | 11,1                        | 42                            |
| Visita a los 24 meses | 13,1                        | 37                            |
| Visita a los 30 meses | 10,8                        | No disponible                 |
| Visita a los 34 meses | 9,3                         | 32                            |

A pesar del descenso continuado de la función renal hasta una FGe de 32 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, la liso-GB<sub>3</sub> plasmática no ha mostrado cambios clínicamente relevantes respecto a las visitas anteriores, y las concentraciones plasmáticas de migalastat siguen siendo similares a las observadas en pacientes no Fabry con disfunción renal moderada.

Este estudio demuestra que la disfunción renal y las tendencias farmacocinéticas de los pacientes de Fabry se correlacionan con las tendencias de los pacientes no Fabry.

#### **Ejemplo 4: Simulaciones adicionales en sujetos con disfunción renal**

Este ejemplo proporciona simulaciones informáticas adicionales de la administración de migalastat de los sujetos con disfunción renal del Ejemplo 1.

Las FIG. 6A-D muestran la mediana de la concentración simulada y observada de migalastat frente al tiempo en sujetos con disfunción renal normal, grave, leve y moderada, respectivamente. La Tabla 8 a continuación muestra los datos.

Tabla 8

| Grupo de función renal (intervalo de CL <sub>CR</sub> ml/min), N | C <sub>máx</sub> <sup>a</sup> (ng/ml) | AUC <sub>0-∞</sub> <sup>a</sup> (h*ng/ml) | Relación de AUC | t <sub>1/2</sub> <sup>c</sup> (h) |
|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------|-----------------------------------|
| Normal (>=90), 8                                                 | 2270 (37,6)                           | 12808 (31,3)                              | -               | 6,2 (1,6)                         |
| Leve (>=60-<90), 8                                               | 2278 (22,5)                           | 15359 (25,2)                              | 1,2             | 8,0 (2,8)                         |
| Moderada (>=30-<60), 8                                           | 2058 (47,1)                           | 23897 (38,9)                              | 1,9             | 23,0 (13,3)                       |
| Grave (<30), 4                                                   | 2122 (29,1)                           | 61208 (23,1)                              | 4,8             | 32,5 (2,4)                        |
| <sup>a</sup> Media geométrica (% de CV)                          |                                       |                                           |                 |                                   |
| <sup>c</sup> Media (DE)                                          |                                       |                                           |                 |                                   |

Las FIG. 7A-D muestran las C<sub>máx</sub>, AUC, C<sub>mín</sub> y C<sub>48</sub> simuladas, respectivamente, para sujetos con disfunción renal normal, leve, moderada y grave.

Las FIG. 8A-D muestran la predicción del estado estacionario para QOD. La línea discontinua es el valor medio del estudio de QT. Las FIG. 9A-D muestran C<sub>máx</sub>, AUC, C<sub>mín</sub> y C<sub>48</sub>, respectivamente, para la misma simulación.

#### **Ejemplo 5: Resultados clínicos de la terapia con migalastat en pacientes de Fabry con disfunción renal y/o proteinuria elevada**

Como se ha descrito anteriormente, se realizaron varios estudios con 150 mg de clorhidrato de migalastat cada dos días (QOD) en pacientes de Fabry. Un estudio fue un ensayo de 24 meses, incluido un periodo de doble ciego controlado con placebo de 6 meses, en 67 pacientes sin tratamiento previo con TRE. El otro estudio fue un ensayo de 18 meses comparativo con tratamiento activo en 57 pacientes que han recibido tratamiento previo con TRE con una extensión abierta (OLE) de 12 meses. Tanto el estudio sin tratamiento previo con TRE como con tratamiento previo con TRE incluyeron pacientes de Fabry que tenían una FGe ≥30 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Los diseños de estudios para estos estudios se muestran en las FIG. 10A-B.

En el estudio con tratamiento previo con TRE, los parámetros de eficacia primaria fueron los cambios anualizados (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año) desde el nivel basal hasta el mes 18 en la FG medida usando el aclaramiento de iohexol (FG<sub>m<sub>iohexol</sub></sub>) y la FGe usando la fórmula de la Colaboración en Epidemiología de la Enfermedad Renal Crónica (CKD-EPI) (FGe<sub>CKD-EPI</sub>). También se calculó el cambio anualizado en la FGe usando la Modificación de la Dieta en la

Enfermedad Renal (FGe<sub>MDRD</sub>). En el estudio sin tratamiento previo con TRE, el parámetro primario de eficacia fue inclusiones de GL-3 por capilar intersticial renal. La función renal también se evaluó mediante FG<sub>m<sub>iohexol</sub></sub>, FGe<sub>CKD-EPI</sub> y FGe<sub>MDRD</sub>.

Un análisis a posteriori de los datos del estudio sin tratamiento previo con TRE examinó la tasa anualizada de cambio de FGe<sub>CKD-EPI</sub> en subgrupos basados en la FGe en el nivel basal para pacientes susceptibles con disfunción renal moderada (30 a <60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>), disfunción renal leve (60 a <90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) y función renal normal (≥90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). En la FIG. 11 se muestra la tasa anualizada de cambio de FGe<sub>CKD-EPI</sub> desde el nivel basal hasta los 18/24 meses. Como puede observarse en la FIG. 11, los pacientes con disfunción renal moderada tuvieron una tasa media anualizada de cambio ± EEM de FGe<sub>CKD-EPI</sub> de -0,7 ± 3,97 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año, los pacientes con disfunción renal leve tuvieron una tasa media anualizada de cambio de FGe<sub>CKD-EPI</sub> de -0,8 ± 1,01 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año y los pacientes con función renal normal tuvieron una tasa media anualizada de cambio de FGe<sub>CKD-EPI</sub> de 0,2 ± 0,90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año. Estos datos muestran que se observó una estabilización de la función renal con el tratamiento con migalastat independientemente de la FGe basal.

Un análisis a posteriori de los datos del estudio con tratamiento previo con TRE examinó la tasa anualizada de cambio de FGe<sub>CKD-EPI</sub> y FG<sub>m<sub>iohexol</sub></sub> en subgrupos basados en la FGe en el nivel basal para pacientes con disfunción renal leve/moderada (30 a <90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) y función renal normal (≥90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). En las FIG. 12A-B se muestran las tasas anualizadas de cambio desde el nivel basal hasta los 18 meses para los pacientes en terapia con migalastat (pacientes con mutaciones susceptibles) y TRE para FGe<sub>CKD-EPI</sub> y FG<sub>m<sub>iohexol</sub></sub>, respectivamente. Como puede observarse de la FIG. 12A, los pacientes con función renal normal tuvieron una tasa media anualizada de cambio de FGe<sub>CKD-EPI</sub> de -0,4 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año en la terapia con migalastat y de -1,03 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año en la TRE. Los pacientes con disfunción renal leve o moderada tuvieron una tasa media anualizada de cambio de FGe<sub>CKD-EPI</sub> de -3,33 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año con la terapia con migalastat y -9,05 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año con la TRE. Como puede observarse de la FIG. 12B, los pacientes con función renal normal tuvieron una tasa media anualizada de cambio FG<sub>m<sub>iohexol</sub></sub> de -4,35 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año en terapia con migalastat y -3,24 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año en TRE. Los pacientes con disfunción renal leve o moderada tuvieron una tasa media anualizada de variación de la FG<sub>m<sub>iohexol</sub></sub> de -3,51 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año con el tratamiento con migalastat y de -7,96 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año con la TRE. Estos datos muestran que la terapia con migalastat y la TRE tuvieron efectos favorables comparables sobre la función renal usando ambos métodos de FG.

Otro análisis a posteriori de datos del estudio con tratamiento previo con TRE examinó la tasa anualizada de cambio FGe<sub>CKD-EPI</sub> en subgrupos basados en la FGe en el nivel basal para pacientes con disfunción renal moderada (30 a <60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>), disfunción renal leve (60 a <90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) y función renal normal (≥90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). En la FIG. 13 se muestran las tasas anualizadas de cambio desde el nivel basal hasta los 18 meses para los pacientes en terapia con migalastat (pacientes con mutaciones susceptibles) y TRE. Como puede observarse en la FIG. 13, los pacientes con función renal normal tuvieron una tasa media anualizada de cambio ± EE del FGe<sub>CKD-EPI</sub> de -2,0 ± 0,57 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año con el tratamiento con migalastat y de -2,1 ± 1,60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año con la TRE. Los pacientes con disfunción renal leve tuvieron una tasa media anualizada de cambio ± EE de FGe<sub>CKD-EPI</sub> de -0,2 ± 1,25 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año en la terapia con migalastat y de -7,3 ± 6,01 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año con TRE. Los pacientes con disfunción renal moderada tuvieron una tasa media anualizada de cambio ± EE de FGe<sub>CKD-EPI</sub> de -4,5 ± 2,68 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año con el tratamiento con migalastat y de 1,3 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/año con la TRE. Estos datos muestran que migalastat estabilizó la función renal independientemente de si el paciente tenía una función renal normal o una disfunción renal leve. Aunque el número de pacientes con disfunción renal moderada incluidos en este análisis es de dos (en comparación con los tres del estudio sin tratamiento previo con TRE), los datos respaldan la eficacia de migalastat cuando se administra a pacientes con alguna forma de disfunción renal.

Otro análisis de datos de estos estudios examinó el cambio anualizado en FGe<sub>CKD-EPI</sub>, LVMI, actividad de α-Gal A de WBC y niveles plasmáticos de liso-Gb<sub>3</sub> basados de la función renal en el nivel basal. Los resultados para cada subgrupo renal se muestran en la Tabla 9 a continuación, con los subgrupos del estudio sin tratamiento previo con TRE basados en FGe<sub>MDRD</sub> y los subgrupos del estudio con tratamiento previo con TRE basados en FG<sub>m<sub>iohexol</sub></sub>.

Tabla 9

| Tratamiento                             | Subgrupo renal | Cambio desde el nivel basal, media ± EE [n]                            |                        |                                                       |                                                             |
|-----------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
|                                         |                | Cambio anualizado en FGe <sub>CKD-EPI</sub> ml/min/1,73 m <sup>2</sup> | LVMi, g/m <sup>2</sup> | Actividad de α-Gal A de WBC, 4 MU/h/mg (solo hombres) | Liso-Gb <sub>3</sub> plasmática, nmol/l (DE en lugar de EE) |
| Sin tratamiento previo con TRE          |                |                                                                        |                        |                                                       |                                                             |
| Migalastat→<br>Migalastat<br>0-24 meses | 30 a <60       | +3,2 ± 1,1 [2]                                                         | -5,5 ± 10,0 [2]        | +1,4 [1]                                              | -29,0 (41,5) [2]                                            |
|                                         | ≥60            | -0,7 ± 0,6 [20]                                                        | -9,2 ± 5,8 [14]        | +1,6 ± 1,5 [3]                                        | -7,7 (24,5) [14]                                            |
| Placebo→<br>Migalastat<br>6-24 meses    | 30 a <60       | -2,8 ± 2,8 [2]                                                         | -21,0 ± 14,1 [2]       | +4,0 ± 3,0 [2]                                        | -                                                           |
|                                         | ≥60            | +0,1 ± 0,7 [17]                                                        | -3,2 ± 5,6 [10]        | +5,2 1,4 [5]                                          | -20,0 (28,7) [13]                                           |
| Con tratamiento previo con TRE          |                |                                                                        |                        |                                                       |                                                             |
| Migalastat<br>0-18 meses                | 30 a <60       | -4,2 ± 2,7 [2]                                                         | -10,2 ± 2,4 [2]        | +4,6 ± 2,3 [2]                                        | +0,5 (0,6) [3]                                              |
|                                         | ≥60            | -0,4 ± 0,8 [32]                                                        | -4,8 ± 2,3 [24]        | +5,5 ± 1,4 [12]                                       | 1,9 (5,8) [28]                                              |

Como puede observarse en la Tabla 9, en el estudio sin tratamiento previo con TRE, la liso-Gb<sub>3</sub> plasmática y el LVMi disminuyeron y la actividad de  $\alpha$ -Gal A de WBC aumentó con migalastat en el mes 24 en ambos subgrupos renales. Además, independientemente de la función renal, en el estudio sin tratamiento previo con TRE se produjo una reducción de las inclusiones de GL-3 capilar intersticial renal desde el nivel basal hasta el mes 6 con migalastat (FGe <60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, -0,39, n=3; FGe  $\geq 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, -0,30, n=22), pero no con placebo (<60, 0,04, n=2;  $\geq 60$ , 0,07, n=18). La Tabla 9 también muestra que, en el estudio con tratamiento previo con TRE, el LVMi disminuyó, la actividad de  $\alpha$ -Gal A de WBC aumentó y liso-Gb<sub>3</sub> permaneció baja y estable durante 18 meses de tratamiento con migalastat en ambos subgrupos renales. La Tabla 9 también muestra que la función renal se estabilizó en pacientes con una FGe basal  $\geq 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> tanto en el estudio sin tratamiento previo con TRE como en con tratamiento previo con TRE. Estos datos respaldan aún más la eficacia de migalastat cuando se administra a pacientes con alguna forma de disfunción renal.

Además de los estudios descritos anteriormente, otros pacientes también recibieron terapia con migalastat en otros estudios, tales como estudios de determinación de dosis y/o estudios de extensión a largo plazo. Los pacientes que completaron algunos estudios fueron elegibles para continuar con HCl de migalastat 150 mg abierto cada dos días en un estudio de extensión separado.

Se analizaron además 12 pacientes que completaron varios estudios. Se usó la regresión lineal para calcular la tasa anualizada de cambio en FGe<sub>CKD-EPI</sub> desde el valor basal. En el momento de este análisis, el tiempo medio con migalastat para estos 12 pacientes era 8,2 (desviación estándar [DE], 0,83) años, la mediana de tiempo de tratamiento era de 8,4 (intervalo, 6,3-9,3) años, y 11 pacientes recibieron HCl de migalastat 150 mg QOD durante  $\geq 17$  meses. Los datos demográficos basales de estos 12 pacientes se muestran en la Tabla 10 a continuación.

