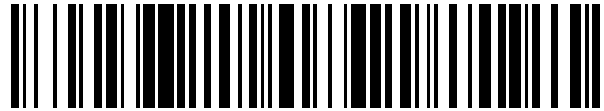


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 680 396**

21 Número de solicitud: 201730241

51 Int. Cl.:

G06F 19/10 (2011.01)

G01N 33/576 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

23.02.2017

43 Fecha de publicación de la solicitud:

06.09.2018

71 Solicitantes:

SERVICIO ANDALUZ DE SALUD (100.0%)

Avda. de la Constitución, 18

41071 Sevilla ES

72 Inventor/es:

MOLINA CUADRADO, Emilio

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

54 Título: **Método de predicción de anemia en tratamientos con antivirales de acción directa**

57 Resumen:

Método de predicción de anemia en tratamientos con antivirales de acción directa.

La presente invención se refiere a un método basado en un modelo de regresión logística para predecir o pronosticar el riesgo de padecer anemia de un individuo antes y una vez iniciado de manera precoz el tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, métodos implementados por ordenador y usos.

ES 2 680 396 A1

DESCRIPCIÓN

Método de predicción de anemia en tratamientos con antivirales de acción directa

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se encuentra dentro del campo de la biomedicina y la biotecnología, y se refiere a un método basado en un modelo de regresión logística para predecir o pronosticar el riesgo de padecer anemia de un individuo antes y una vez iniciado de manera precoz el tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El virus de la hepatitis C es uno de la principales agentes causantes de enfermedad hepática crónica en todo el mundo¹. El impacto a largo plazo de la infección por el virus de la Hepatitis C es muy variable, pudiendo cursar desde una enfermedad con mínimos cambios histológicos a casos en los que se desarrolla una amplia fibrosis y cirrosis con o sin carcinoma hepatocelular. El número de personas infectadas crónicamente en todo el mundo se estima en unos 160 millones de personas². El manejo clínico de los pacientes con enfermedad hepática asociada al virus de la hepatitis C ha avanzado considerablemente en las últimas dos décadas, gracias a un mejor conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad y al desarrollo de nuevas técnicas diagnósticas y alternativas terapéuticas.

Hasta 2011, la combinación de interferón pegilado y ribavirina (PR) durante 24 o 48 semanas era el estándar de tratamiento de los pacientes con hepatitis C crónica³. Con este régimen los pacientes infectados por virus de la hepatitis C genotipo 1 obtenían unas tasas de respuesta viral sostenida (RVS) de entre el 40-50% y de hasta el 80% para el genotipo 2. Los genotipos 3, 4, 5 y 6 obtenían unas tasas de RVS intermedias⁴.

En 2011 boceprevir y telaprevir, ambos inhibidores de la proteasa, se aprobaron para el tratamiento del virus de la hepatitis C genotipo 1. Estos dos fármacos fueron los primeros antivirales de acción directa (AAD) y ambos debían de administrarse en combinación con PR5-7. Sin embargo, el perfil de efectos secundarios de esta combinación y el coste por

RVS en pacientes con fibrosis hepática avanzada es tal, que actualmente ya no están recomendados al existir otras combinaciones más eficaces y con mejor tolerancia.

Varios tratamientos fueron aprobados en 2014 para el tratamiento de la hepatitis C. Sofosbuvir, un inhibidor de la ARN polimerasa pangenotípico. Dasabuvir, un inhibidor de la ARN polimerasa empleado frente a virus de la hepatitis C genotipo 1. Simeprevir y Paritaprevir, inhibidores de la proteasa de segunda generación activos frente a los genotipos 1 y 4 del virus. Daclatasvir, Ledipasvir, inhibidores de la NS5A pangenotípicos y Ombistavir, inhibidor de la NS5A empleado frente a los genotipos 1 y 4.

Todos estos avances terapéuticos que han hecho las combinaciones de estos nuevos fármacos junto a PR hayan caído prácticamente en desuso en favor de las combinaciones libres de interferón. Sin embargo, la utilización de ribavirina sigue estando indicada en muchas ocasiones, como en pacientes con genotipo 1a tratados con ombistavir/paritaprevir/ritonavir más dasabuvir y pacientes con genotipo 4 tratados con ombistavir/paritaprevir/ritonavir, pero es sobre todo en pacientes cirróticos donde se recomienda su utilización asociado al tratamiento de base que tengan indicado⁸.

El efecto secundario más importante asociado a la ribavirina es la anemia. Se conocen una serie de factores que aumentan el riesgo de anemia durante el tratamiento de la hepatitis C con PR. El daño en la función renal y una caída en la hemoglobina $> 1,5\text{g/dl}$ en la semana dos ha demostrado predecir el riesgo de sufrir anemia⁹. Otro estudio realizado con telaprevir y PR demostró que el género femenino, edad >50 años, índice de masa corporal $<23\text{kg/m}^2$ y genotipo de interleukina 28B CC eran todos factores de riesgo de anemia¹⁰.

Sin embargo la incidencia de anemia, entendida como hemoglobina $<10\text{mg/dl}$ en cualquier momento del tratamiento, varía entre el 20-31% en el caso de los pacientes tratados con interferón PR11, 12, un 38% con telaprevir más PR13 y un 50% con boceprevir más PR12. Por otro lado en los ensayos clínicos realizados con sofosbuvir/ledipasvir y ombistavir/paritaprevir/ritonavir más dasabuvir las incidencias de anemia han sido del 10% en el caso de sofosbuvir/ledipasvir¹⁴ y entre 7,5% y 10,5% en el caso de ombistavir/paritaprevir/ritonavir más dasabuvir según la duración fuera 12 o 24 semanas respectivamente¹⁵. Estas incidencias se han producido por tanto, bien en tratamientos combinados con interferón pegilado, bien con duraciones de 48 semanas superiores a las 12-24 semanas de los tratamientos actuales⁸ o bien en ensayos clínicos realizados en pacientes con unas condiciones más estrictas de inclusión^{14, 15}.

Parece pues necesario realizar un estudio para evaluar la incidencia de la anemia y establecer cuáles son los factores predictores de anemia en estas nuevas circunstancias como son la combinación de ribavirina con los nuevos AAD en asociaciones que duran 12-24 semanas y en situaciones de práctica real.

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

Un **primer aspecto** de la invención se refiere al uso de los marcadores tasa de filtración glomerular y concentración de hemoglobina en el modelo de regresión logística de fórmula (I):

10
$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (21,583 - 0,098 * (\text{CKD-EPI}) - 2,006 * (\text{Duración W}) - 0,915 * (\text{Basal Hb}))})$$

Fórmula (I)

donde Duración W (duración del tratamiento) es una variable dicotómica que puede ser igual a 1 (12 semanas) o igual a 0 (>12 semanas),

15 para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia antes del tratamiento de la Hepatitis C con antivirales de acción directa (ADD).

Una realización preferida de este aspecto de la invención se refiere al uso de los marcadores tasa de filtración glomerular, concentración de hemoglobina basal y del porcentaje de cambio de hemoglobina de semana 0 a 2 en los modelos de regresión logística de fórmula (II):

20
$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (30,447 - 0,111 * (\text{CKD-EPI}) - 2,942 * (\text{Duración W}) - 1,753 * (\text{Basal Hb}) + 0,628 * (\text{Hb cambio} \% \text{ W2}))})$$

Fórmula (II)

donde Duración W (duración del tratamiento) es una variable dicotómica que puede ser igual a 1 (12 semanas) o igual a 0 (>12 semanas),

25 para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia una vez iniciado el tratamiento de la Hepatitis C con antivirales de acción directa (ADD).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los ADD se seleccionan de la lista que consiste en nucleósidos y nucleótidos excluyendo inhibidores de la transcriptasa inversa, aminos cíclicas, derivados del ácido fosfónico, inhibidores de la proteasa, nucleósidos y nucleótidos inhibidores de la transcriptasa inversa, inhibidores no

nucleosídicos de la transcriptasa inversa, inhibidores de la neuraminidasa, antivirales para el tratamiento de infecciones por VIH, otros antivirales o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más preferida, los ADD son nucleósidos y nucleótidos excluyendo inhibidores de la transcriptasa reversa. En una realización aún más preferida, el uso de los marcadores el nucleósidos y nucleótidos excluyendo inhibidores de la transcriptasa reversa es la ribavirina.

En otra realización preferida, el los marcadores de este primer aspecto de la invención se usan para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia tras el tratamiento de la Hepatitis C con Rivabirina y, opcionalmente, junto con otros antivirales de acción directa. Más preferiblemente, el tratamiento de la hepatitis C se realiza con Rivabirina y otros antivirales de acción directa (ADD).

Un **segundo aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles, de ahora en adelante primer método de la invención, para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia antes del tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende:

a) cuantificar los marcadores tasa de filtración glomerular (CKD-EPI) y concentración de hemoglobina basal (Basal Hb) tal como se define en el primer aspecto de la invención en una muestra biológica aislada de un individuo, y

b) aplicar el modelo de regresión logística de fórmula (I):

$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (21,583 - 0,098 * (\text{CKD-EPI}) - 2,006 * (\text{Duración W}) - 0,915 * (\text{Basal Hb}))})$$

En una realización preferida, el primer método de la invención es un método para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia antes del tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende los pasos (a) y (b) del primer método de la invención, y además comprende:

c) asignar al individuo al grupo de individuos que van a padecer anemia cuando presenta una probabilidad de al menos un 50%.

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles, de ahora en adelante segundo método de la invención, para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia una vez iniciado el tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende:

a) cuantificar los marcadores tasa de filtración glomerular (CKD-EPI), concentración de hemoglobina basal (Basal Hb) y porcentaje de cambio de hemoglobina de la semana 0 a la 2 (HB Change % W2) tal como se define en el primer aspecto de la invención en una muestra biológica aislada de un individuo, y

5 b) aplicar el modelo de regresión logística de fórmula (II):

$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (30,447 - 0,111 * (\text{CKD-EPI}) - 2,942 * (\text{Duración W}) - 1,753 * (\text{Basal Hb}) + 0,628 * (\text{Hb Change \% W2}))})$$

10 En una realización preferida, el segundo método de la invención es un método para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia una vez iniciado el tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende los pasos(a) y (b) del segundo método de la invención, y a además comprende:

c) asignar al individuo al grupo de individuos que van a padecer anemia cuando presenta una probabilidad de al menos un 50%.