Tabla 10

| Paciente | Edad (años) | Sexo | FGe (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ) |
|----------|-------------|------|-----------------------------------|
| 1        | 37          | M    | 100,9                             |
| 2        | 39          | M    | 114,4                             |
| 3        | 42          | M    | 87,1                              |
| 4        | 49          | M    | 84,4                              |
| 5        | 24          | M    | 126,2                             |
| 6        | 39          | M    | 121,7                             |
| 7        | 55          | M    | 92,0                              |
| 8        | 47          | M    | 135,7                             |
| 9        | 62          | F    | 90,1                              |

| Paciente           | Edad (años)   | Sexo | FGe (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ) |
|--------------------|---------------|------|-----------------------------------|
| 10                 | 59            | F    | 76,4                              |
| 11                 | 36            | F    | 100,6                             |
| 12                 | 43            | F    | 116,0                             |
| Media (DE)         | 44,3 (10,7)   | -    | 103,8 (18,7)                      |
| Mediana (mín, máx) | 42,5 (24, 62) | -    | 100,8 (76, 136)                   |

El cambio anualizado en FGe<sub>CKD-EPI</sub> para estos pacientes se muestra en la Tabla 11 a continuación.

Tabla 11

| Paciente            | Tasa anualizada de cambio en FGe <sub>CKD-EPI</sub> , ml/min/1,72 m <sup>2</sup> <sup>a</sup> |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1                   | -0,853                                                                                        |
| 2                   | 0,584                                                                                         |
| 3                   | -2,838                                                                                        |
| 4                   | 0,488                                                                                         |
| 5                   | 0,001                                                                                         |
| 6                   | -2,179                                                                                        |
| 7                   | -0,704                                                                                        |
| 8                   | -1,09                                                                                         |
| 9                   | -0,443                                                                                        |
| 10                  | 0,219                                                                                         |
| 11                  | -0,342                                                                                        |
| 12                  | -0,871                                                                                        |
| Media (IC del 95 %) | -0,67 (-1,32, -0,02)                                                                          |

<sup>a</sup>Incluye toda la duración del tratamiento con migalastat, incluidos los periodos en los que los pacientes recibieron varias pautas posológicas de migalastat y los periodos en los que los pacientes recibieron HCl de migalastat 150 mg cada dos días.

- 5 Como puede observarse en la Tabla 11, entre estos 12 pacientes, la función renal permaneció estable (cambio medio anualizado en FGe<sub>CKD-EPI</sub>, -0,67 ml/min/1,72 m<sup>2</sup> [IC 95 % -1,32, -0,02]) durante todo el periodo de tratamiento con migalastat (exposición media, 8,2 años). La función renal también permaneció estable (cambio medio anualizado en FGe<sub>CKD-EPI</sub>, 0,24 ml/min/1,72 m<sup>2</sup> [IC 95 %: -1,7; 2,2]) en un análisis de los 11 pacientes que recibieron HCl de migalastat 150 mg QOD durante ≥17 meses (exposición media, 4-5 años). Los resultados renales de estos 11 pacientes en
- 10 función del sexo y los niveles basales de proteinuria se muestran en la Tabla 12 a continuación.

Tabla 12

| Sexo    | Categoría de nivel basal de proteína en orina de 24 horas (mg/24 h) <sup>a</sup> | n  | Tasa anualizada de cambio en FGe <sub>CKD-EPI</sub> , ml/min/1,73 m <sup>2</sup> , media (IC del 95 %) |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Todos   | Todos                                                                            | 11 | +0,3 [-1,7, 2,2]                                                                                       |
| Hombres | <100                                                                             | 3  | +0,4 [-4,1, 4,9]                                                                                       |
| Hombres | 100-1000                                                                         | 4  | +2,4 [-4,0, 8,8]                                                                                       |
| Mujeres | <100                                                                             | 2  | -1,6 [-2,4, -0,9]                                                                                      |
| Mujeres | 100-1000                                                                         | 2  | -1,7 [-2,0, -1,3]                                                                                      |

- 15 Estos resultados muestran la estabilización de la función renal en pacientes masculinos y femeninos con enfermedad de Fabry y mutaciones susceptibles tratados con migalastat durante un máximo de 9 años. Los efectos se observaron en un amplio intervalo de proteinuria basal.

- 20 Se realizó otro análisis en pacientes que participaron en múltiples estudios para el uso de migalastat. Se calculó la tasa anualizada de cambio en FGe<sub>CKD-EPI</sub> y FGe<sub>MDRD</sub> para los pacientes basándose en la proteinuria en el nivel basal (<100, 100-1000, >1000 mg/24 h). Se analizó un total de 52 pacientes sin tratamiento previo con TRE con mutaciones

susceptibles que recibieron HCl de migalastat 150 mg QOD durante  $\geq 17$  meses. La Tabla 13 muestra la proteinuria basal y la duración del tratamiento con migalastat para estos pacientes.

Tabla 13

| Nivel basal de proteína en orina de 24 h, mg/24 h | Hombres |                                    | Mujeres |                                    |
|---------------------------------------------------|---------|------------------------------------|---------|------------------------------------|
|                                                   | n       | Duración, años, mediana (mín, máx) | n       | Duración, años, mediana (mín, máx) |
| <100                                              | 3       | 4,8 (4,8, 4,8)                     | 9       | 4,2 (2,0, 5,3)                     |
| 100-1000                                          | 16      | 4,3 (1,5, 4,9)                     | 19      | 3,5 (1,5, 5,0)                     |
| >1000                                             | 2       | 3,6 (3,0, 4,3)                     | 3       | 3,7 (1,5, 4,1)                     |

Como puede observarse en la Tabla 13, la mayoría de los pacientes (67 %) tenían niveles de proteinuria entre 100-1000 mg/24 h en el nivel basal; el 23 % de los pacientes tenían niveles basales de proteinuria <100 mg/24 h, y el 10 % tenían niveles >1000 mg/24 h. La mediana de la duración del tratamiento osciló entre 3,5 y 4,8 años (máximo, 5,3 años) en todos los subgrupos de proteinuria basal.

El cambio medio anualizado en  $\text{FG}_{\text{eCKD-EPI}}$  con el tratamiento con migalastat por proteinuria basal para estos pacientes se muestra en la Tabla 14 a continuación.

Tabla 14

| Nivel basal de proteína en orina de 24 h, mg/24 h | Hombres |                                                                                                      | Mujeres |                                                                                                      |
|---------------------------------------------------|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                   | n       | Tasa anualizada de cambio de $\text{FG}_{\text{eCKD-EPI}}$ , ml/min/1,73 m <sup>2</sup> . Media (EE) | n       | Tasa anualizada de cambio de $\text{FG}_{\text{eCKD-EPI}}$ , ml/min/1,73 m <sup>2</sup> , media (EE) |
| <100                                              | 3       | 0,4 (1,0)                                                                                            | 9       | -0,9 (0,4)                                                                                           |
| 100-1000                                          | 16      | 0,2 (0,8)                                                                                            | 19      | -0,3 (1,0)                                                                                           |
| >1000                                             | 2       | -5,1 (0,1)                                                                                           | 3       | -2,2 (1,3)                                                                                           |

Como puede observarse en la Tabla 14, el  $\text{FG}_{\text{eCKD-EPI}}$  permaneció estable en la mayoría de los pacientes con proteinuria basal  $\leq 1000$  mg/24 h durante el tratamiento con migalastat. Se observaron descensos en la  $\text{FG}_{\text{eCKD-EPI}}$  en pacientes con niveles de proteinuria >1000 mg/24 h en el nivel basal.

Los resultados de  $\text{FG}_{\text{eMDRD}}$  se compararon con los cambios en  $\text{FG}_{\text{eMDRD}}$  descritos en la bibliografía para pacientes no tratados con enfermedad de Fabry (cohorte de historia natural; Schiffmann R et al. Nephrol Dial Transplant. 2009;24:2102-11) y se muestran en la Tabla 15 a continuación.

Tabla 15

| Nivel basal de proteína en orina de 24 h, mg/24 h           | Hombres |                                                                                 | Mujeres |                                                                                 |
|-------------------------------------------------------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------|
|                                                             | n       | Tasa anualizada de cambio de $\text{FGe}$ , ml/min/m <sup>2</sup> , media (EEM) | n       | Tasa anualizada de cambio de $\text{FGe}$ , ml/min/m <sup>2</sup> , media (EEM) |
| <b>Cohorte de migalastat</b>                                |         |                                                                                 |         |                                                                                 |
| <100                                                        | 3       | 1,2 (1,2)                                                                       | 9       | -0,9 (0,5)                                                                      |
| 100-1000                                                    | 16      | 0,9 (1,0)                                                                       | 19      | 1,3 (1,5)                                                                       |
| >1000                                                       | 2       | -4,3 (0,1)                                                                      | 3       | -1,7 (1,1)                                                                      |
| <b>Cohorte de historia natural (Schiffmann et al. 2009)</b> |         |                                                                                 |         |                                                                                 |
| <100                                                        | 18      | -1,6 (1,5)                                                                      | 7       | -0,6 (2,6)                                                                      |
| 100-1000                                                    | 21      | -3,3 (1,8)                                                                      | 17      | -2,2 (2,2)                                                                      |
| >1000                                                       | 22      | -6,9 (1,5)                                                                      | 5       | -4,6 (2,3)                                                                      |

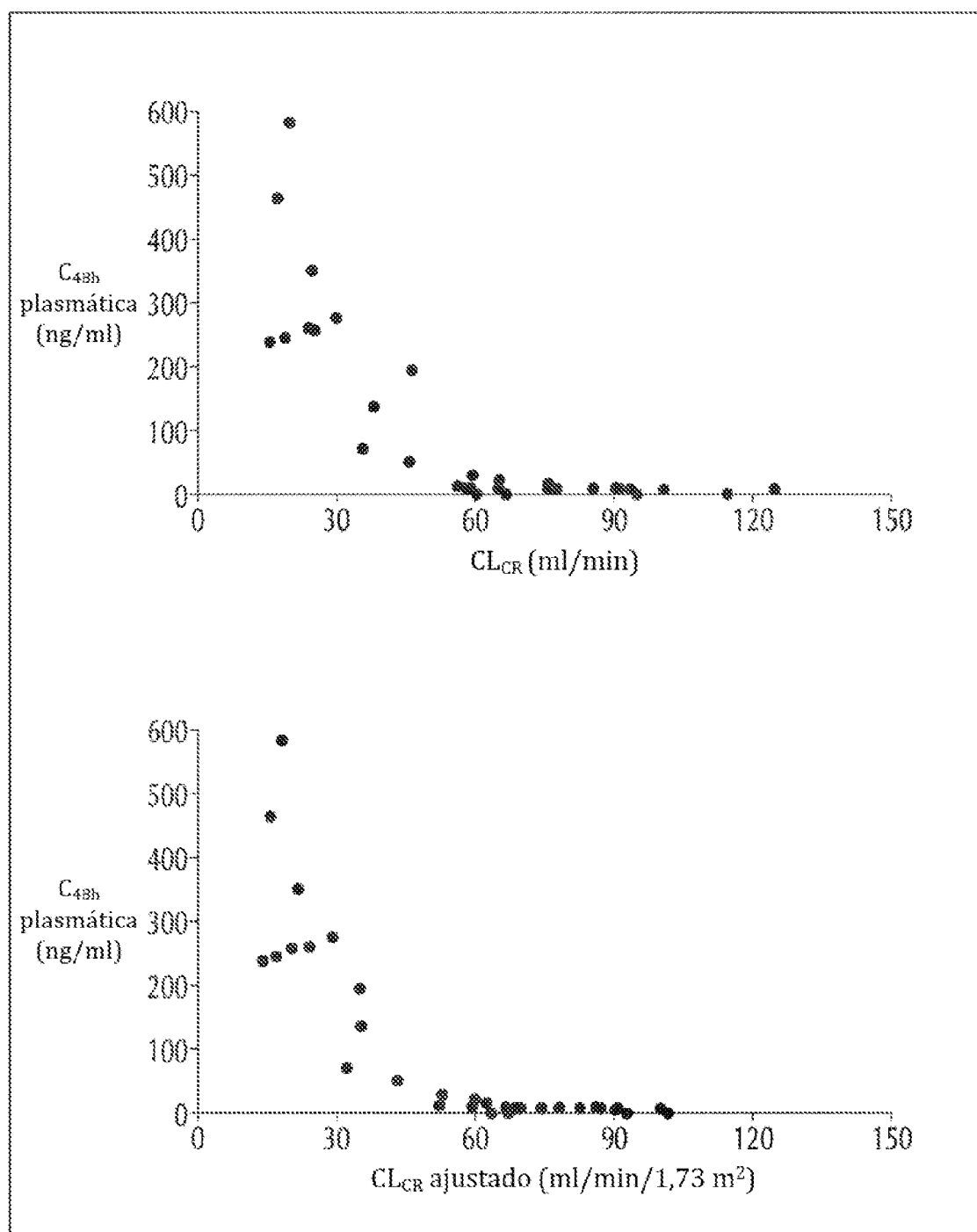
Como se muestra en la Tabla 15, el cambio medio anualizado en la  $\text{FGe}$  fue menor en general en los pacientes tratados con migalastat frente al observado en la cohorte de historia natural en todas las categorías de proteinuria. Aunque la  $\text{FGe}$  media disminuyó en todos los subgrupos no tratados, se observaron aumentos con migalastat en pacientes con proteinuria basal <100 mg/24 h (hombres) y 100-1000 mg/24 h (hombres y mujeres). Independientemente del tratamiento, la  $\text{FGe}$  disminuyó en los pacientes con proteinuria basal >1000 mg/24 h; sin