15 Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere a un programa de ordenador que comprende instrucciones de programa para hacer que un ordenador lleve a la práctica el procedimiento de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

Un **quinto aspecto** de la invención se refiere a un medio de almacenamiento legible por un ordenador que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

20 Un **sexto aspecto** de la invención se refiere a una señal transmisible que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

25 **Figura 1.** Tiempo en desarrollar la anemia (Hb<10g/dl).

Figura 2. Cambio en la concentración de Hemoglobina durante el tratamiento.

Figura 3. Cambio comparado en la concentración de Hemoglobina (g/dl) desde semana 0 a 12.

Figura 4. Resultado del análisis de regresión logístico bivariante.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los autores de la presente invención describen el uso de un método basado en un modelo de regresión logística para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia en respuesta al tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, antes y durante el tratamiento.

La presente invención ayuda enormemente a mejorar la seguridad en el uso de la ribavirina en el contexto de los nuevos antivirales de acción directa al pronosticar aquellos pacientes que son de más riesgo de padecer anemia (que es el principal efecto secundario de la ribavirina). Esto permite antes del tratamiento identificar a pacientes que serían candidatos a otras opciones de tratamiento “sin ribavirina” o bien a realizar un reajuste del tratamiento una vez que se haya iniciado el tratamiento.

USO DE MARCADORES

Por tanto, un **primer aspecto** de la invención se refiere al uso de los marcadores tasa de filtración glomerular y concentración de hemoglobina en el modelo de regresión logística de fórmula (I):

$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (21,583 - 0,098 * (\text{CKD-EPI}) - 2,006 * (\text{Duración W}) - 0,915 * (\text{Basal Hb}))})$$

Fórmula (I)

donde Duración W (duración del tratamiento) es una variable dicotómica que puede ser igual a 1 (12 semanas) o igual a 0 (>12 semanas),

para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia antes del tratamiento de la Hepatitis C con antivirales de acción directa (ADD).

Una realización preferida de este aspecto de la invención, se refiere al uso de los marcadores tasa de filtración glomerular, concentración de hemoglobina basal y del porcentaje de cambio de hemoglobina de semana 0 a 2 en los modelos de regresión logística de fórmula (II):

$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (30,447 - 0,111 * (\text{CKD-EPI}) - 2,942 * (\text{Duración W}) - 1,753 * (\text{Basal Hb}) + 0,628 * (\text{Hb cambio\% W2}))})$$

Fórmula (II)

donde Duración W (duración del tratamiento) es una variable dicotómica que puede ser igual a 1 (12 semanas) o igual a 0 (>12 semanas),

para predecir o pronosticar el riesgo de padecer anemia de un individuo una vez iniciado el tratamiento de la Hepatitis C con antivirales de acción directa (ADD). Preferiblemente una vez iniciado de manera precoz el tratamiento de la Hepatitis C con antivirales de acción directa (ADD)

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los ADD se seleccionan de la lista que consiste en nucleósidos y nucleótidos excluyendo inhibidores de la transcriptasa inversa, aminos cíclicas, derivados del ácido fosfónico, inhibidores de la proteasa, nucleósidos y nucleótidos inhibidores de la transcriptasa inversa, inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa, inhibidores de la neuraminidasa, antivirales para el tratamiento de infecciones por VIH, otros antivirales o cualquiera de sus combinaciones. En una realización más preferida, los ADD son nucleósidos y nucleótidos excluyendo inhibidores de la transcriptasa reversa. En una realización aún más preferida, el uso de los marcadores el nucleósidos y nucleótidos excluyendo inhibidores de la transcriptasa reversa es la ribavirina.

En otra realización preferida, el los marcadores de este primer aspecto de la invención se usan para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo a padecer anemia tras el tratamiento de la Hepatitis C con rivabirina y, opcionalmente, junto con otros antivirales de acción directa. Más preferiblemente, el tratamiento de la hepatitis C se realiza con rivabirina y otros antivirales de acción directa (ADD).

El término “modelo de regresión logística, modelo logístico, modelo logit, o clasificador de máxima entropía” hace referencia a un tipo de análisis de regresión utilizado para predecir el resultado de una variable categórica (una variable que puede adoptar un número limitado de categorías) en función de las variables independientes o predictoras. Es útil para modelar la probabilidad de un evento ocurriendo como función de otros factores. En la presente invención es necesario diferenciar el “modelo de regresión logística *pretratamiento*”, el cual utiliza la fórmula I, y el “modelo de regresión logística *intratamiento*”, el cual utiliza la fórmula II.

El término “marcador, biomarcador o marcador biológico” se utiliza para designar aquella sustancia utilizada como indicador de un estado biológico. Debe poder medirse objetivamente y ser evaluado como un indicador de un proceso biológico normal, estado patogénico o de respuesta a un tratamiento farmacológico. Más concretamente, en la

presente invención, se cuantifican los marcadores tasa de filtración glomerular, concentración de hemoglobina basal (Basal Hb) y porcentaje de cambio de hemoglobina de semana 0 a 2 (HB Change % W2). La determinación de los marcadores se puede hacer por cualquier medio conocido por el experto en la materia.

5 Más concretamente, el término “tasa de filtración glomerular o índice de filtración glomerular” hace referencia al volumen de fluido filtrado por unidad de tiempo desde los capilares glomerulares renales hacia el interior de la cápsula de Bowman. Normalmente se mide en mililitros por minuto (ml/min). Existen diferentes técnicas para calcular o estimar la tasa de filtración glomerular, estas técnicas en general hacen uso de una sustancia endógena o
 10 añadida que filtra casi completamente a nivel glomerular y que luego casi no es reabsorbida ni excretada a nivel tubular. En la clínica, este índice es usualmente empleado para medir la función renal a nivel de glomérulo. Para hacer el cálculo de la misma, en la presente invención se ha empleado la fórmula GFR CKD-EPI (Glomerular Filtration Rate by the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration), conocida por el experto en la materia,
 15 la cual cuenta con las variables la edad, sexo, raza y creatinina basal, y se mide en ml/min.

Más concretamente, el término “hemoglobina (Hb)” hace referencia a la proteína de la sangre, de color rojo característico, que transporta el oxígeno desde los órganos respiratorios hasta los tejidos. Normalmente se mide en gramos por decilitro (g/dl). En la clínica, un descenso en los valores de hemoglobina por debajo de los normales es muy
 20 común y un síntoma característico de las anemias, hemorragias repetidas y leucemia. En la presente invención se llevan a cabo la determinación de la hemoglobina basal (Hb basal o Basal Hb) en el caso del modelo de regresión logística *pretratamiento* e *intratratamiento*, y la determinación de porcentaje de cambio de hemoglobina de semana 0 a 2 ó a las dos semanas de tratamiento (Hb cambio% W2) en el modelo de regresión logística
 25 *intratratamiento*.

En la presente invención se entiende por “Duración W” (presente en las fórmulas I y II del modelo de regresión logística) a la duración del tratamiento con ribavirina. Ésta es una variable dicotómica que puede ser igual a 1 (12 semanas) o igual a 0 (>12 semanas). La duración del tratamiento con ribavirina puede ser igual o superior a 12 semanas.
 30 Preferiblemente la duración del tratamiento puede ser entre 12 y 24 semanas.

En la presente invención se entiende por "pronóstico" la evolución esperada de una enfermedad y se refiere a la valoración de la probabilidad según la cual un sujeto padece una enfermedad así como a la valoración de su inicio, estado de desarrollo, evolución, o de su regresión, y/o el pronóstico del curso de la enfermedad en el futuro.

El término "anemia" tal como se describe en la presente invención, hace referencia a una concentración baja de hemoglobina en la sangre. Se detecta mediante un análisis de laboratorio en el que se descubre un nivel de hemoglobina en la sangre menor de lo normal. Puede acompañarse de otros parámetros alterados, como disminución del número de glóbulos rojos, o disminución del hematocrito, pero no es correcto definirla como disminución de la cantidad de glóbulos rojos, pues estas células sanguíneas pueden variar considerablemente en tamaño, en ocasiones el número de glóbulos rojos es normal y sin embargo existe anemia.

El término "Hepatitis C" tal como se describe en la presente invención, es una enfermedad del hígado causada por el virus del mismo nombre; ese virus puede causar una infección, tanto aguda como crónica, cuya gravedad varía entre una dolencia leve que dura algunas semanas, y una enfermedad grave de por vida. El virus de la hepatitis C (VHC) se transmite a través de la sangre, y las causas de infección más comunes son las prácticas de inyección poco seguras, la esterilización inapropiada de equipo médico y la transfusión de sangre y productos sanguíneos sin analizar. En todo el mundo hay entre 130 y 150 millones de personas con infección crónica por el virus de la hepatitis C. Un número considerable de esas personas con infección crónica desarrollarán cirrosis o cáncer de hígado. Aproximadamente 700 000 personas mueren cada año por enfermedades hepáticas relacionadas con la hepatitis C. Los antivíricos pueden curar más del 90% de los casos de infección por el virus de la hepatitis C, lo que reduce el riesgo de muerte por cáncer de hígado y cirrosis, pero el acceso al diagnóstico y el tratamiento es limitado.

El término "antivirales de acción directa (ADD)" hace referencia a uno de los grupos terapéutico de antivirales de uso sistémico, que en la presente invención son empleados para el tratamiento de la Hepatitis C. De entre ellos cobra principal importancia los Nucleósidos y nucleótidos, excluyendo los inhibidores de la transcriptasa reversa, y aún más la ribavirina. Preferiblemente se hace referencia a la ribavirina en combinación con otros ADD.

Un "individuo" o "sujeto", como se usa aquí, se refiere a un mamífero, humano o no humano, en observación, y más preferiblemente un ser humano. El individuo puede ser cualquiera, un individuo predispuesto a una enfermedad (por ejemplo PCa) o un individuo que padece dicha enfermedad.