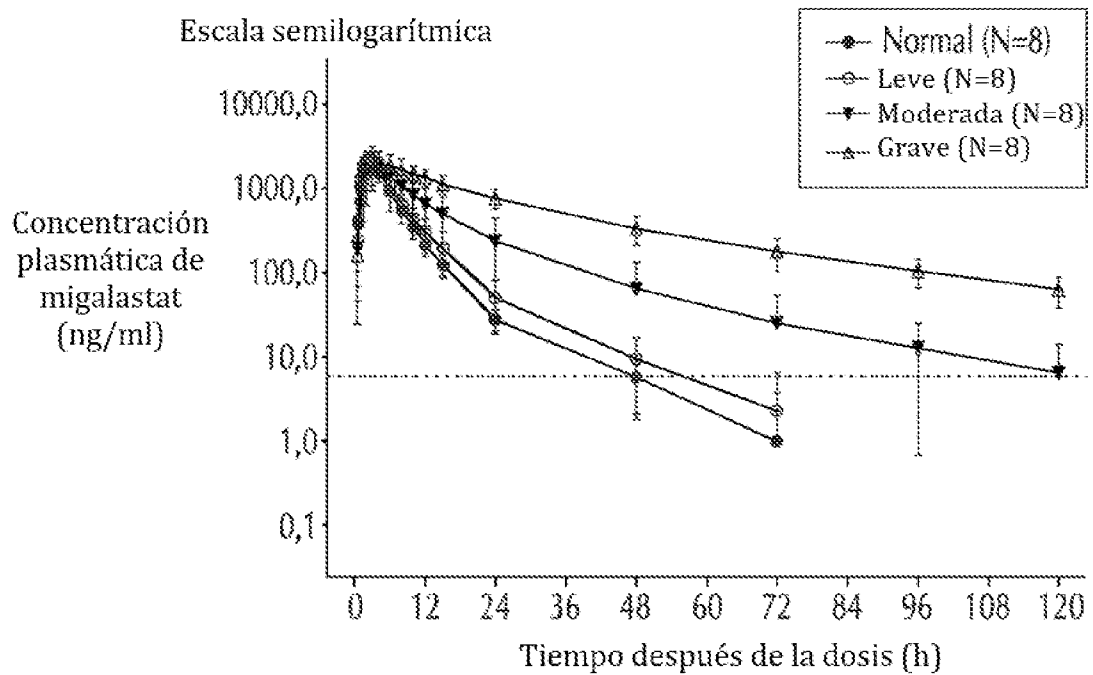
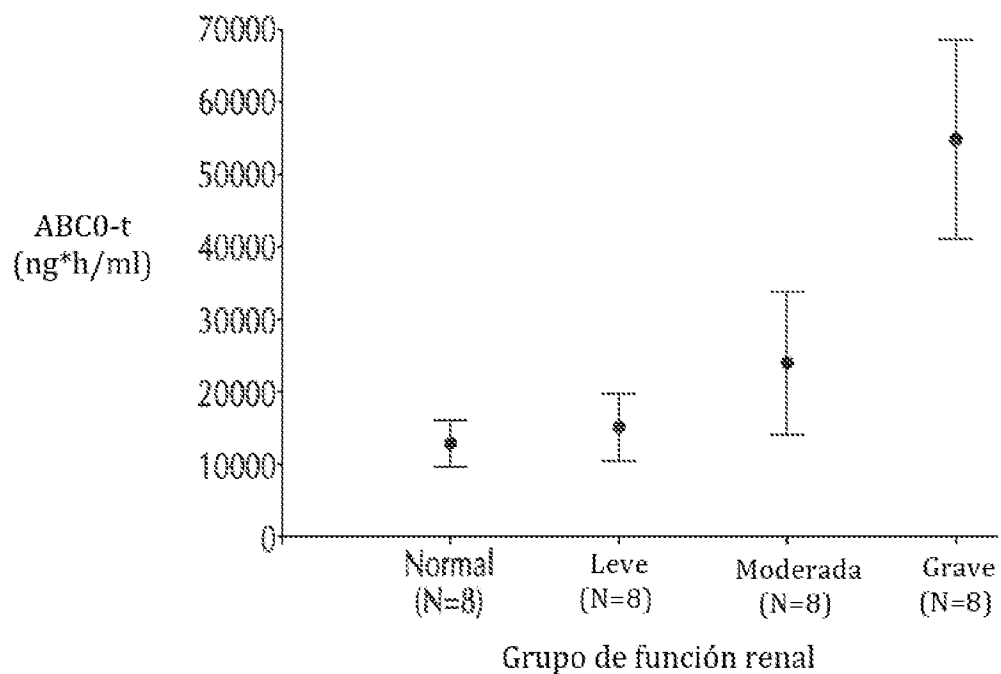
embargo, los pacientes tratados con migalastat tuvieron disminuciones menores en comparación con la cohorte de historia natural. Así pues, el tratamiento a largo plazo con migalastat se asoció en general con una función renal estable en pacientes con enfermedad de Fabry y mutaciones susceptibles, independientemente de los niveles basales de proteinuria.

- 5 La literatura científica y de patentes a la que se hace referencia en el presente documento establece el conocimiento que está disponible para los expertos en la técnica.

# REIVINDICACIONES

- 5 1. Migalastat o la sal del mismo para su uso en el tratamiento de enfermedad de Fabry en un paciente que tiene una proteína  $\alpha$ -galactosidasa A que comprende una mutación sensible a un ensayo HEK seleccionada del grupo que consiste en N34D, N34T, G35V, I133M, F145S, P146R, L167V, L180W, R196G, M208R, I219L, Q221P, N224T, I242T, Q250R, Q250H, G261S, G261C, I303F, K326N, F337S, E358Q y G375E.
- 10 2. Migalastat o la sal del mismo para su uso según la reivindicación 1 para el tratamiento de enfermedad de Fabry en un paciente que tiene disfunción renal.
3. Migalastat o la sal del mismo para su uso según la reivindicación 2 para el tratamiento de enfermedad de Fabry en un paciente que tiene disfunción renal leve o moderada.
- 15 4. Migalastat o la sal del mismo para su uso según la reivindicación 2 para el tratamiento de enfermedad de Fabry en un paciente que tiene disfunción renal grave.
- 20 5. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el paciente es un paciente con tratamiento previo con terapia de reemplazo enzimático (TRE).
- 25 6. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el paciente es un paciente sin tratamiento previo con terapia de reemplazo enzimático (TRE).
7. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en donde el paciente tiene un nivel de proteinuria inferior a 100 mg/24 h antes de iniciar el tratamiento.
- 30 8. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en donde el paciente tiene un nivel de proteinuria de 100 a 1.000 mg/24 h antes de iniciar el tratamiento.
9. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en donde el paciente tiene un nivel de proteinuria superior a 1.000 mg/24 h antes de iniciar el tratamiento.
- 35 10. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la mutación se selecciona del grupo que consiste en: N34D, N34T y G35V.
- 40 11. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la mutación se selecciona del grupo que consiste en: I133M, F145S, P146R, L167V y L180W.
12. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la mutación se selecciona del grupo que consiste en: R196G, M208R, I219L, Q221P, N224T, I242T, Q250R y Q250H.
- 45 13. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la mutación se selecciona del grupo que consiste en: G261S, G261C y I303F.
14. Migalastat o la sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la mutación se selecciona del grupo que consiste en: K326N, F337S, E358Q y G375E.

**FIG. 1A**

**FIG. 1B****FIG. 1C**

**150 mg QOD en disfunción renal de moderada a grave  
( $\leq 35$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>)**