MÉTODOS DE LA INVENCION

Predicción del riesgo de anemia antes del tratamiento con ribavirina

Un **segundo aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles, de ahora en adelante primer método de la invención, para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo de padecer anemia antes del tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende:

5 a) cuantificar los marcadores tasa de filtración glomerular (CKD-EPI) y concentración de hemoglobina basal (Basal Hb) tal como se define en el primer aspecto de la invención en una muestra biológica aislada de un individuo, preferiblemente sangre, y

b) aplicar el modelo de regresión logística de fórmula (I):

$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (21,583 - 0,098 * (\text{CKD-EPI}) - 2,006 * (\text{Duración W}) - 0,915 * (\text{Basal Hb}))})$$

10 En una realización preferida, el primer método de la invención es un método para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo a padecer anemia antes del tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende los pasos (a) y (b) del primer método de la invención, y además comprende:

15 c) asignar al individuo al grupo de individuos que van a padecer anemia cuando presenta una probabilidad de al menos un 50%.

Predicción del riesgo de anemia antes del tratamiento con ribavirina

20 Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles, de ahora en adelante segundo método de la invención, para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo a padecer anemia una vez iniciado el tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende:

25 a) cuantificar los marcadores tasa de filtración glomerular (CKD-EPI), concentración de hemoglobina basal (Basal Hb) y porcentaje de cambio de hemoglobina de la semana 0 a la 2 (HB Change % W2) tal como se define en el primer aspecto de la invención en una muestra biológica aislada de un individuo, preferiblemente sangre, y

b) aplicar el modelo de regresión logística de fórmula (II):

$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (30,447 - 0,111 * (\text{CKD-EPI}) - 2,942 * (\text{Duración W}) - 1,753 * (\text{Basal Hb}) + 0,628 * (\text{Hb Change \% W2}))})$$

Preferiblemente, el segundo método de la invención es para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo a padecer anemia una vez iniciado de manera precoz el tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina.

5 En una realización preferida, el segundo método de la invención es un método para predecir o pronosticar el riesgo de un individuo a padecer anemia una vez iniciado el tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende los pasos(a) y (b) del segundo método de la invención, y a además comprende:

c) asignar al individuo al grupo de individuos que van a padecer anemia cuando presenta una probabilidad de al menos un 50%.

10 El término "cuantificar" tal y como se utiliza en la descripción, se refiere pero no se limita, a la determinación de la cantidad absoluta o relativa de los marcadores, de su concentración en sangre, así como a cualquier otro valor o parámetro relacionado con los mismos o que pueda derivarse de éstos. Dichos valores o parámetros comprenden valores de intensidad de la señal obtenidos a partir de cualquiera de las propiedades físicas o químicas de dichos
15 productos de expresión obtenidos mediante medida directa. Adicionalmente, dichos valores o parámetros incluyen todos aquellos obtenidos mediante medida indirecta, por ejemplo, cualquiera de los sistemas de medida descritos en otra parte del presente documento. Los pasos a) y/o b), de los métodos descrito anteriormente pueden ser total o parcialmente automatizados, por ejemplo, por medio de un equipo robótico sensor para la cuantificación
20 en el paso a) o la aplicación del modelo de regresión logística en el paso b).

Una "muestra biológica" tal como se define aquí, es una pequeña parte de un sujeto, representativa del conjunto y puede estar constituida por una biopsia o una muestra de fluido corporal. Las biopsias son pequeñas piezas de tejido y pueden ser frescas, congeladas o fijadas, como fijada con formalina y embebidas en parafina (formalin- fixed and
25 paraffin embedded FFPE). Muestras de fluidos corporales pueden ser sangre, plasma, suero, orina, esputo, líquido cefalorraquídeo, leche o muestras de fluido ductal y pueden asimismo ser frescos, congelados o fijados. Las muestras se pueden extirpar quirúrgicamente, mediante extracción, es decir, con agujas hipodérmicas o de otro tipo, por microdissección o captura láser. La muestra debe contener cualquier material biológico
30 adecuado para detectar el marcador, biomarcador o biomarcadores deseado/s, por lo tanto, dicha muestra debe comprender ventajosamente material de las células del sujeto. Por lo tanto, en una realización particular, la muestra biológica aislada del paso a) es una muestra de fluido corporal, preferiblemente de sangre.

MÉTODOS IMPLEMENTADOS POR ORDENADOR

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere a un programa de ordenador que comprende instrucciones de programa para hacer que un ordenador lleve a la práctica el procedimiento de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

En particular, la invención abarca programas de ordenador dispuestos sobre o dentro de una portadora. La portadora puede ser cualquier entidad o dispositivo capaz de soportar el programa. Cuando el programa va incorporado en una señal que puede ser transportada directamente por un cable u otro dispositivo o medio, la portadora puede estar constituida por dicho cable u otro dispositivo o medio. Como variante, la portadora podría ser un circuito integrado en el que va incluido el programa, estando el circuito integrado adaptado para ejecutar, o para ser utilizado en la ejecución de los procesos correspondientes.

Por ejemplo, los programas podrían estar incorporados en un medio de almacenamiento, como una memoria ROM, una memoria CD ROM o una memoria ROM de semiconductor, una memoria USB, o un soporte de grabación magnética, por ejemplo, un disco flexible o un disco duro. Alternativamente, los programas podrían estar soportados en una señal portadora transmisible. Por ejemplo, podría tratarse de una señal eléctrica u óptica que podría transportarse a través de cable eléctrico u óptico, por radio o por cualesquiera otros medios.

Un **quinto aspecto** de la invención se refiere a un medio de almacenamiento legible por un ordenador que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

Un **sexto aspecto** de la invención se refiere a una señal transmisible que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en la presente invención.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

EJEMPLOS DE LA INVENCIÓN

En este trabajo, se aplicó una herramienta que ayuda enormemente a mejorar la seguridad en el uso de la ribavirina en el contexto de los nuevos antivirales de acción directa. Al pronosticar aquellos pacientes que son de más riesgo de padecer anemia (que es el principal efecto secundario de la ribavirina). Esto permite antes del tratamiento identificar a pacientes que serían candidatos a otras opciones de tratamiento “sin ribavirina” o bien a realizar un reajuste del tratamiento una vez que se haya iniciado el tratamiento.

Se realizó un estudio de una cohorte retrospectiva de pacientes tratados con ribavirina y AAD en un hospital de tercer nivel. Dado que ha sido un estudio observacional retrospectivo los aspectos éticos se han relacionado con la confidencialidad de la información. La base de datos fue totalmente anónima, siendo cada participante identificado con un código numérico y los datos personales a los que se asignó cada código se conservaron en un fichero independiente que tenían medidas de seguridad de nivel alto. El estudio fue aprobado por el comité ético independiente de la institución en cumplimiento de los principios de la declaración de Helsinki.

Ejemplo 1. Materiales y Métodos

Pacientes

Un total de 152 pacientes fueron incluidos en el estudio. Se incluyeron pacientes mayores de 18 años, con peso entre 40 y 125 kg, una carga viral >10.000 UI/ml (TaqMan v2.0; Roche Diagnostics)¹⁶ y genotipos 1, 2, 3 y 4. Dentro de nuestra muestra también se incluyeron pacientes con insuficiencia renal, cirrosis descompensada, infección por el virus de la hepatitis B así como de la inmunodeficiencia humana. Las características basales de los pacientes pueden verse en la Tabla 1.

25

Tabla 1. Características basales de los pacientes

	n=152
Edad, edad media (intervalo)	54,73 (8,60)
Sexo, hombre, n (%)	119 (78,30)
Puntuación FibroScan, media kPa(DS)	17,60 (9,99)
Fibrosis	
No cirrótico, n (%)	57 (37,50)
F1	5 (3,30)
F2	17 (11,20)
F3	35 (23,00)
Cirrótico, n (%)	
F4	95 (62,50)
GFR CKD-EPI, media, ml/min (DS)	98 (16,81)
HCV RNA x10 ⁶ media, copias/ml (DS)	2,79 (3,5)
Plaquetas, x10 ³ media, unidades/ μ l (DS)	157,99 (83,77)
Albumina, media, g/dl (DS)	4,11 (0,50)
ALT, media, U/l (DS)	83,11 (52,08)
Peso >75kg, n (%)	73 (48,00)

Naive n (%)	86 (56,60)
Duración tratamiento 12 semanas/>12 semanas, n (%)	128/24 (84,20/15,80)
Hemoglobina basal media g/dL (DS)	14,93 (1,62)
Genotipo HCV, n (%)	
1	102 (67,10)
2	5 (3,30)
3	24 (15,80)
4	21 (13,80)
Tratamiento asociado a ribavirina n (%)	
Sofosbuvir-Ledipasvir	59 (38,80)
Ombistavir-Paritaprevir-Ritonavir-Dasabuvir	31 (20,40)
Sofosbuvir-Simeprevir	17 (11,20)
Sofosbuvir-Daclatasvir	18 (11,80)
Sofosbuvir	5 (3,30)
Sofosbuvir-PegInterferon	10 (6,60)
Simeprevir-Peginterferon	3 (2,00)
Ombistavir-Paritaprevir-Ritonavir	9 (5,90)

Abreviaturas: ALT, Alanin Aminotransferasa; IC, Intervalo de confianza; GFR CKD-EPI, Tasa de filtración glomerular por Enfermedad renal crónica Epidemiology Collaboration; HCV, virus hepatitis C; DS, Desviación estándar.

5

Régimen de estudio

Los tratamientos empleados fueron todas las combinaciones recomendadas para los distintos genotipos, asociados a una dosis de ribavirina diaria en función del peso, 1000mg

para pacientes de menos de 75 kg y 1200mg para pacientes con 75 kg o más⁸. Para el manejo de la anemia la dosis de ribavirina se redujo a 800mg si los niveles de hemoglobina caían por debajo de 10g/dl y se suspendió cuando la hemoglobina cayó a menos de 8,5g/dl¹⁷.

5 VARIABLES DE ESTUDIO

El seguimiento de la hemoglobina sérica se realizó siguiendo la práctica clínica en nuestro centro, esto es: antes de empezar el tratamiento y a las 4, 8, 12 en los pacientes con tratamiento de 12 semanas, prolongándose a 16, 20 y 24 semanas para los pacientes con tratamiento de 24 semanas. Se registraron también los pacientes con anemia (hemoglobina <10g/dl) y la semana de aparición del evento. Así mismo, se midieron el descenso máximo producido en la hemoglobina de los pacientes durante todo el tratamiento, el cambio de hemoglobina de semana basal a semana 4 y por último también se realizó una estimación de cuál sería la hemoglobina a las dos semanas del estudio, para calcular el porcentaje en el descenso de hemoglobina de semana 0 a 2 y utilizarlo como predictor precoz de la aparición de anemia en el modelo de regresión logístico. Para ello lo que se hizo fue calcular la media del descenso de hemoglobina entre semana 0 y semana 4 y restárselo a la hemoglobina basal. Las características basales de los pacientes registradas fueron: sexo, edad, tipo de tratamiento, genotipo, puntuación en el FibroScan®, grado de fibrosis, carga viral, dosis, peso, estimación del filtrado glomerular según la Glomerular Filtration Rate by the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI), Alanino Aminotransferasa (ALT), albúmina, plaquetas, duración de tratamiento y si el paciente era naive.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para conseguir una precisión del 5,00% en la estimación de una proporción mediante un intervalo de confianza asintótico Normal al 95,00% bilateral, asumiendo que la proporción sería del 10,00%, se calculó que sería necesario incluir 139 unidades experimentales en el estudio a los que se añadió un 10% en previsión de que hubiera alguna pérdida de información. Para comparar las características basales de los pacientes con anemia y sin anemia se realizó los test de Student y U Mann-Whitney para variables continuas y el test de Chi-cuadrado para variables categóricas. El p valor de significación estadística fue $\leq 0,05$. Para verificar la diferencia en los valores de hemoglobina en semanas 0, 4, 8, y 12 se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para medias apareadas. Se realizó un análisis de regresión logístico univariable inicialmente y multivariable posteriormente para evaluar la asociación entre los posibles factores predictores y la aparición de anemia. Las

características incluidas inicialmente en el análisis bivariante fueron: sexo, edad, puntuación en el FibroScan, ser cirrótico o no, carga viral, dosis, CKD-EPI, ALT, albúmina, duración de tratamiento 12 vs >12 semanas, hemoglobina basal y el porcentaje de descenso estimado de hemoglobina de semana 0 a semana 2.

- 5 En el modelo de entrada forzada de regresión logística multivariante se introdujeron las variables si el test Chi-cuadrado era significativo en el análisis bivariante para un nivel de significación de ≤ 0.1 . Por otro lado, las variables se eliminaron del modelo si el test de Wald Chi-cuadrado no era significativo para un nivel de significación de ≤ 0.05 . De los factores que resultaron predecir significativamente el riesgo de anemia se calculó el odds ratio y el intervalo de confianza al 95% (IC95%).

Paralelamente, se desarrollaron dos modelos con las variables que significativamente predecían el riesgo de anemia. Un modelo para predecir la anemia antes de iniciar el tratamiento y otro modelo para detectar precozmente el riesgo de anemia una vez iniciado. Finalmente, se compararon los resultados predichos por los modelos con los resultados realmente observados en nuestros pacientes para calcular el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo. El valor predictivo positivo se definió como el porcentaje de pacientes en los que el modelo predecía que tendrían anemia y que realmente la tuvieron. El valor predictivo negativo se definió como el porcentaje de pacientes en los que el modelo predecía que no tendrían anemia y que realmente no sufrieron anemia.

20 Ejemplo 2. Resultados

Anemia

23 pacientes sufrieron anemia durante el período de estudio (15,10%). De ellos en cuatro (2,63%) la hemoglobina fue $< 8,5\text{g/dl}$. Las características basales comparadas entre la población que desarrolló anemia y la que no se muestran en la Tabla 2. En ella se observa que las características en las que hubo diferencias significativas fueron: la edad ($p \leq 0,001$), el sexo ($p \leq 0,01$) el filtrado glomerular estimado ($p \leq 0,001$), recuento de plaquetas, ($p \leq 0,05$), albúmina ($p \leq 0,01$), duración de tratamiento mayor a 12 semanas ($p \leq 0,05$) y hemoglobina basal ($p \leq 0,001$). Aunque no hubo diferencias significativas en cuanto a la proporción de cirróticos hay que señalar que ningún paciente con fibrosis F1 ni F2 tuvo anemia.

Tabla 2. Características basales comparadas

Parámetros	Pacientes con Hb >10g/dL (n=129)	Pacientes con Hb <10g/dL (n=23)	p-valor
Edad, media de edad (DS)	53,75 (7,64)	60,22 (11,44)	p≤0,001 ^a
Sexo, hombre, n (%)	107 (82,90)	12 (52,20)	p≤0,01 ^b
FibroScan, puntuación media (DS)	17,20 (17,20)	19,88 (19,89)	ns ^c
Cirrótico, n (%)	78 (60,05)	17 (73,90)	ns ^b
GFR CKD-EPI, media, ml/min (DS)	99,92 (11,03)	73,05 (24,33)	p≤0,001 ^a
HCV RNA x10 ⁶ media, copias/ml (DS)	2,87 (3,70)	2,32 (2,46)	ns ^c
Plaquetas, media, x 10 ³ unidad/μL (DS)	164,64 (86,10)	120,69 (57,57)	p≤0,05 ^a
Albumina, media, g/dl (DS)	4,16 (0,47)	3,85 (0,59)	p≤0,01 ^a
ALT, media, U/L (DS)	83,48 (52,70)	81,04 (49,52)	ns ^c
Peso >75kg, n (%)	66 (51,20)	7 (30,40)	ns ^b
Naive, n (%)	73 (56,60%)	13 (56,50)	ns ^b
Duración del tratamiento >12 semanas, n (%)	16 (20,40)	8 (34,80)	p≤0,05 ^b
Hemoglobina Basal media g/dl (DS)	15,29 (1,35)	12,88 (1,45)	p≤0,001 ^a

a: test de Student , b: test de Chi-cuadrado , c: test de U Mann-Whitney .

Abreviaturas: ALT, Alanin Aminotransferasa; IC, Intervalo de confianza; GFR CKD-EPI, Tasa de filtración glomerular por Enfermedad renal crónica Epidemiology Collaboration; HCV, virus hepatitis C; ns, no significativa DS, Desviación estándar.

La anemia apareció mayoritariamente en el primer mes de tratamiento (9 casos) (Figura 1). El descenso medio en la hemoglobina durante el tratamiento fue de 2,67 IC95% (2,45-2,90). La hemoglobina media en las semanas 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 se puede ver en la Figura 2, el ANOVA realizado de semana 0 a semana 12 mostró una diferencia estadísticamente significativa en las medias de hemoglobina ($p \leq 0,001$). En esta figura se puede observar cómo esta diferencia se produjo mayoritariamente de la semana 0 a la semana 4 para luego suavizarse e incluso estabilizarse en las semanas siguientes. En la Figura 3 se observa que la diferencia es estadísticamente significativas entra cada grupo de pacientes (anemia vs no anemia) para cada una de las semanas ($p < 0.001$). La pendiente en el descenso de hemoglobina de semana 0 a semana 4 fue más pronunciada en los pacientes con anemia que en los pacientes sin anemia para luego tener un comportamiento similar a partir de esta semana.

Análisis bivariante de regresión logística

Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 4. Se observa que el sexo femenino, la edad, el filtrado glomerular estimado, la albúmina, la duración de tratamiento, la hemoglobina basal y el porcentaje de descenso de hemoglobina de semana 0 a semana 2 eran factores asociados a la aparición de anemia durante el tratamiento con ribavirina. ($p < 0.05$). El resto no mostraron una asociación estadísticamente significativa. Destaca que aunque ser cirrótico no demostró estar asociado con la aparición de anemia, ninguno de los pacientes F1 y F2 ($n=22$) tuvieron anemia. Por otro lado de los 115 pacientes con CKD-EPI > 90 ml/min solamente el 4,30% tuvieron anemia mostrando tener un efecto protector (OR, 0,05; IC95, 0,02-0,14).

Análisis multivariante de regresión logística

El análisis final multivariante identificó 4 factores predictores: el filtrado glomerular estimado, la hemoglobina basal, la duración de tratamiento 12 semanas y el porcentaje de descenso de hemoglobina de semana 0 a semana 2 ($p \leq 0,05$). Por contra, la albúmina y la dosis no demostraron estar asociados con la aparición de anemia (Tabla 3).

Modelo pretratamiento de predicción de anemia

En base a los resultados obtenidos en la Tabla 3, los coeficientes de regresión de las variables basales de los pacientes se utilizaron para construir un modelo predictivo pretratamiento cuya fórmula es:

$$5 \quad \text{Probabilidad} = 1/(1+e^{-(21,583-0,098*(CKD-EPI)-2,006*(Duración W)-0,915*(Basal Hb))}),$$

$$R^2 \text{ Nagelkerker}=0,64.$$

Posteriormente se compararon los resultados pronosticados con los observados para calcular los valores predictivos obteniéndose un valor predictivo positivo de 86.60% y valor predictivo negativo de 92,70%. El test de Hosmer-Lemeshow indica que el modelo propuesto se ha ajustado a lo observado ($p=0,784$) y que la capacidad de discriminación del modelo es buena ya que el Área bajo la curva de la curva ROC ha sido 0,942 (0,904-0,981).