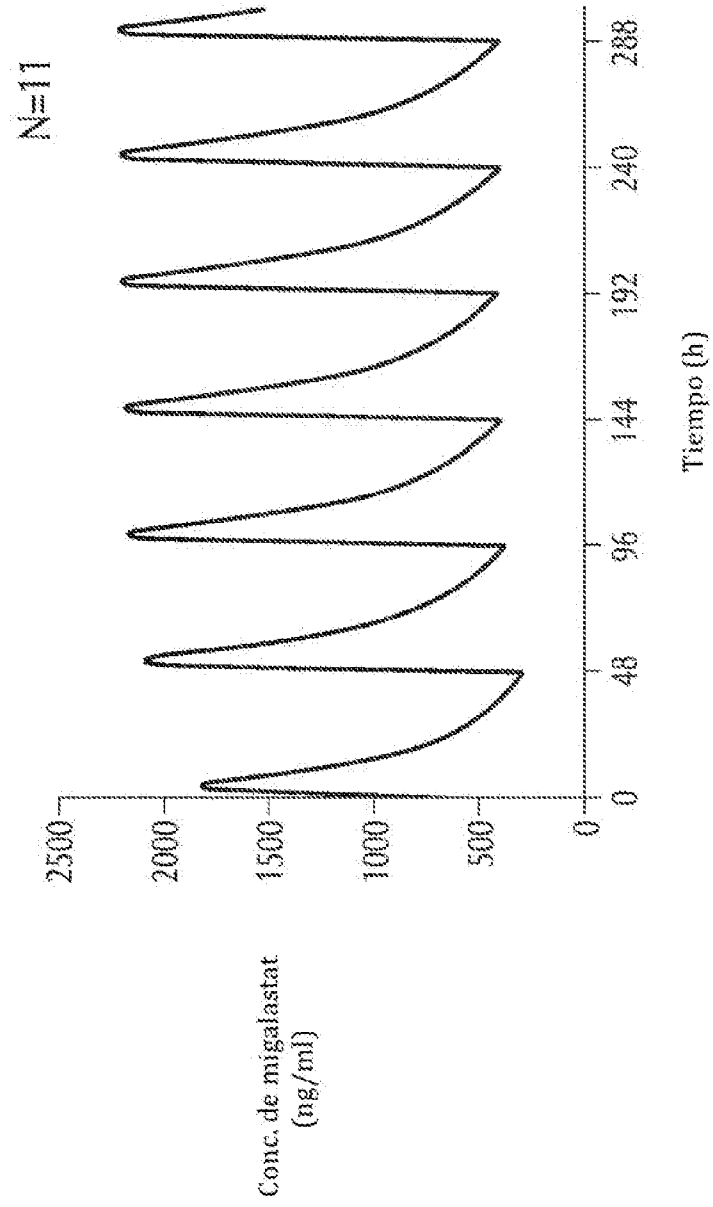


**FIG. 2**

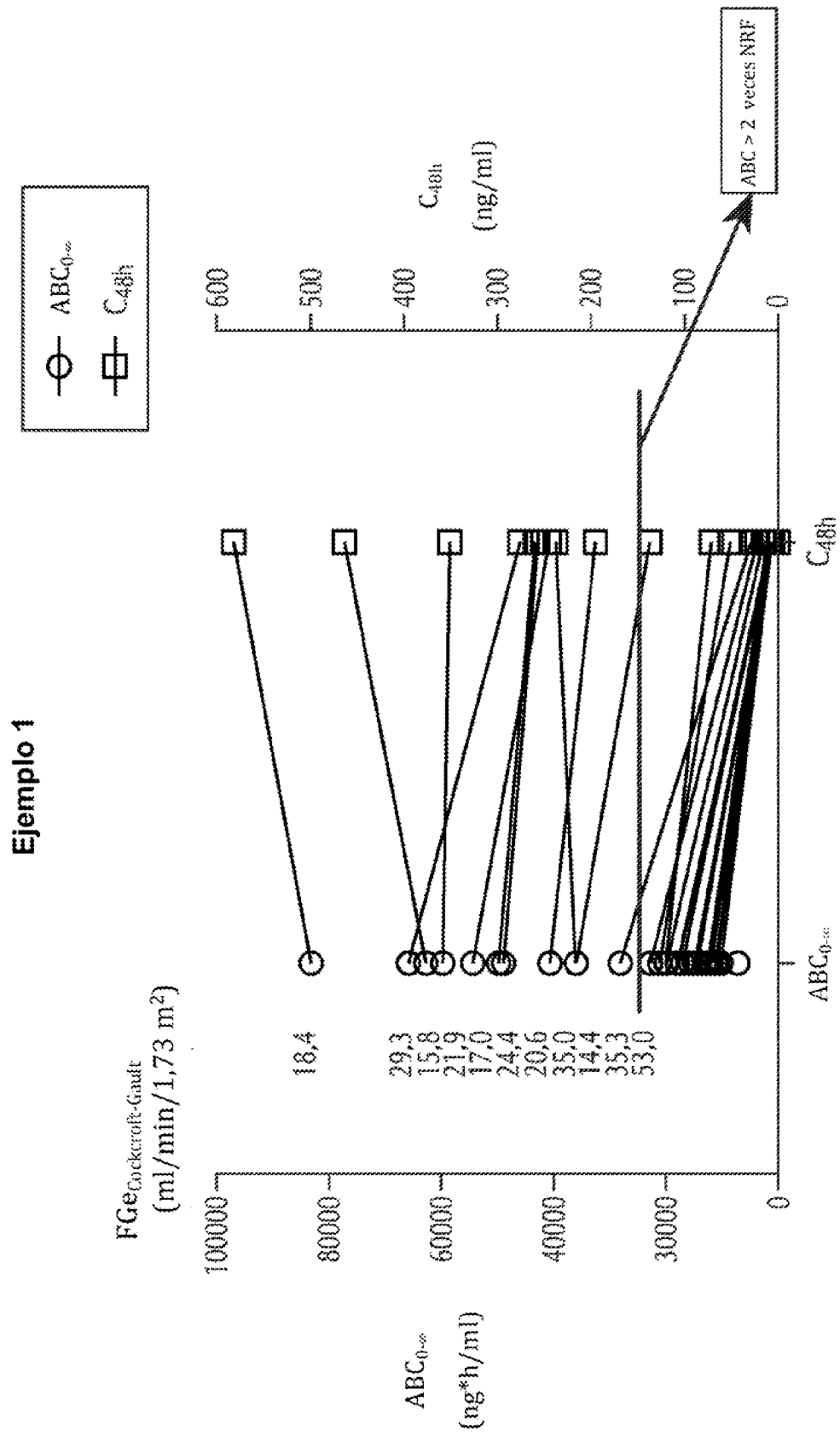


**FIG. 3**

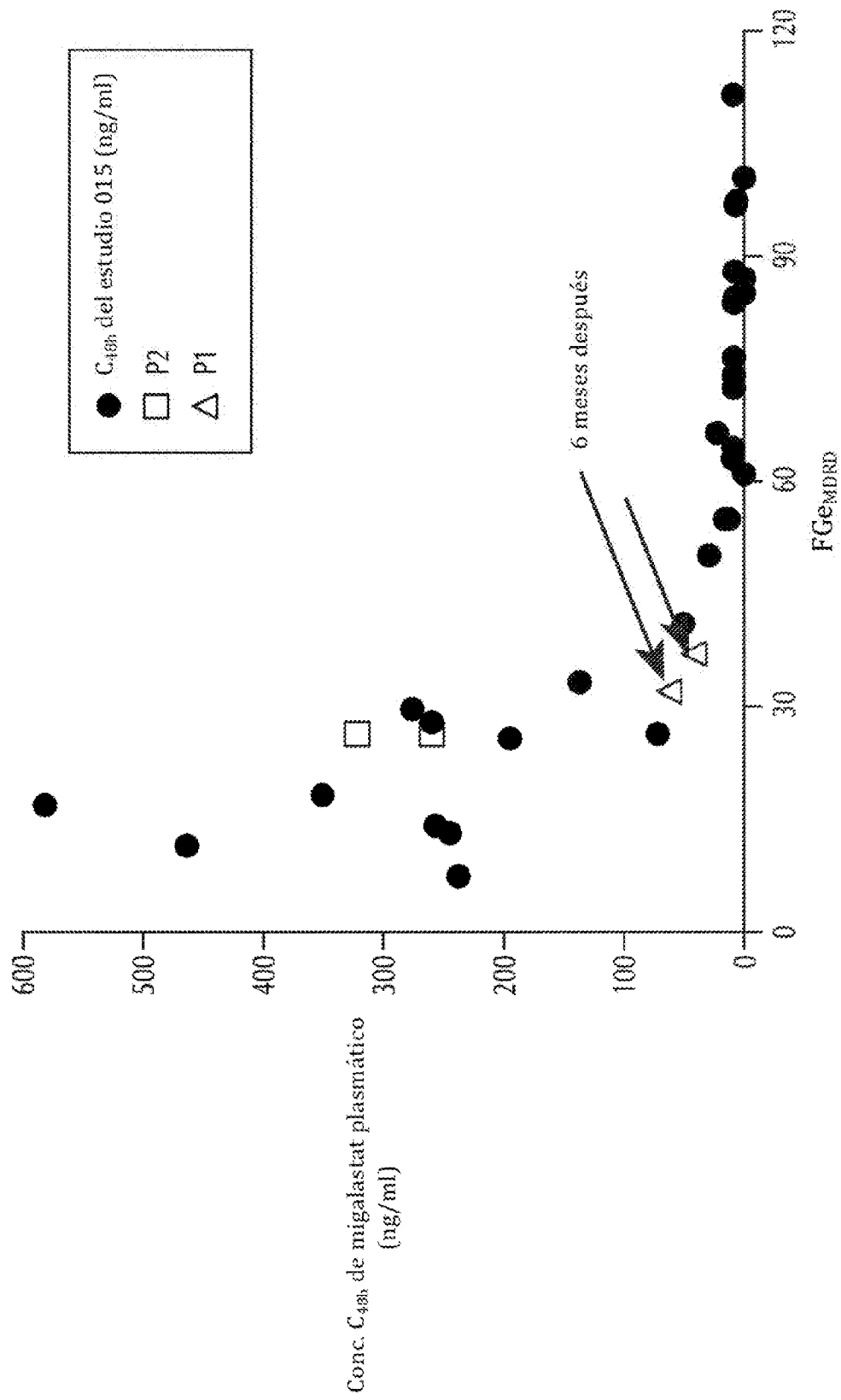


FIG. 4

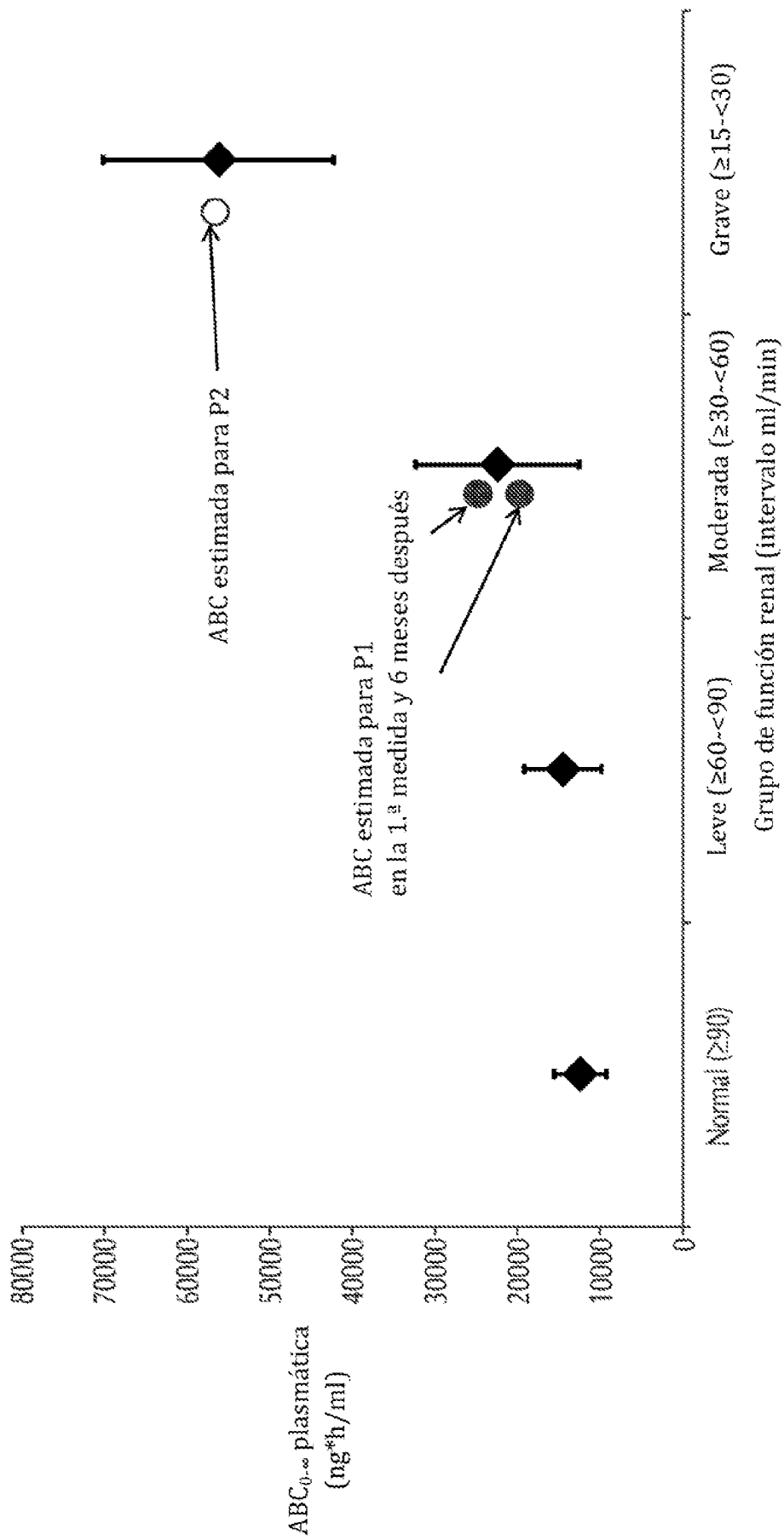


FIG. 5

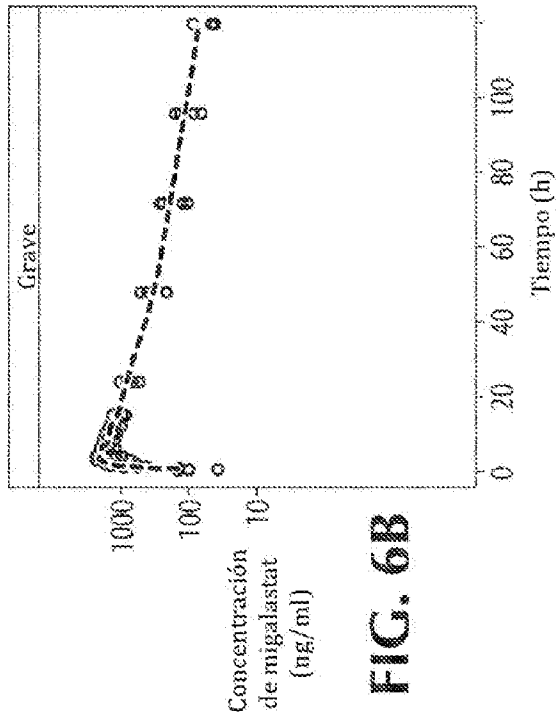


**FIG. 6A**

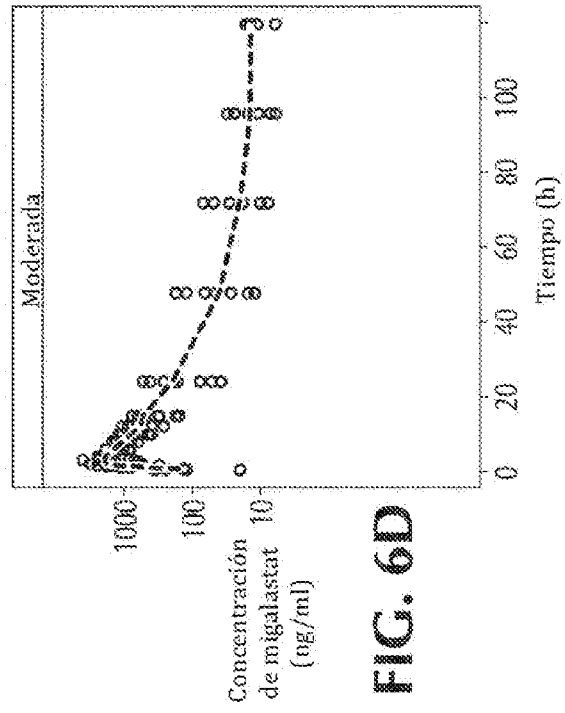


**FIG. 6B**

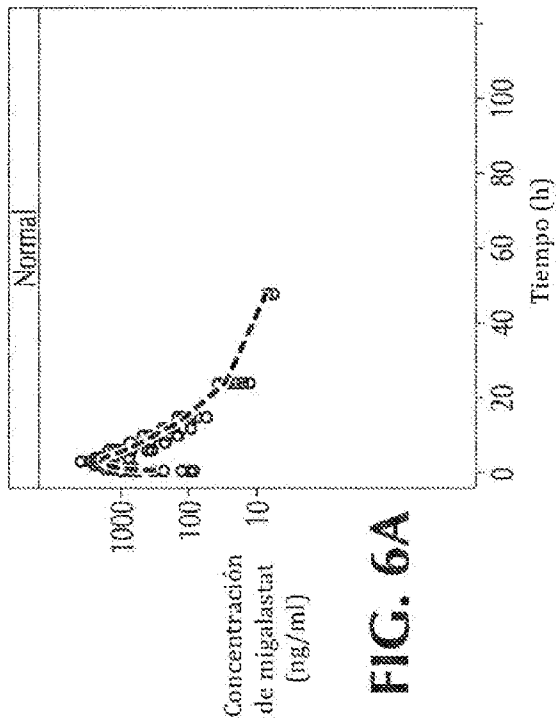