Modelo intratratamiento de predicción de anemia

En base a los resultados obtenidos en la Tabla 3, los coeficientes de regresión de las variables basales y del porcentaje de descenso de hemoglobina estimado en semana 2 se utilizaron para construir un modelo predictivo intratratamiento. El motivo de utilizar esta variable estimada, fue que durante el estudio se observó que en semana 4 se habían producido 9 de los 23 casos de anemia, por lo que se decidió utilizar una variable precoz que permita implantar medidas antes de que el evento aparezca. La fórmula del modelo es:

$$20 \quad \text{Probabilidad} = 1/(1+e^{-(30,447-0,111*(CKD-EPI)-2,942*(Duración W)-1,753*(Basal Hb)+0,628*(Hb Change\% W2)}),$$

$$R^2 \text{ Nagelkerker} = 0,80.$$

Posteriormente se compararon los resultados pronosticados con los observados para calcular los valores predictivos obteniéndose un valor predictivo positivo de 90.48% y valor predictivo negativo de 96,95%. El test de Hosmer-Lemeshow indica que el modelo propuesto se ha ajustado a lo observado ($p=0,613$) y que la capacidad de discriminación del modelo es buena ya que el Área bajo la curva de la curva ROC ha sido 0,978 IC95% (0,955-1,000).

Tabla 3. Resultado análisis de regresión logístico multivariante (Anemia inducida por Ribavirina)

Parámetro	Modelo multivariable inicial			Modelo multivariable pretratamiento final			Modelo multivariable intratratamiento final		
	CR	P valor ^a	OR (CI 95%)	CR	P valor ^a	OR (CI 95%)	CR	P valor ^a	OR (CI 95%)
Albumina (per g/dL)	-0,39	ns	0,68 (0,13-3,55)						
Dosis(1000mg/1200mg)	0,14	ns	1,15 (0,13-10,19)						
CKD-EPI (por ml/min)	-0,11	≤0,01	0,90 (0,83-0,97)	-0,10	≤0,01	0,91 (0,86-0,96)	-0,11	≤0,01	0,89 (0,83-0,96)
Duración del tratamiento (12 semanas)	-2,94	≤0,05	0,05 (0,04-0,70)	-2,01	≤0,05	0,13 (0,02-0,76)	-2,94	≤0,05	0,05 (0,01-0,53)
Hb Basal (por g/dl)	-1,71	≤0,01	0,18 (0,06-0,53)	-0,91	≤0,001	0,40 (0,24-0,65)	-1,75	≤0,01	0,17 (0,06-0,48)
% de cambio de la Hb basal a la semana 2 (por g/dl)	0,64	≤0,01	1,89 (1,28-2,79)				0,63	≤0,01	1,87 (1,27-2,75)

a: test de Wald Chi-cuadrado

- 5 Abreviaturas: CI Confidence interval; ns, no significante; OR, Odds ratio; CR, Coeficiente de regresión

Ejemplo 3. Discusión

En este estudio, las características de los pacientes analizados han sido de práctica real a diferencia de otros estudios con interferon en los que las condiciones eran más estrictas, al excluirse pacientes con cirrosis descompensada, insuficiencia renal, infección por el virus de la hepatitis B o de la inmunodeficiencia humana^{5, 7, 9}. Sin embargo, en este estudio se han incluido mayoritariamente pacientes cirróticos. Además, en este estudio el 25% de pacientes tenía insuficiencia renal leve-moderada e incluía pacientes coinfectados. A pesar de estos criterios más flexibles de inclusión en el estudio el porcentaje de pacientes con anemia (15,10%), ha sido inferior a cuando se utilizaba la combinación PR 48 semanas (20-30)^{11, 12} y notablemente inferior que las combinaciones de telaprevir y boceprevir con PR (30-50%)¹².

¹³ por el contrario ha sido más elevada que en los ensayos clínicos realizados con sofosbuvir/ledipasvir (10%)¹⁴ y ombistavir/paritaprevir/ritonavir más dasabuvir (7,5-10,5%)¹⁵. La causa de esta menor incidencia cuando se compara frente a combinaciones que llevan interferon, telaprevir y boceprevir, es que por un lado todos estos tratamientos potencian el riesgo de anemia provocado por la ribavirina y por otro lado la menor duración a la exposición a la ribavirina es probable que haya favorecido esta menor incidencia de anemia. Por el contrario la mayor incidencia de anemia de nuestro estudio con respecto a los ensayos clínicos con sofosbuvir/ledipasvir y y ombistavir/paritaprevir/ritonavir más dasabuvir podría ser debida por un lado a que un 8,60% de nuestros pacientes sí que fueron tratados con combinaciones que incluían interferón de los cuales uno tuvo anemia, esto supone una limitación de nuestro trabajo, por otro lado aunque no hemos encontrado la función renal de los pacientes de los estudios con sofosbuvir/ledipasvir y ombistavir/paritaprevir/ritonavir más dasabuvir pudiera ser que el hecho de que nuestro estudio incluya un 25% de pacientes con insuficiencia renal leve-moderada haya influido en esta leve mayor incidencia.

En cuanto a la cinética en el descenso de la hemoglobina, el comportamiento en nuestro estudio ha sido similar al observado en los estudios realizados con PR, en los que se observaba que el mayor descenso de hemoglobina se producía en las primeras 4 semanas para luego estabilizarse^{9, 11}. También ha coincidido este comportamiento cuando se ha estratificado a los pacientes en base a si han sufrido anemia o no. De manera que el descenso entre la semana 0 y 4 ha sido más acusado entre los pacientes con anemia que en los pacientes sin anemia¹¹.

Del análisis bivalente se deduce que variables como, la puntuación en el FibroScan, la carga viral, la ALT, o ser cirrótico no han demostrado asociación con la aparición de anemia. Aún así hay que señalar que ningún paciente con grados de fibrosis F1 o F2 ha tenido anemia. También hemos encontrado que un valor de CKD-EPI>90ml/min se asociaba con un menor riesgo de anemia.

Los resultados del análisis de regresión multivariante han mostrado que la hemoglobina basal se asocia con el riesgo de tener anemia al igual que en los trabajos de Zeuzem y cols¹³ y Reau y cols⁹. Además también hemos encontrado que el filtrado glomerular también se asocia con el riesgo de anemia al igual que en el trabajo de Reau y cols⁹. Sin embargo, esta variable no entra dentro de las variables analizadas en otros estudios realizados este campo^{11-13, 18}. Por último, este análisis multivariante objetivó que la duración de tratamiento de 12 semanas también es un factor que reduce el riesgo de anemia. Este indicador no se había estudiado antes, quizás debido a que los tratamientos realizados con PR o con PR

más boceprevir o telaprevir tenían mayoritariamente una duración aproximada de 48 semanas.

Las variables sexo y edad que en el análisis bivalente sí fueron significativas, no se incluyeron en el análisis multivariante. Este resultado podría hacer pensar que discrepa de los resultados obtenidos en otros estudios en el que las variables sexo y edad sí pronosticaban el riesgo de anemia^{13, 18}. El motivo de no incluirlas fue que estas variables se utilizan para calcular la CKD-EPI por lo que la inclusión de estas variables en el análisis multivariante podría generar sesgos de colinealidad. Nuestro resultado es similar al resultado de Reau y cols⁹ en el que al igual que nosotros tuvieron en cuenta el filtrado glomerular y en el que las variables sexo y edad fueron significativas en el análisis bivalente pero no en el multivariante y explica a su vez porqué en los estudios en los que no se ha analizado el filtrado glomerular como posible predictor de anemia, la variables sexo y edad sí son estadísticamente significativas en el análisis multivariante^{13, 18}.

Finalmente, nos encontramos en un contexto en el que la ribavirina, continúa teniendo un papel como tratamiento complementario aunque no tan decisivo como en décadas anteriores. Esto nos permite, antes de iniciar el tratamiento, que nos podamos plantear otras opciones que no incluyan la ribavirina o la elección de esa misma alternativa con ampliaciones de 12 a 24 semanas⁸. Del mismo modo, nos permite adelantarnos a la aparición de la anemia reduciendo la dosis o cambiando duraciones de tratamiento, sin necesidad de utilizar eritropoyetinas que también se asocian a efectos adversos como neoplasias, eventos trombóticos o hipertensión^{19, 20}.

Dentro de este nuevo marco de uso de la ribavirina, nuestro estudio ha permitido desarrollar dos modelos de predicción de anemia. Un modelo pretratamiento y un modelo intratamiento para reducir el riesgo de aparición de anemia. La estrategia que sugerimos para reducir el riesgo de anemia sería la siguiente: utilizar en primer lugar el modelo predictivo pretratamiento de manera que si el modelo predice la aparición de anemia (valor predictivo positivo del 86,6%), se busquen alternativas sin ribavirina. La aplicación de este modelo cuando se han comparado los resultados pronosticados con los observados hubiera evitado 5 de las 9 episodios de anemia que se producen en semana 4 y 3 de las 4 episodios de anemia que se produjeron con valores < 8.5g/dl. Para los pacientes en los que el modelo pretratamiento, predice bajo riesgo de anemia (valor predictivo negativo del 92,70%), el siguiente paso podría ser iniciar la combinación con ribavirina y utilizar el modelo predictivo precoz intratamiento (valor predictivo positivo del 90,48%), para reducir la dosis de ribavirina o incluso cambiar la duración de los tratamientos de 12 a 24 semanas antes de que

aparezca la anemia. La aplicación de este modelo al comparar los resultados esperados y observados muestra que el modelo predice todos los pacientes con anemia antes de la semana 4 y todos los pacientes con anemia $<8,5\text{g/dl}$. Ambos modelos utilizados conjuntamente suponen una herramienta fácil y útil para mejorar la seguridad en el uso de la ribavirina.

Por tanto, a partir de estos datos podemos extraer que:

1. La incidencia de anemia en estas condiciones de práctica real han sido menores que cuando ribavirina se asocia a interferón, boceprevir y telaprevir, pero algo superiores a cuando se compara con los resultados obtenidos en los ensayos clínicos.
2. El descenso de hemoglobina se observa fundamentalmente en las primeras cuatro semanas.
3. Las variables que han mostrado predecir significativamente el riesgo de anemia han sido la hemoglobina basal, filtrado glomerular, duración de tratamiento 12 semanas y porcentaje de descenso de hemoglobina de semana 0 a 2.
4. Este análisis ha permitido desarrollar una herramienta que permite identificar pacientes con riesgo de sufrir anemia mejorando la seguridad en el uso de ribavirina.