**FIG. 6C**

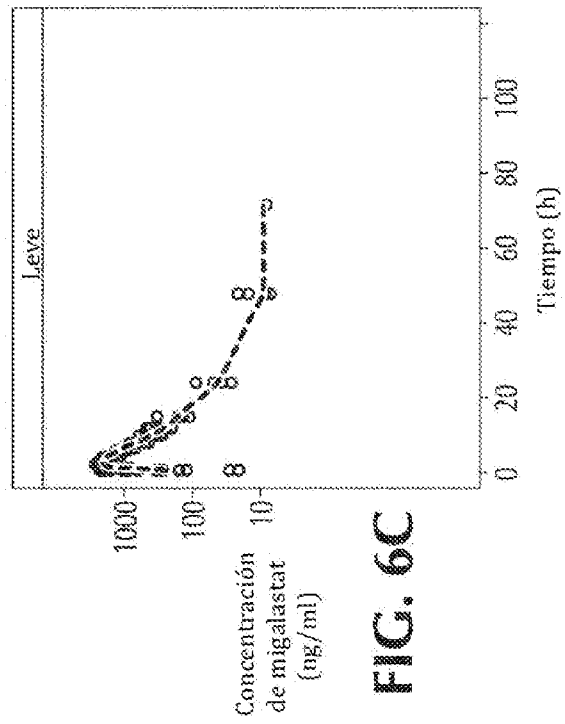


**FIG. 6D**

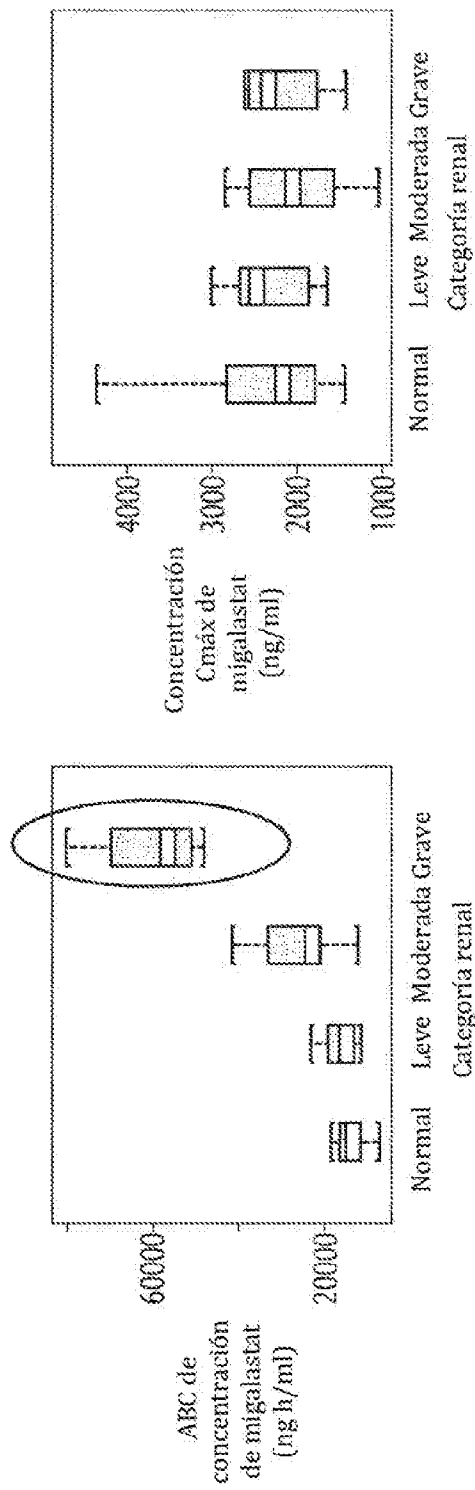
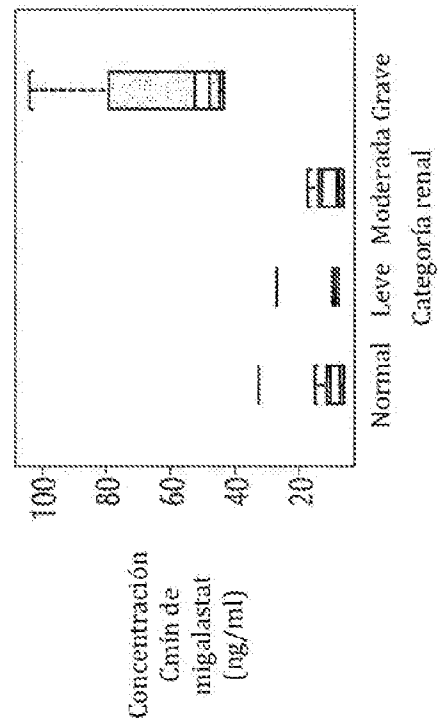
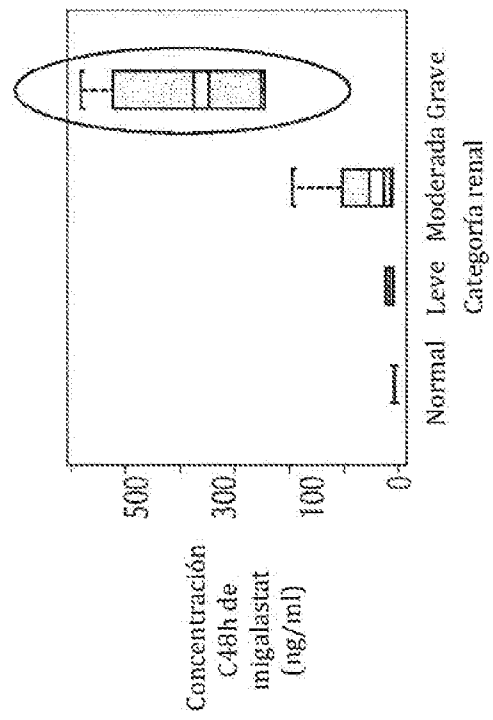
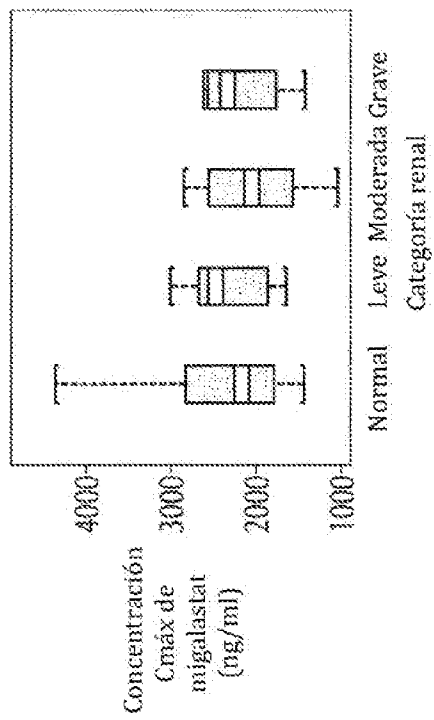
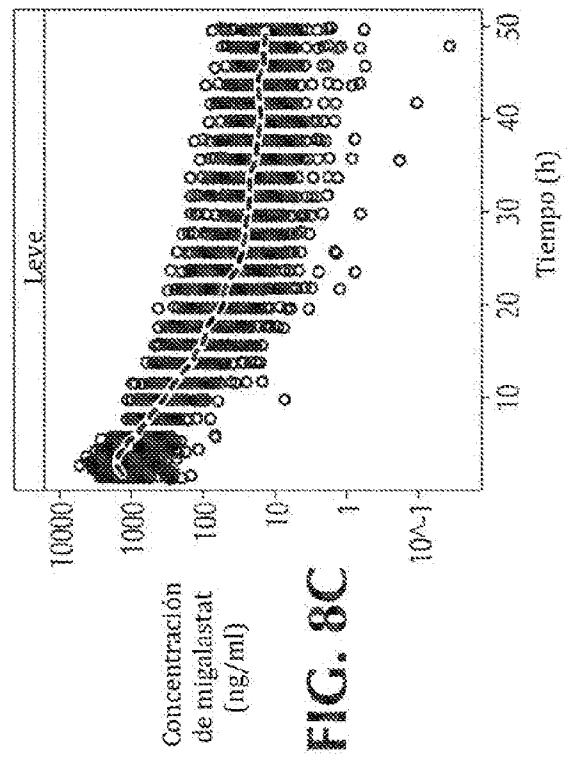
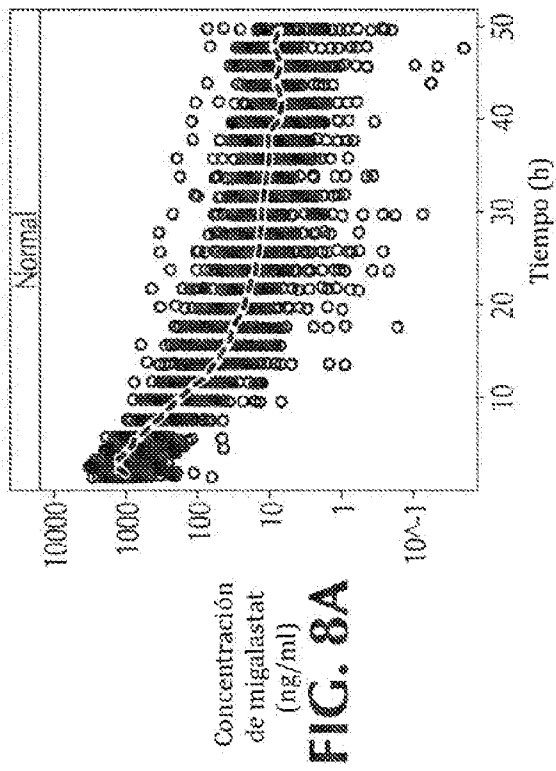
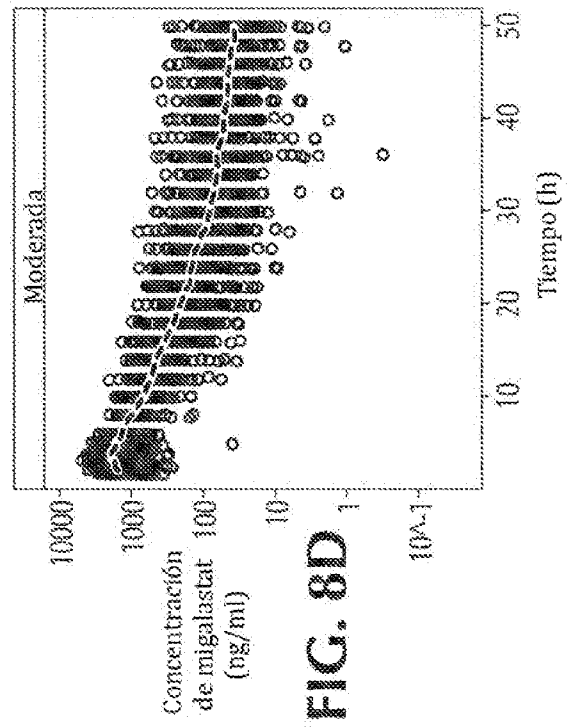
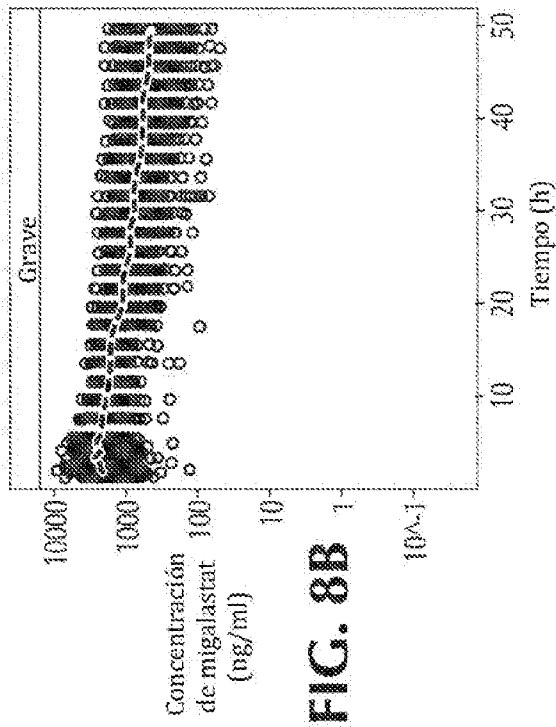


FIG. 7B





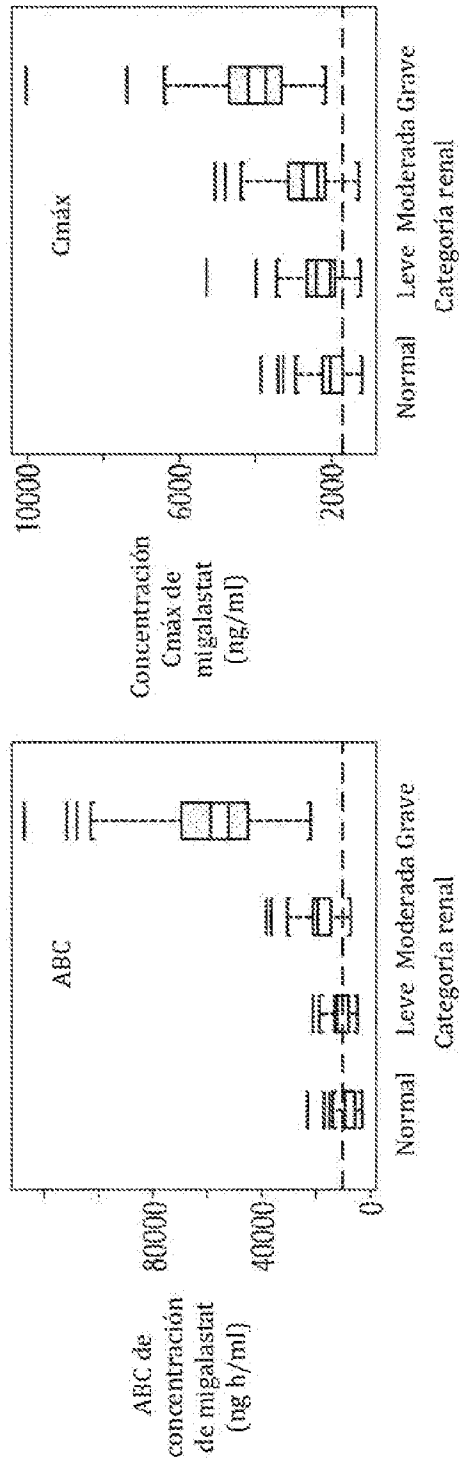


FIG. 9A

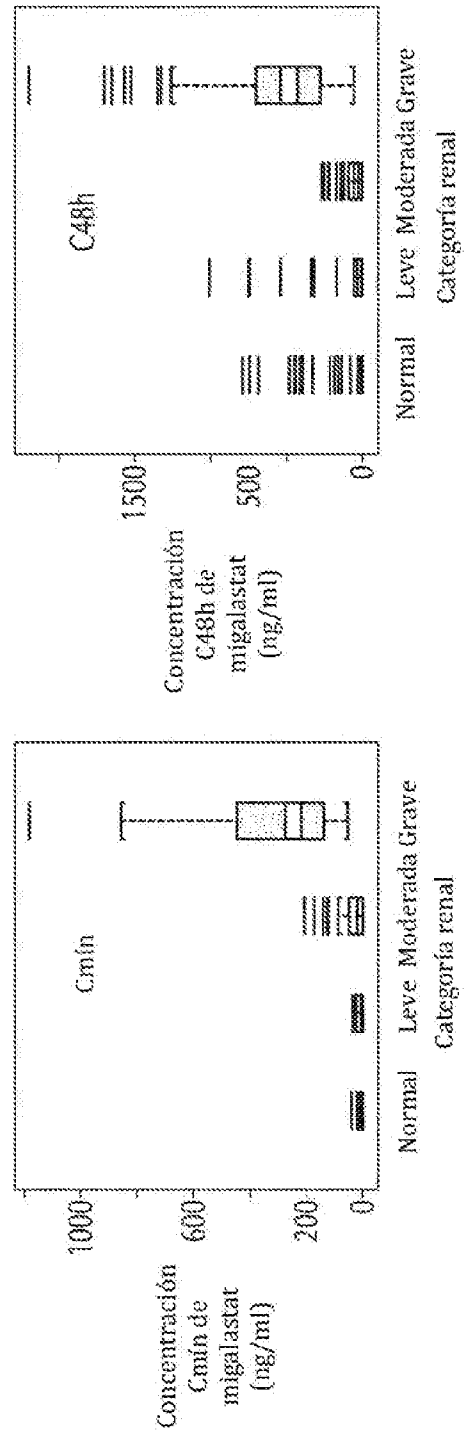


FIG. 9C

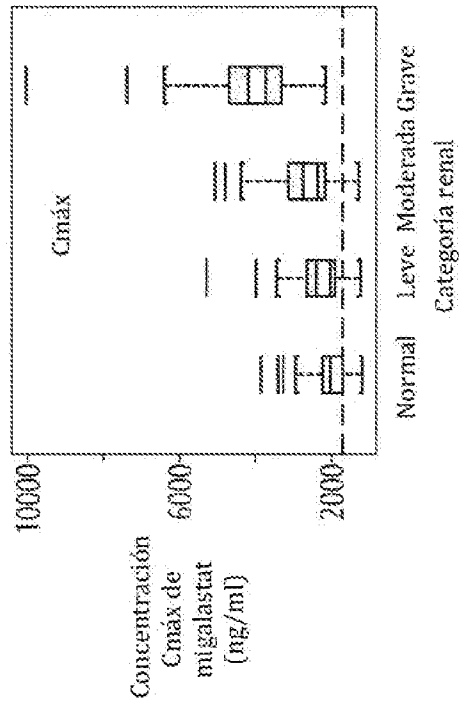


FIG. 9B

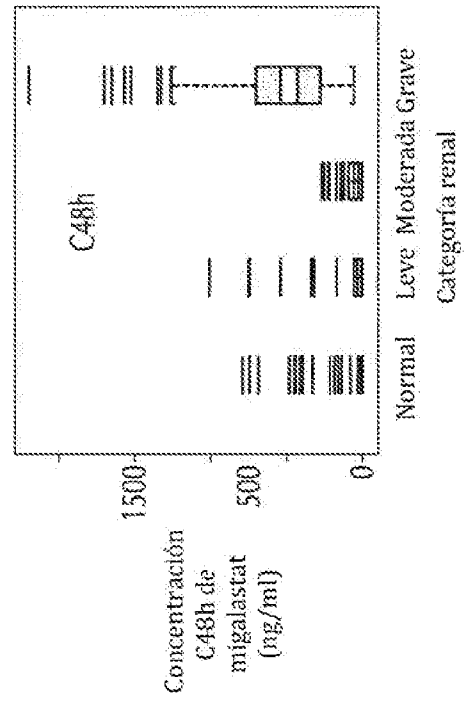
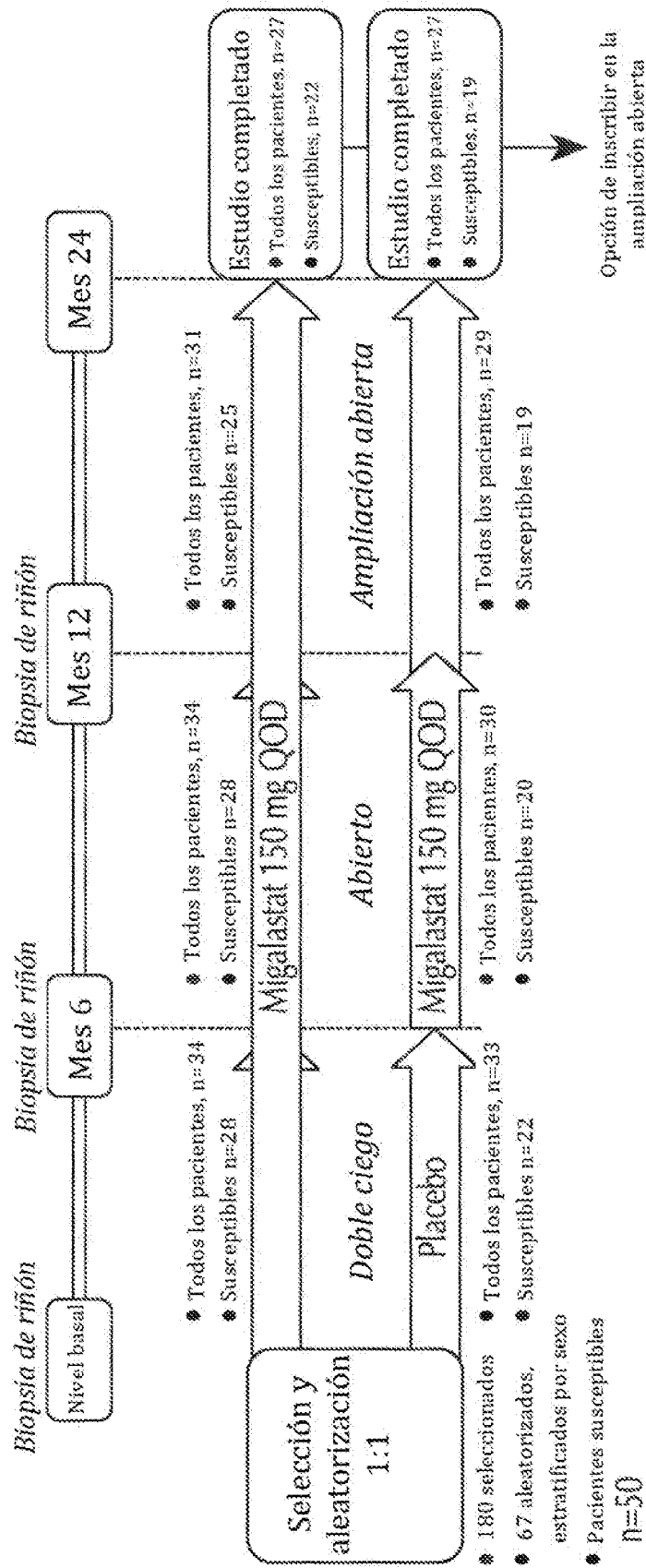


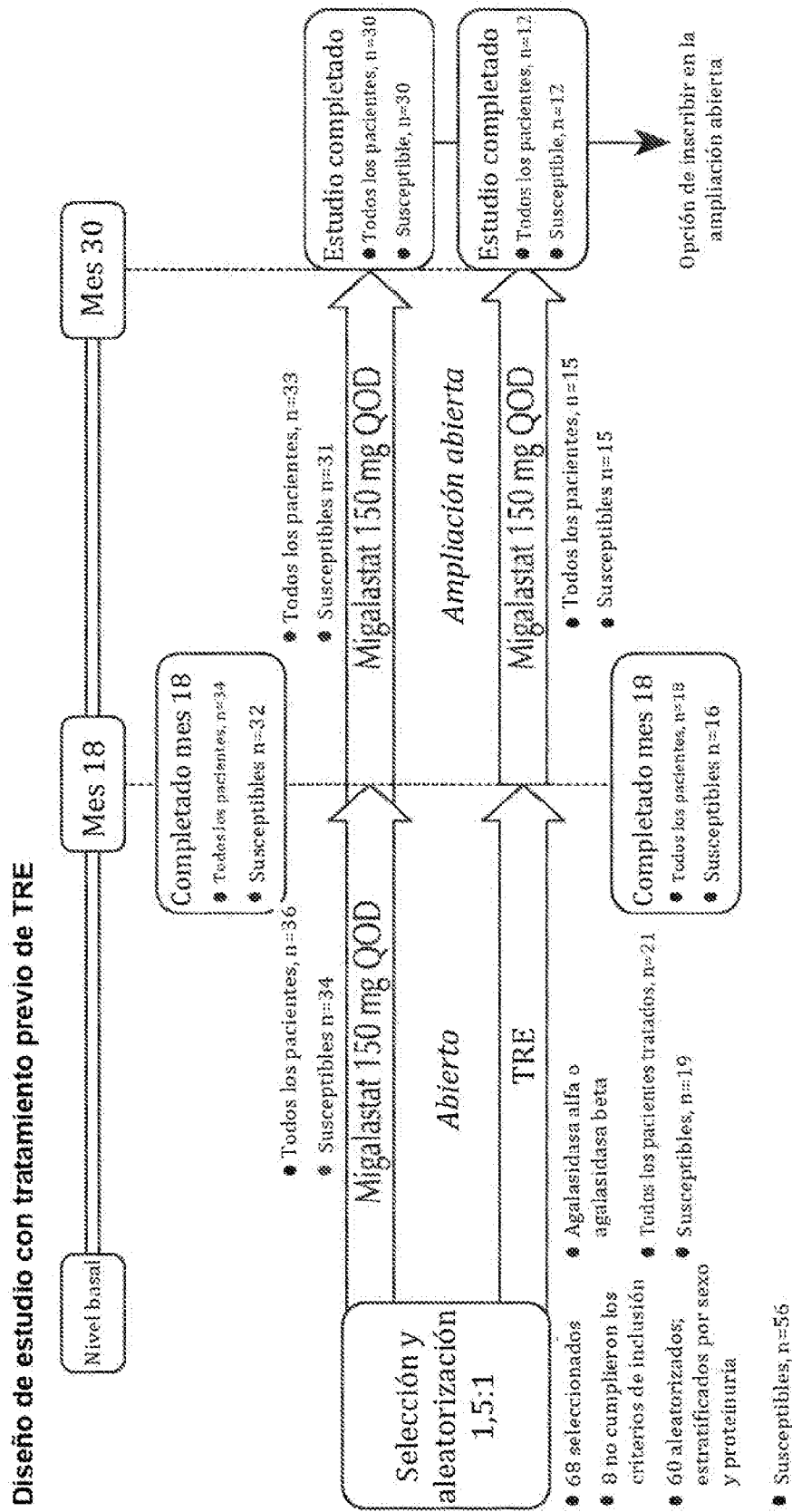
FIG. 9D

# Diseño de estudio sin tratamiento previo con TRE



Se determinó la susceptibilidad usando el ensayo HEK validado por GLP, que estuvo disponible durante el estudio de fase 3, que sustituye a un ensayo HEK preliminar usado para inscribir a pacientes. Germain DP et al. *N Engl J Med.* 2016;375(6):545-555.

**FIG. 10A**



Se determinó la susceptibilidad usando el ensayo HEK validado por GLP, que estuvo disponible durante el estudio, que sustituye a un ensayo HEK preliminar usado para inscribir a pacientes. Hughes DA et al., *J Med Genet.* 2017;54:288-296.

**FIG. 10B**

Función renal estabilizada de migalastat independientemente de la FGe basal  
(pacientes con mutaciones susceptibles)

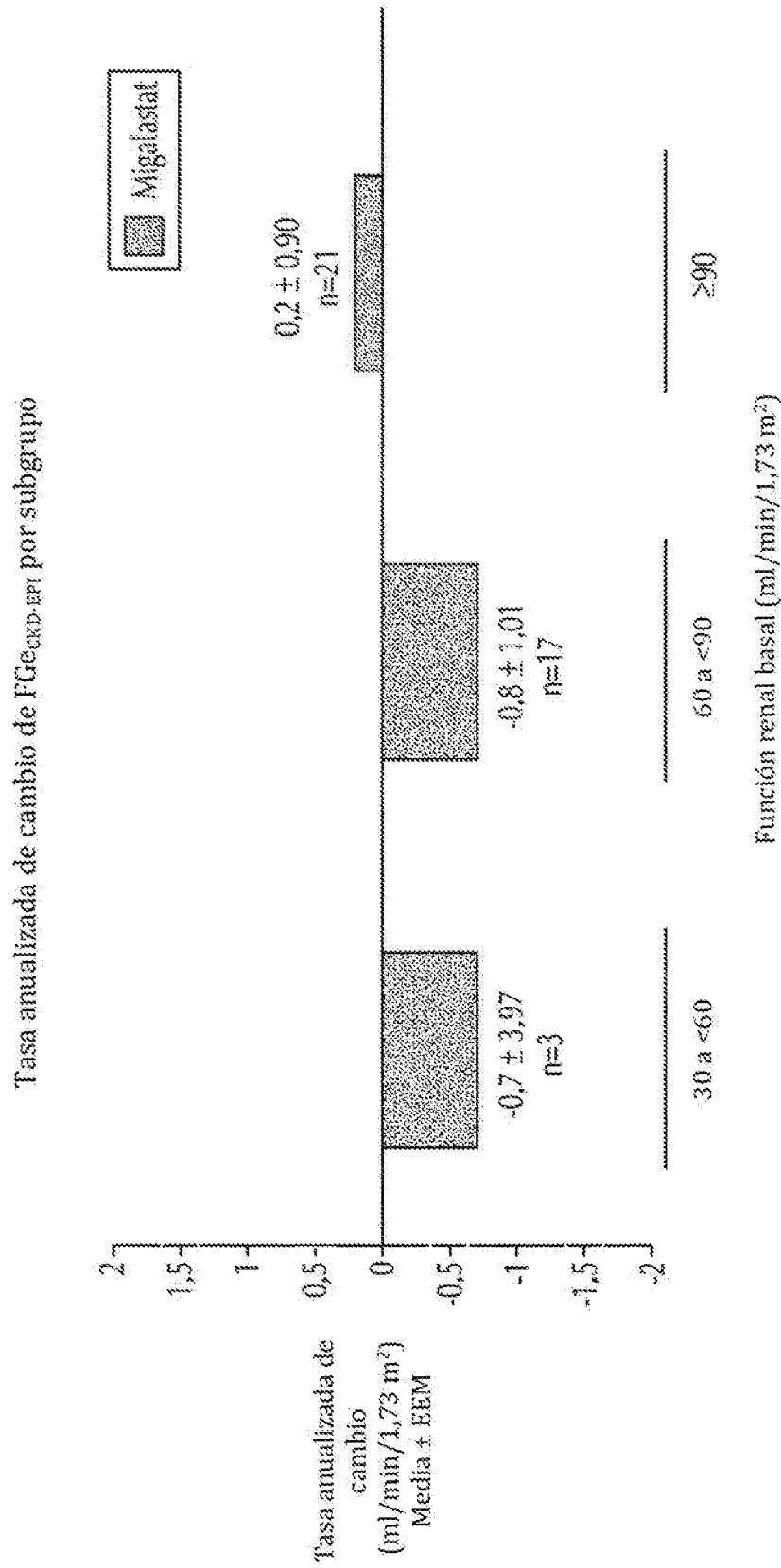


**FIG. 11**

En el mes 18, migalastat y TRE tuvieron efectos favorables comparables en la función renal usando ambos métodos de FG (pacientes con mutaciones susceptibles)