Ejemplo 4. Implementación del modelo de regresión logística

Como muestra de aplicación de este modelo de regresión logística para predecir o pronosticar el riesgo de padecer anemia de un individuo en el tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, de forma explicativa y no limitativa, se va a describir el caso clínico de un paciente de raza blanca con Hepatitis C genotipo 1a grado de Fibrosis F2 al que se decide aplicar este modelo de regresión logística antes de la elección de la terapia. El paciente es varón de 50 años, cuya Hemoglobina (Hb) basal es de 15g/dl , la duración de tratamiento indicada es 12 semanas y la creatinina sérica basal es de $0,8\text{mg/dl}$. De esta manera, los inputs del modelo *pretratamiento* serían:

Hb basal= 15g/dl

Duración= 12 semanas (variable dicotómica 0/1. En este caso el imput sería 1)

CKD-EPI: Según la edad, sexo, raza y creatinina basal (50 años, varón, caucásico, $0,8$)= $104,16\text{ml/min}$

La probabilidad calculada de anemia es del 12% por tanto <50% y el modelo de regresión logística indica que es de bajo riesgo y por tanto sería candidato a iniciar el tratamiento, en este caso, con Ombistavir/Paritaprevir/Ritonavir 2 comprimidos en el desayuno + Dasabuvir 1 comprimido/12h en combinación con ribavirina 3 comprimidos/12h. El modelo predictivo pretratamiento tiene un valor predictivo negativo 92,7%, es decir, predice que el paciente es de bajo riesgo el modelo acierta el 92,7% de las veces.

En este mismo paciente, a las dos semanas se le aplica modelo de regresión logística *intratamiento*, en cual se le vuelve a hacer una determinación de Hb. El paciente en este caso tiene una Hb de 12g/dL. Es decir una bajada de 3g/dL (la basal era de 15g/dL) lo cual supone una bajada de Hb del 20%.

De esta manera, los inputs del modelo *intratamiento* serían:

Hb basal= 15g/dl

Duración=12 semanas (variable dicotómica 0/1. En este caso el imput sería 1)

CKD-EPI: Según la edad, sexo, raza y creatinina basal (50 años, varón, caucásico, 0,8)= 104,16ml/min

% Descenso Hb semana 0-2= 20%

En este caso el modelo *intratamiento* detecta que el paciente tiene una probabilidad del 87% de tener anemia (> del 50%) e indica que el paciente tiene riesgo de anemia.

El mayor riesgo de aparición de anemia es a las 4 semanas de tratamiento con ribavirina, de manera que, con el resultado obtenido, en la semana dos se podría o bien bajar la dosis de ribavirina a 2comprimidos/12h o bien retirar la ribavirina y ampliar la duración del tratamiento a 24 semanas sólo con Ombistavir/Paritaprevir/Ritonavir 2 comprimidos en el desayuno + Dasabuvir 1 comprimido/12h como indican las guías y de esta manera adelantarnos a la aparición de anemia. El valor predictivo positivo de este modelo *intratamiento* es del 90.48%, es decir, que si el modelo predice que el paciente tiene riesgo de anemia acierta el 90,48% de las veces.

REFERENCIAS

1. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect* 2011;17(2):107-115.
2. World Health Organization. Hepatitis C. Available at
5 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/> Last accessed 3 Agost. 2016.
3. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2011;55(2):245-264.
4. Antaki N, Craxi A, Kamal S et al. The neglected hepatitis C virus genotypes 4, 5 and 6: an international consensus report. *Liver Int* 2010;30(3):342-355.
- 10 5. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011;364(25):2405-2416.
6. Zeuzem S, Andreone P, Pol S et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 2011;364(25):2417-2428.
7. Poordad F, McCone J, Jr., Bacon BR et al. Boceprevir for untreated chronic HCV
15 genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011;364(13):1195-1206.
8. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J Hepatol* 2016;<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2016.09.001>.
9. Reau N, Hadziyannis SJ, Messinger D, Fried MW, Jensen DM. Early predictors of anemia in patients with hepatitis C genotype 1 treated with peginterferon alfa-2a (40KD) plus
20 ribavirin. *Am J Gastroenterol* 2008;103(8):1981-1988.
10. Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N et al. Influence of ITPA polymorphisms on decreases of hemoglobin during treatment with pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir. *Hepatology* 2011;53(2):415-421.
11. Nomura H, Tanimoto H, Kajiwara E et al. Factors contributing to ribavirin-induced
25 anemia. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19(11):1312-1317.
12. Sulkowski MS, Poordad F, Manns MP et al. Anemia during treatment with peginterferon Alfa-2b/ribavirin and boceprevir: Analysis from the serine protease inhibitor therapy 2 (SPRINT-2) trial. *Hepatology* 2013;57(3):974-984.

13. Zeuzem S, DeMasi R, Baldini A et al. Risk factors predictive of anemia development during telaprevir plus peginterferon/ribavirin therapy in treatment-experienced patients. *J Hepatol* 2014;60(6):1112-1117.
14. Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P et al. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014;370(20):1889-1898.
15. Poordad F, Hezode C, Trinh R et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin for hepatitis C with cirrhosis. *N Engl J Med* 2014;370(21):1973-1982.
16. Barbeau JM, Goforth J, Caliendo AM, Nolte FS. Performance characteristics of a quantitative TaqMan hepatitis C virus RNA analyte-specific reagent. *J Clin Microbiol* 2004;42(8):3739-3746.
17. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-355.
18. Snoeck E, Wade JR, Duff F, Lamb M, Jorga K. Predicting sustained virological response and anaemia in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40KD) plus ribavirin. *Br J Clin Pharmacol* 2006;62(6):699-709.
19. Lindahl K, Stahle L, Bruchfeld A, Schvarcz R. High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;41(2):275-279.
20. 20. McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML et al. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2009;361(6):580-593.

REIVINDICACIONES

1. Uso de los marcadores tasa de filtración glomerular y concentración de hemoglobina en el modelo de regresión logística de fórmula (I):

5
$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (21,583 - 0,098 * (\text{CKD-EPI}) - 2,006 * (\text{Duración W}) - 0,915 * (\text{Basal Hb}))})$$

Fórmula (I)

donde Duración W (duración del tratamiento) es una variable dicotómica que puede ser igual a 1 (12 semanas) o igual a 0 (>12 semanas),

10 para predecir o pronosticar, antes del tratamiento, el riesgo de un individuo de padecer anemia antes del tratamiento de la Hepatitis C con antivirales de acción directa (ADD).

2. Uso de los marcadores tasa de filtración glomerular y concentración de hemoglobina basal según la reivindicación 1, y adicionalmente el porcentaje de cambio de hemoglobina de la semana 0 a la 2, en el modelo de regresión logística de fórmula (II):

15
$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (30,447 - 0,111 * (\text{CKD-EPI}) - 2,942 * (\text{Duración W}) - 1,753 * (\text{Basal Hb}) + 0,628 * (\text{Hb cambio} \% \text{ W2}))})$$

Fórmula (II)

donde Duración W (duración del tratamiento) es una variable dicotómica que puede ser igual a 1 (12 semanas) o igual a 0 (>12 semanas),

20 para predecir o pronostica, el riesgo de un individuo de padecer anemia una vez iniciado el tratamiento de la Hepatitis C con antivirales de acción directa (ADD).

3. El uso de los marcadores según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde los ADD se seleccionan de la lista que consiste en nucleósidos y nucleótidos excluyendo inhibidores de la transcriptasa inversa, aminos cíclicas, derivados del ácido fosfónico, inhibidores de la proteasa, nucleósidos y nucleótidos inhibidores de la transcriptasa inversa, inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa, inhibidores de la neuraminidasa, antivirales para el tratamiento de infecciones por VIH, otros antivirales o cualquiera de sus combinaciones.
- 25

4. El uso de los marcadores según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde los ADD son nucleósidos y nucleótidos excluyendo inhibidores de la transcriptasa reversa.
5. El uso de los marcadores según la reivindicación 4, donde el nucleósidos y nucleótidos excluyendo inhibidores de la transcriptasa reversa es la ribavirina.
6. El uso de los marcadores según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para predecir o pronosticar el riesgo de padecer anemia de un individuo al tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, asociada con otros antivirales de acción directa (ADD).
7. Un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar, antes del tratamiento, el riesgo de un individuo de padecer anemia como consecuencia del tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende:
- a) cuantificar los marcadores tasa de filtración glomerular y concentración de hemoglobina basal, tal como se define en la reivindicación 1, en una muestra biológica aislada de un individuo, y
- b) aplicar el modelo de regresión logística de fórmula (I):
- $$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{- (21,583 - 0,098 * (\text{CKD-EPI}) - 2,006 * (\text{Duración W}) - 0,915 * (\text{Basal Hb}))})$$
8. Un método para predecir o pronosticar, antes del tratamiento, el riesgo de un individuo de padecer anemia como consecuencia del tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende los pasos (a) y (b) según la reivindicación anterior, y además comprende:
- c) asignar al individuo al grupo de individuos que van a padecer anemia cuando presenta una probabilidad de al menos un 50%.
9. Un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar, una vez iniciado el tratamiento, el riesgo de un individuo a padecer anemia como consecuencia del tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende:
- a) cuantificar los marcadores tasa de filtración glomerular, concentración de hemoglobina basal y porcentaje de cambio de hemoglobina de la semana 0 a la 2 (HB Change % W2) tal como se define en la reivindicación 2, en una muestra biológica aislada de un individuo, y
- b) aplicar el modelo de regresión logística de fórmula (II):

$$\text{Probabilidad} = 1 / (1 + e^{-(30,447 - 0,111 * (\text{CKD-EPI}) - 2,942 * (\text{Duración W}) - 1,753 * (\text{Basal Hb}) + 0,628 * (\text{Hb Change\% W2}))})$$

- 5
10. Un método para predecir o pronosticar, una vez iniciado el tratamiento, el riesgo de un individuo de padecer anemia como consecuencia del tratamiento de la Hepatitis C con ribavirina, que comprende los pasos (a) y (b) según la reivindicación anterior, y además comprende:
- c) Asignar al individuo al grupo de individuos que van a padecer anemia cuando presenta una probabilidad de al menos un 50%.
- 10
11. Un programa de ordenador que comprende instrucciones de programa para hacer que un ordenador lleve a la práctica el método según se describe en cualquiera de las reivindicaciones 7–10.
12. Un medio de almacenamiento legible por un ordenador que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en cualquiera de las reivindicaciones 7–10.
- 15
13. Una señal transmisible que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos que se describen en cualquiera de las reivindicaciones 7-10.