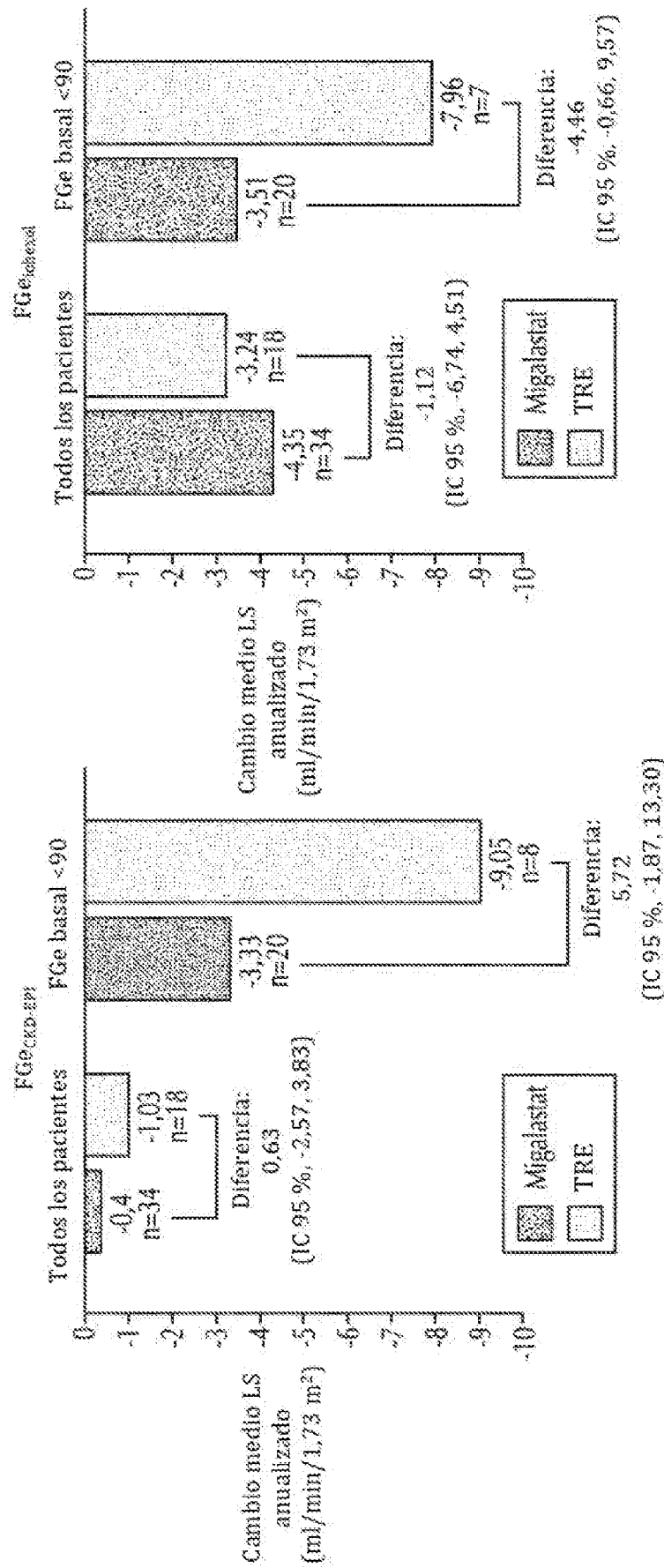


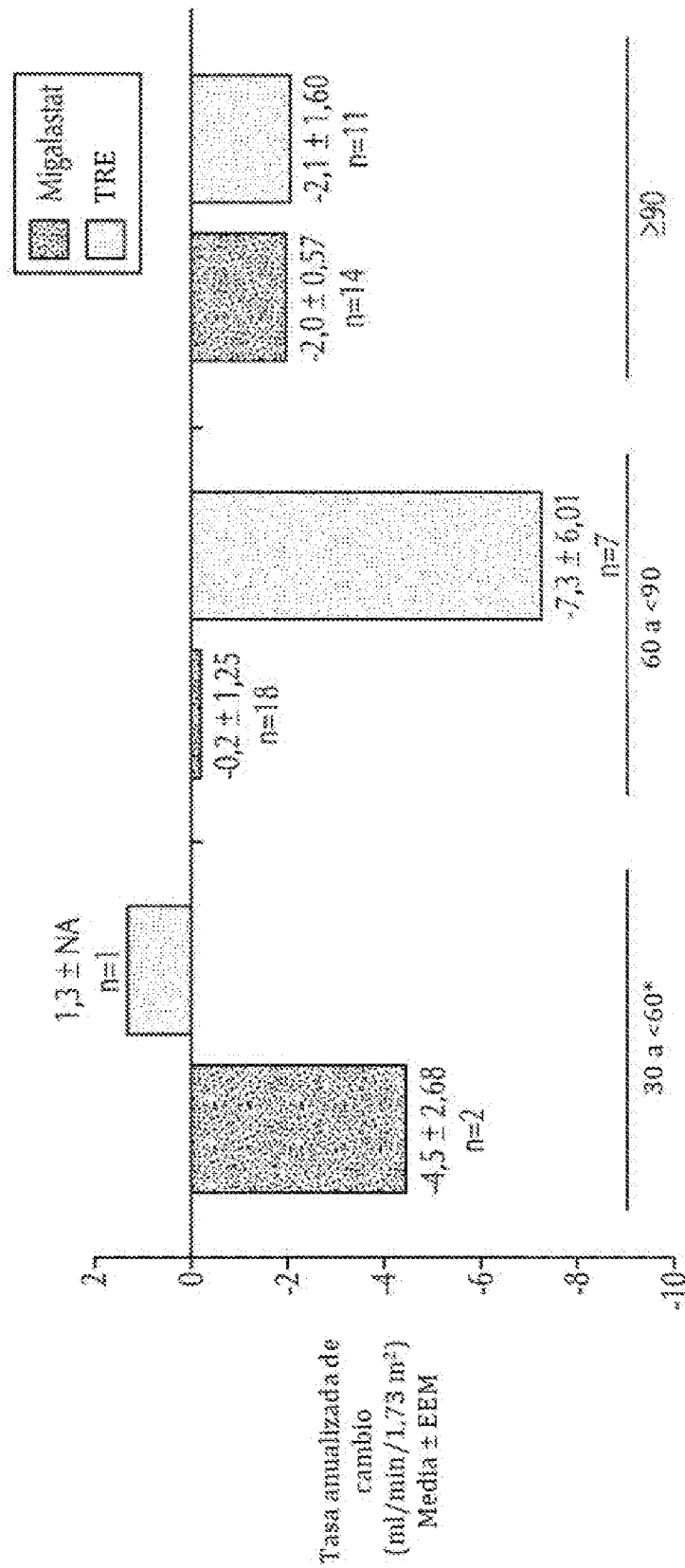
FIG. 12A

Media LS e IC 95 % basado en ANCOVA que incluye tratamiento, FG basal, sexo, edad y proteína en orina de 24 h. LS = Mínimos cuadrados

FIG. 12B

Media LS e IC 95 % basado en ANCOVA que incluye tratamiento, FG basal, sexo, edad y proteína en orina de 24 h. LS = Mínimos cuadrados

Tasa anualizada de cambio de  $\text{FGe}_{\text{CKD-EP}}^{\text{EP}}$  por FGe basal



Función renal basal (ml/min/1,73 m²)

\* Inconcluso debido a n bajo

FIG. 13

|                                                                     |      |
|---------------------------------------------------------------------|------|
| cccttctgtaggggcagagaggttctacttcaactactgogtctcctgggaaggccatcag       | 60   |
| gactgctggctaaagtgggaaccaggactcttctgtgagthaagaatttgtgtaatttatat      | 120  |
| gtgtgttatcacacatttttttaaaaaactgttaacgacatcagggttgagcagtcgtctccgg    | 180  |
| gtggtagaattatgtgtatthtttaaatthttatactatattggttatthttcaaatgttcgaa    | 240  |
| attgaatatgtagettgtttgttatcagcagaaaaataaacattattcaaatactctattc       | 300  |
| agtaasgtaattttattggggcgcctttgtcaagcaacgattttgpcatagatgtgactctaca    | 360  |
| gataaaattcaacttggggcctcctccttacagacaatcagggcagtgagagactgagtgccctg   | 420  |
| aatggatagacccgcactcagaccactatthttcaghatctgtttttcttaactcaggggcc      | 480  |
| gtggtttttcaaaagtttttgcgccttaacgggtcaccccttaggggtcccccgagaccgggcccag | 540  |
| acagacagatatacaaaaaacacatacacagtcattgagcgtccaccatttccccacacagggc    | 600  |
| gcagcacaggcgggttccccgcactgagatgggggggagggagggagagagcggcagggggg      | 660  |
| gaggggaaagcagagaaacgaagaggcgggagggcggcccccgaaccccgcctctgggtcttca    | 720  |
| tcatcaccaccccctgggtccccagttccccacccacacacccaacctctaacgataccgggt     | 780  |
| aatthttcctcctctctcctcctcaaaacggctatagcgagagggtagacgacgaccagaaacta   | 840  |
| cttctgctcactgaagcgagtaactcactgtgagcgcctacgtcattgtgagatctcgggtcac    | 900  |
| gtgagcaactctcctggcttaaaactcgggtatcaactaagggtgcgcgaacttcttctgggtatgg | 960  |
| aaataggcgggggtcaatatacagaaaggaagaggggtgatttgggttagcggaaagctcttaacg  | 1020 |
| tgaactgattattgggtctacctctggggatcaacgtccccagttgcacagagaaacaataacg    | 1080 |
| tcattatthtaataagtcactcgggtgatttgggtccgcctctgaggttaactcttaaaagcccag  | 1140 |
| gttaacccggggaaattthtctgtctcgggtcacccgtgacaaatgagctgaggaaccccagaa    | 1200 |
| ctacatctggggctggcgccttgcgccttcgccttcctggccctgggttctcggggaactcctc    | 1260 |
| ggggctagagcactgggacaatggatttggcaagggaacgctaccatggggtggctgcactgg     | 1320 |
| gagcgtctactgtgcaaccttgactgcacgggaagagcagattcctgcactcaggtatcag       | 1380 |
| atatgggttactcctccttccctttgctttccatgtgttttgggtgtgtttggggaactgga      | 1440 |
| gagtcctcaacgggaaacagttgagcccgagggaagagctccccacccgactctgctgtctgc     | 1500 |
| tttttttatccccagcaaacgtgtcccgaaacagggaactagccctaaactttctctgtgtgac    | 1560 |
| ctttcctgggagtggttggtccggccagcggcccccgtgtttctttctctctctctctctctct    | 1620 |
| cgttctcctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctct     | 1680 |
| ttctcttttttcaactgctccttgacagagcagggcccccacacagggcagtgthgccccaaagt   | 1740 |
| agccctgcgccgggttctattcagaccccttctctgtgaattctctgctcttctctgcggggtg    | 1800 |
| ctaaccgcttagaacatctagggtgggttaggagysaatgggggaactaagattctgtgcattt    | 1860 |
| tttctccttttggggctgtggatttctcgggcagtatctcagagggaggttagagagaccata     | 1920 |
| aggtcgtctgagatctctccacactcgcacatgagcgtggcactcagggtggaagggttgaca     | 1980 |
| tggaggaactttatcacatttaacacctthtgcgtgaggggttgagggtggattagataggtar    | 2040 |
| tgaacatatactgacccctcacaaactcttatctgttaaatgggtattacaacctthtaatttc    | 2100 |
| agggagctgacaaaaaaaatctgaaaaaatagttcttatctcacacagggtgagttttcaag      | 2160 |
| gagataacctatthaaagtacatagcacagcgtttgacacattcaactgcgcttacagagc       | 2220 |
| aatgthtcaatgggaaaaatgaatgtaaatctacaaaatctgaatgaatatgtgtatttttct     | 2280 |
| tggagagaggatatttacctttcttcaaatthtcaaaaggggtctctgtgatttaaaaaagggt    | 2340 |
| taggaatcactgatagatgttggthaaaagggtggcagthcaacagtaacttctgtgtccata     | 2400 |
| agttattcctatgaatatctttatagatcaagtcaggatgttggthcagacatcacagaag       | 2460 |
| aaattggccttgtaaagthttcatgtgacccctgtggtaacagtatgtgtggcaattttgcccc    | 2520 |
| tcacggatttttttttattgggtatttgcactgtgattataaaactaattgcacatgatttgc     | 2580 |
| aaaaaatgtagataaagaaagagcaaaatgaaaaataaagatttccccacccgttccacca       | 2640 |
| cccagaaaaaatcatgggtttaaattgttaatatcaaaccttacaattgthttctatatataaa    | 2700 |
| tgaaaacatagatttcttttatttcaattatttttcaataaaaaaatggatcatgtttatgtca    | 2760 |
| tgtttggctaatggcaagaccctggcaccacagtcctgggtcacaattctgcctcattgtta      | 2820 |
| cttagccctgtgcacattgggttaaaattacactthtttttttttttttttttttttttttttt    | 2880 |