Figura 1

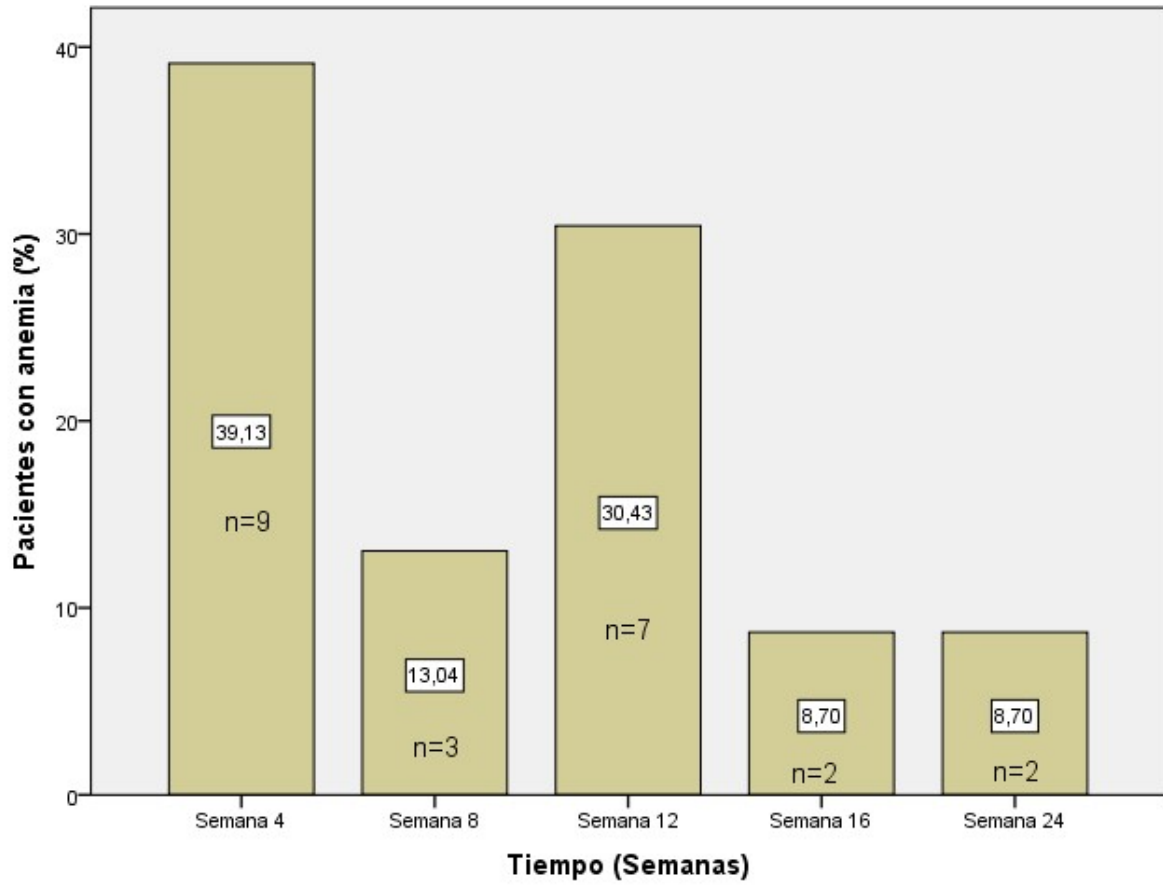


Figura 2

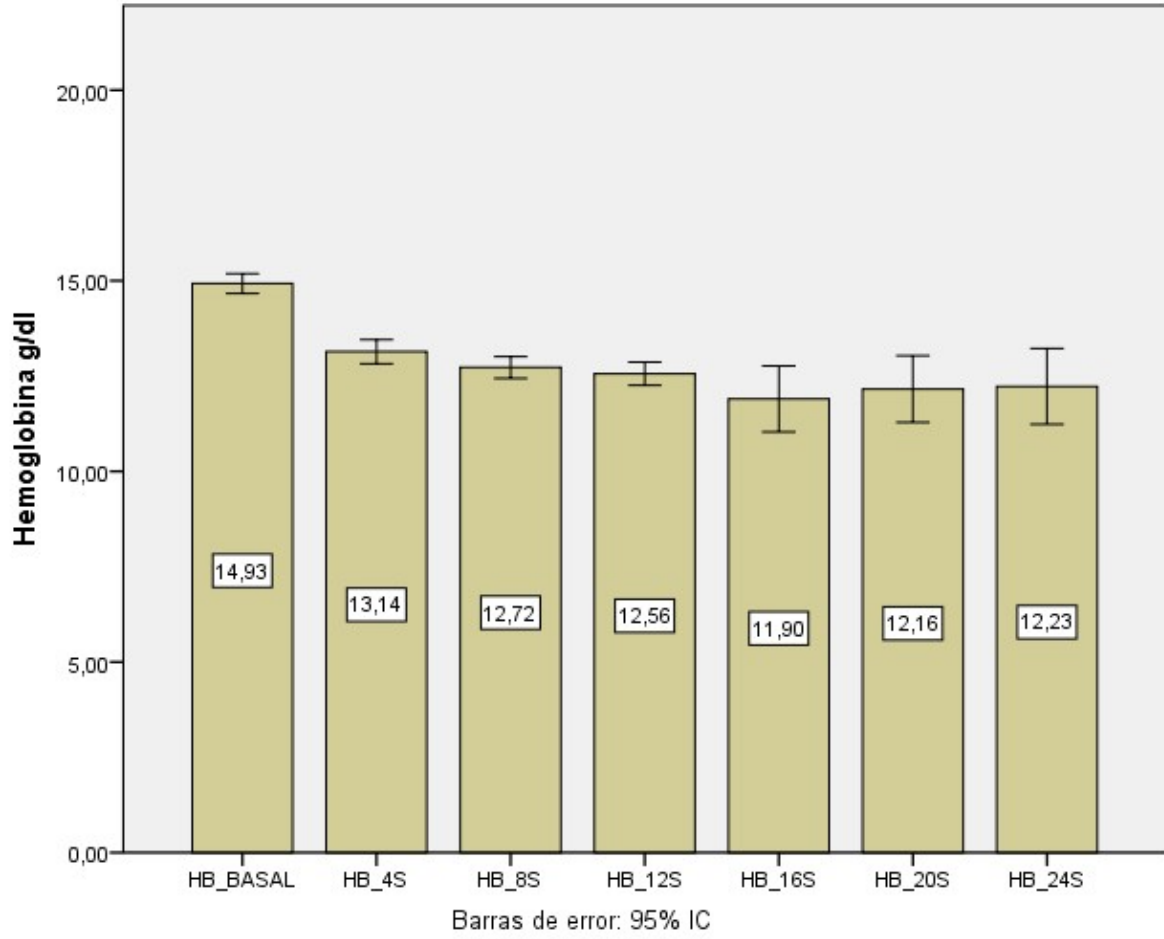


Figura 3

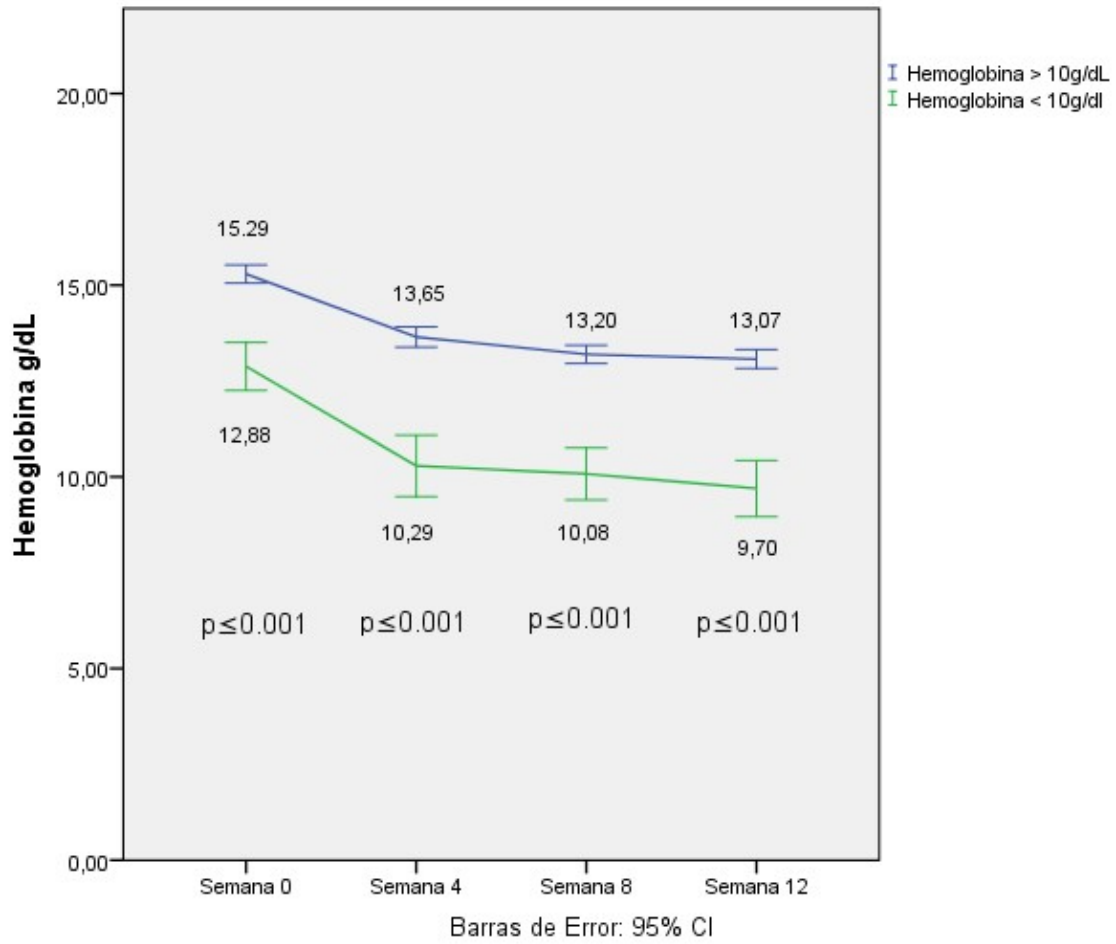
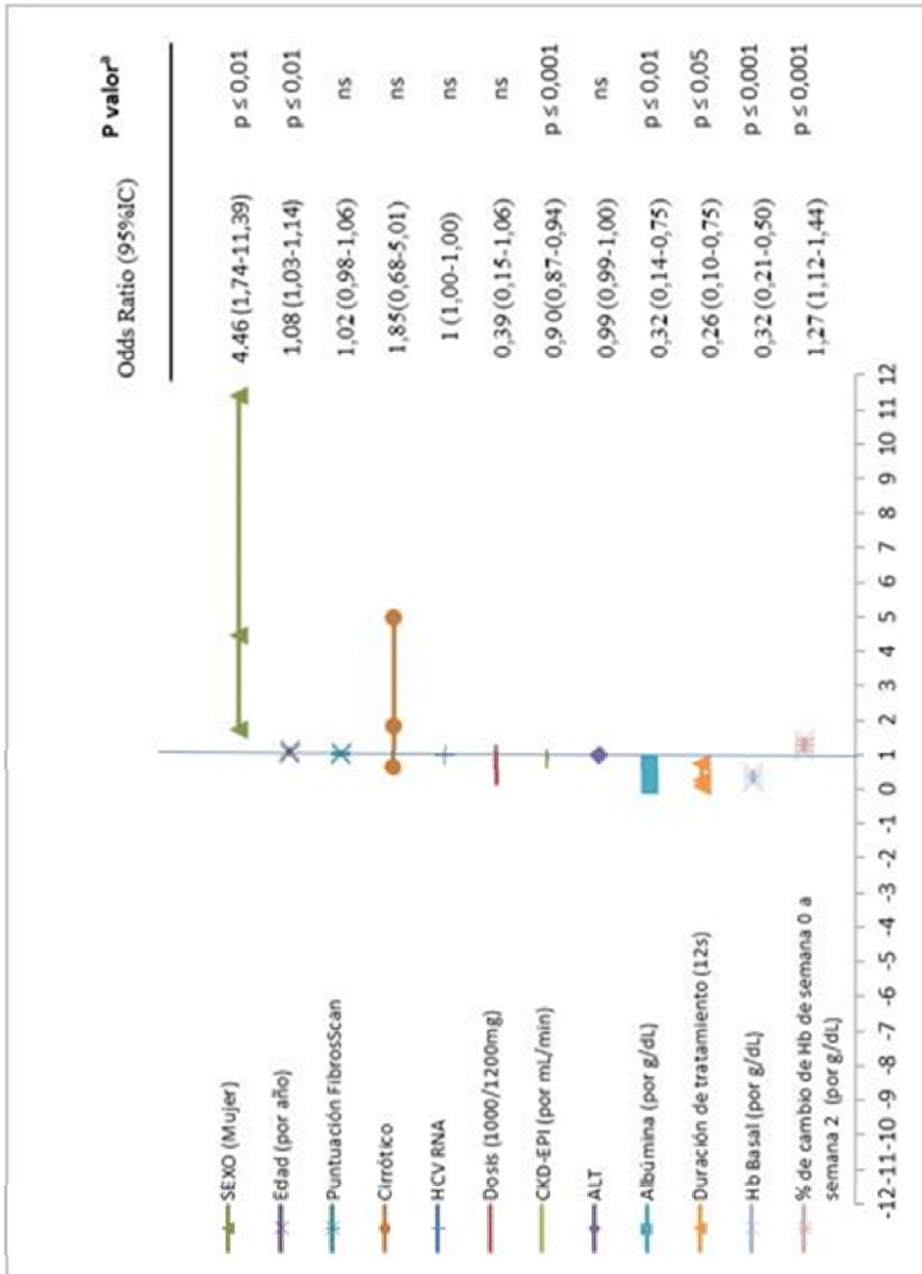


Figura 4



a: test chi-cuadrado

Abreviaturas: ALT, Alanina Aminotransferasa; CKD-EPI, Tasa de Filtración Glomerular según Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; HCV, hepatitis C virus; ns, no significativo.



- ②① N.º solicitud: 201730241
 ②② Fecha de presentación de la solicitud: 23.02.2017
 ③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G06F19/10** (2011.01)
G01N33/576 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	TSUBOTA AKIHITO <i>et al.</i> Several factors including ITPA polymorphism influence ribavirin-induced anemia in chronic hepatitis c. World journal of gastroenterology United States 07 Nov 2012. 07/11/2012, Vol. 18, Nº 41, Páginas 5879 - 5888, ISSN 2219-2840 (Electronic), <DOI: doi:10.3748/wjg.v18.i41.5879 pubmed: 23139603>. página 5880, columna derecha, primer párrafo; página 5881, columna derecha, tercer párrafo; página 5883, Columna izquierda; página 5885, columna izquierda.	1-13
A	OGAWA EIICHI <i>et al.</i> Clinical milestones for the prediction of severe anemia by chronic hepatitis C patients receiving telaprevir-based triple therapy. Journal of hepatology elsevier, Amsterdam, NL. Zoulim Fabien, 2013, Vol. 59, Nº 4, Páginas 667 - 674, ISSN 0168-8278, <DOI: doi:10.1016/j.jhep.2013.05.017>. página 668; página 669, columna izquierda, segundo párrafo y página 671, columna izquierda, primer párrafo.	1-13
A	ZEUZEM STEFAN <i>et al.</i> Risk factors predictive of anemia development during telaprevir plus peginterferon/ribavirin therapy in treatment-experienced patients. Journal of Hepatology, 20140129 Elsevier, Amsterdam, NL. Zoulim Fabien, 29/01/2014, Vol. 60, Nº 6, Páginas 1112 - 1117, ISSN 0168-8278, <DOI: doi:10.1016/j.jhep.2014.01.013>. Página 1114.	1-13

Categoría de los documentos citados

- X: de particular relevancia
 Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
 A: refleja el estado de la técnica

- O: referido a divulgación no escrita
 P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
 E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

- para todas las reivindicaciones para las reivindicaciones nº:

<p>Fecha de realización del informe 14.06.2018</p>	<p>Examinador S. González Peñalba</p>	<p>Página 1/5</p>
---	--	------------------------------

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G06F, G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, INTERNET

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 14.06.2018

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-13	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-13	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	TSUBOTA AKIHITO <i>et al.</i> Several factors including ITPA polymorphism influence ribavirin-induced anemia in chronic hepatitis C. World journal of gastroenterology United States 07 Nov 2012. Vol. 18, Nº 41, Páginas 5879 - 5888, ISSN 2219-2840 (Electronic), <DOI:doi:10.3748/wjg.v18.i41.5879 pubmed:23139603>	07.11.2012