FIG. 14A

|                                                                  |      |
|------------------------------------------------------------------|------|
| tctcgtctctgtcgcgccaggtctggagtgccagtgccagatctcggctcactgcaagtcgcg  | 2940 |
| ctcctgggttcaacgccattctctcgcctcagcctcccgagtagctgggactacaggcgcc    | 3000 |
| tgccaccacgcctggctcttttttttttttttttttttttttagtacagacggggtttcac    | 3060 |
| catgttagccagggtgggtctcaatctcctgacctcgtgattcgccgcctcagcctccca     | 3120 |
| aagtgcctgggtgtgagccacgcgtgccagccttactcttttttttgagagggggtctcact   | 3180 |
| ctgtcaccacagggtggagtgccagtgccgcgacatctctgctcagtgcaaacctccacctccg | 3240 |
| gggttaagcaggttctcctgtcgttagtctcctgagtagctgggattacagggcacaccacca  | 3300 |
| cgcccgactaatttttggatatttccagtagagacgggtttccaccatgttgcaccaagctggt | 3360 |
| ctcgaaactcctggcctcaagtgatctgcgcgccttggcctccagagtgctgggattaca     | 3420 |
| gggtgtgagccacgcgcacccggcctctttttcttttttttagtctatcataccttgcaata   | 3480 |
| cagtggtttcttctctatgtgttgggttttgatatttatgtaatcaaacacatcagtttttcc  | 3540 |
| tttctgattttctgacttttggggctcaggtcgagaaagtcctttcctacctgaagataatac  | 3600 |
| agtatatacgtttcttactagttattttgtggatttttaaaatatttaaatcttttagtcc    | 3660 |
| ctctgaacttggttcttctatcagaaatgccacatttaataaataataagtcctatggtat    | 3720 |
| cagatgggtggagggacctctttcgaaactttgttttaattccatttaattctgtgtattctt  | 3780 |
| attctaatgtcaatagttccacactagcttctcttatctttttttctttttttttttttt     | 3840 |
| ttttgagctggagtttctcctcttgggtggccagggtggagtaaatgtcagatctcgggt     | 3900 |
| caccgcaacctccgcctccaggttcaagcaattctcctgcctcactcctgcgagtagct      | 3960 |
| ggatttacaggcatggccacccaagcctagctattttghatttttagtagagatggggt      | 4020 |
| tctccatgttgggtcagggtgggtctcaaaactccagcctcaggtgahctgctgcctcggc    | 4080 |
| ctcccaaaatgctgttattacaggcgtgagccacccaagccagccttcatcttttaatga     | 4140 |
| atgtacatgtatgtaatcttttaggtgaactttttgtaatgttghgccaagttctttaa      | 4200 |
| aagcccttttggaaactgggcagggtggccacgcctgttaatccagcattttggggagctcg   | 4260 |
| aggcagggtggatcacttgaggccaggagttoaaagactagcctagccaaatgcaaaaccc    | 4320 |
| tgtctctactaaagatacaaaaatttagccggatggcatggcacatgctgttaattctcagc   | 4380 |
| tactcgggagggtgaggtagaagaatcgcttgaaacggggaggccagaggttgccagtgcgc   | 4440 |
| aagatgggcgcactgcactccagcctgggtgacagaggggagactccatctcaaaaaaaaa    | 4500 |
| aaaaaaaaaaaaagataaaaaaggaaaccttaagtactcttgggcttggtaaggattttgtt   | 4560 |
| aaatatacaaaaggattgcagggaataataacttatctttaaahattgagttatgcthatcca  | 4620 |
| agagcaaaataaatatttctccatttatccaaatcatttaggagcatcagatttttaacat    | 4680 |
| atgggccttgcacgtatcttaaatttatctctaggaatttttaggttghhagttgttctt     | 4740 |
| gtgaatgggattctttttctccaaataggattattgttgataatctgttgattatgttaact   | 4800 |
| ttgtagttttctgaactttactgaaactgtcttcttagatctaaactcttttcaattttcatc  | 4860 |
| atatattttctcattctctattttgtttgggggttttttagggcgggaatattaacgggataag | 4920 |
| agagacaaaaagaaaatctggaaaaacaattcattttaccttacattgcttgtgattacta    | 4980 |
| ccacactattactgggttggaaaaaatgtgaaatcccaagggtgcctaataaatgggagg     | 5040 |
| tacctaaagtgttcaatttaagtgaattgtaattgatttttggaaatttctctttcagtgcag  | 5100 |
| ctcttcattggagatggcagagctcatggtctcagaaggctggagggatgcaggttatgag    | 5160 |
| tacctctgcattgatgaactgttggatggctcccaaaagagattcagaaggcagacttcag    | 5220 |
| gcagacctcagcgttttctcctatgggattcgcagctagctaatatgtgagtttatag       | 5280 |
| ataatgthcttggthcattccagaggactgtgaagcactctghacagaagcttgtttagaaa   | 5340 |
| cagccctcatggcggggcgtggtggctcagcgtgttaatcccaacactttggggaggccgag   | 5400 |
| gcgggtggatcaactgaggtcaagagttcaagaccagcctggccaaratggtgaaacccc     | 5460 |
| aactctattaaaagtacaaaaaattagctgggcatggtggtgaacgcctgtaaccccagc     | 5520 |
| tacttgggagggtgaggcaggagaatcgcttgaaacccaggaggtggaggtttcagtgcgc    | 5580 |
| tgagatcacgcacattgcactctagcctgggcaacaaaagagaaaactccatctcaaaaaaa   | 5640 |
| aaaaaagyaaaaaaagaaacagccctcatgacacttagaaaagtagaataagctggtgtt     | 5700 |
| atctgaacattgaattgttaaggcttatcagggtggactttgcattccatcagcagacaatt   | 5760 |

FIG. 14B

58

tctatcaacagtccttccaccagtatctctctaaaatactctcctgaatcagcccacttccctt 8700  
ccatcttcaclacatgcacccctggccttccaaagctactatcggcctccaaaccagactgct 8760  
gggaaccacctgatctctctctgcttccactctgtctccaaaccccatctattttccaaagcago 8820  
actagagttatcatattaaaatgtaaaatctcagtttttttttttaagaaaaaaaccctga 8880  
gacttaacagagttatataaaaaatataaatgtcatctcagttccctgcttaaaacccctta 8940  
actcgtcttccaaattgcacttgggaatgaaacccaaactgcactgatccagcccttgccctgcc 9000  
tccccaaagtccaaaggggtcatggctctcttccctggctacactgggtttctttctgtctcc 9060  
tcaacactgcaagccctatfgctgccccagggcctttacacttgcctttttctgtcctaga 9120  
acagttcttccccaaagatttttaaaagggccgggctccttaacattgaaagtcgcagacca 9180  
aacgocacatatgcagacagttctctctcaactctttaaaaatagccctcgttccattctc 9240  
ttcttccatcacattaacctgttttaattttctctctcagagctccacactattttggaagtat 9300  
ttgttgacttggttaacattgtctctcccaactagagtgtaagtttctatgagggcaggggaactt 9360  
gtctgaacttgactgtatctctctgcctatagggttaagtgttaaaatagttattttatggaatg 9420  
aatccctatttctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctct 9480  
tgatatcccaactgctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctct 9540  
ggctagagtgactgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgag 9600  
attctcttgcctcagccctccagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtg 9660  
aatttttgtattttttatgagagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgag 9720  
tgacctcagatgatccacctgctcctggcctcccaagtgctgggattacaggcatgagcc 9780  
accgtgcccagccctctacaaaactttttattccatttaacaaactatctgctgggatttcaag 9840  
ttttcttaaaacttgatggagtcctatgtaattttcggagcttttaattttactaagacca 9900  
ttttagttctgatttatagaagtaaatthaacttttaagggatttcaagttatatggcctact 9960  
tctgaagcaaaacttcttccagtgaaaacttctattataaggggttttagacctccttctagga 10020  
cgttcaatctgttaactcaagagaaggctacaaagtgccctctttaaactgttttctatctc 10080  
acaaggtatgttagtagaaagtaaacagaagagtcatactctgttttccacagcccaattata 10140  
cagaaatccgacagtaactgcactcactggcgaaattttgctgacattgatgattcctgga 10200  
aaagtataaaagagtatcttggactggacatcttttaaccaggagagaaattggtgatgttg 10260  
ctggaccaggggggttggaaatgacccagatattggttaaaaacttgagccctccttgttcaag 10320  
accctgoggtatggcttgttttctctattttgacattccaggtaaaatccaggttaaggttctg 10380  
ggagygaggttttatgtgagagtactttagagcaggtatgctgtgaaagtggtttctcctata 10440  
tgggtcatctaggttaacttttaagaatgtttctctctctctctctctctctctctctctct 10500  
ttttctcagtttgatgttggaactttggcctcagctgggaatcagcaagtaactcagatg 10560  
gocctctgggctatcatggctgctctctttatctatgtctaatgacctccgaacactcagc 10620  
cctcaagccaaagctctccttcaggttaaggaacttaattggcctcaatcaggaccccttg 10680  
ggcaagcaagggtaaccagctttagacaggttaataagagtatatatttttaagatggcttta 10740  
tatacccaataaccaactttgtcttgggcttaaatctatttttttcccttgctcttgatgt 10800  
tactatcagtaataaagcttcttctgctagaaacattactttattttccaaaat-actgctaca 10860  
ggatcattttaatttttctctacagtgcttctgctagttctgacatttaagaatgaatgcacaa 10920  
actaacagggccacttataactagtttgcataagcaacacactttcttgggtttttcagggga 10980  
gacaaactttgaagtgtgggaacgacctctctcaggcttagcctgggctgttagctatgata 11040  
aacccggcagagatttgggtggaactcgtctcttataccatcgcagtttgccttccctgggtaaa 11100  
ggagtggcctgttaactcgtgctgcttctatcacacagctcctcctctgtgaaaaggaagcta 11160  
gggttctatgaatggaacttcaaggttaagaagtacatataaatccacaggaactgtttttg 11220  
cttcagctagaaaaatataatgcagatgtcattaaaaagacttactttaaaaatgtttatttt 11280  
attgcaactactacttctctgctccacctttttctctacttacttttaaaagctccaggtta 11340  
gggtgctcatgctgttaactccagcaactttgggaggtgagggcgggcagatcacctgaggt 11400  
tcgggaactttgagacccgctggacaacatggtgaaaacccatttctaataaaaaatataa 11460  
aaattagccaggtgtggtgggcacactgtggtccagctactctgggggctgagggcatga 11520

FIG. 14D

```

gaatcgcttgaacccgggagtgagggttgcaattgagctgagatcatgccacctcaactcca      11580
gcctgggcaacaaagattccatctcaaaaaaaaaaaaaaaaaagccaggccacagtggtctcatg      11640
cctgggaatcccagcaacttttgggaagctgaggccaggcagatcaacttgagggttaggatttca      11700
agaccagccctggctaaccatagtaaaagccctgtctctacraaaaaatacaaaaaattagccag      11760
gtatgggtggcgagcttctgttagccccagctactcaggagactgaggccaggagaaacactt      11820
gaaccggggaagtgggggggtgcagtgacccaaagatcacgccactgcattccagccctggg      11880
caacagagcaagactccatctcaaaaaaaaaaagttctatttcccttgaataaaatthttccg      11940
aagt:taaaacttttaggaataaaactatttaaacccgtatttactcatccagatacccaccc      12000
cccttghttgagattctctcccaattatcaaaaatgtgttagcatatttaactaacaagagct      12060
aaacatcatttaagactgaaatgtatttaagaaggatgtataggccaggccacggtgtctcac      12120
gcctgtaatcccaacaactttgggaggcccaagtcgggcygatcacgaggtcaggagatgga      12180
gaccatcctggccaacatggtgaaaacccctctctactaaaaatacaaaaaattagccagg      12240
caggtggcaggccacctgtaatcccagctactccagagggtgaggccaggacaatcaacttga      12300
acctgggaggccagaggtgcagtgcagctgaggttgtaccaattgcachccagccaggtta      12360
acgagcaacactccatctcaaaaaaaaaaagaaaaaaagatgtataatttgyaaccttta      12420
agaggecatthttaaga      12486

```

FIG. 14E

|            |            |            |            |            |            |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| MQLRNPELHL | GCALALRFLA | LVSWDIPGAR | ALDNGLARCP | TMCWLHWERP | MCNLDCQEEP | 60  |
| USCISEKLFM | EMAEIMVSEG | WMDAGYEYLC | IDDCWMAFQR | DSEGNLQADP | GRFPHCLEQL | 120 |
| ANYVHSKGLR | LCIYADVGNK | TCAGFPSSFG | YYDIDAQTFA | DWGVDLKFD  | GCYCDSLENL | 180 |
| ADGYKMSLA  | LNRTGRSIVY | SCEWPLYMWF | FQKPNYTEIR | QYCNBWRNEA | DIDDSWKSIR | 240 |
| SILDWTSFNQ | ERTIVEVACP | GWNDPMELVI | GNFGLSWNOQ | VTQMALWAIM | AAPLFMSNDL | 300 |
| RAISFQAKAL | LQEKVIATIN | QDPLSKQGYQ | LRQCDNFVW  | ERPLSGLAWA | VAMINRQEIG | 360 |
| GPRSYTIAVA | SLGKGVACNF | ACFITQLLPV | KPKLGTYEWT | SKLRSHINPT | GTVLLQLENT | 420 |
| MQMSLKDLL  |            |            |            |            |            | 489 |

FIG. 15