D02	OGAWA EIICHI <i>et al.</i> Clinical milestones for the prediction of severe anemia by chronic hepatitis C patients receiving telaprevir-based triple therapy. Journal of Hepatology Elsevier, Amsterdam, NL. Zoulim Fabien, 2013, Vol. 59, Nº 4, Páginas 667 - 674, ISSN 0168-8278, <DOI: doi:10.1016/j.jhep.2013.05.017>	2013
D03	ZEUZEM STEFAN <i>et al.</i> Risk factors predictive of anemia development during telaprevir plus peginterferon/ribavirin therapy in treatment-experienced patients. Journal of Hepatology, 20140129 Elsevier, Amsterdam, NL. Zoulim Fabien, Vol. 60, Nº 6, Páginas 1112 - 1117, ISSN 0168-8278, <DOI: doi:10.1016/j.jhep.2014.01.013>	29.01.2014

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA ARTS. 6 Y 8 DE LA LP**

La presente solicitud de patente a la vista de los documentos citados del estado de la técnica y tal y como ha sido definida en sus reivindicaciones 1 a 13 parece poseer novedad por no estar incluida en el estado de la técnica analizado y parece poseer actividad inventiva por no poder deducirse de dicho estado de un modo evidente por un experto en la materia.

Se han encontrado en el estado de la técnica documentos que hacen referencia a estudios para predecir o pronosticar el riesgo que tiene un individuo a desarrollar anemia cuando se lleva a cabo un tratamiento para la hepatitis C con antivirales de acción directa, tales como, ribavirina. En dichos documentos se indica, mediante modelos de regresión logística, que marcadores tales como la tasa de filtración glomerular y la concentración de hemoglobina son adecuados para predecir el desarrollo de anemia. Así, el documento D01 considerado el antecedente tecnológico más próximo al objeto definido en dichas reivindicaciones divulga un estudio para la construcción de una fórmula capaz de predecir el desarrollo de anemia inducida por ribavirina cuando se utiliza ésta junto con interferón pegilado en tratamientos de hepatitis C (véase página 5880, columna derecha, primer párrafo; página 5881, columna derecha, tercer párrafo). El análisis de regresión logística múltiple identifica tres variables independientes que se encuentran significativamente asociadas con la disminución de hemoglobina. Estas variables son, entre otras, la hemoglobina basal y la tasa estimada de filtración glomerular (véase página 5883, columna izquierda; página 5885, columna izquierda).

La diferencia entre dicho documento y la presente solicitud de patente es que en esta última se reivindica el uso de los marcadores de tasa de filtración glomerular y concentración de hemoglobina para su aplicación en un modelo de regresión logística concreto de fórmula (I). Y en el documento D01 la fórmula de regresión logística utilizada es diferente a la reivindicada en la presente solicitud de patente. Por lo que no sería evidente para un experto en la materia emplear dichos marcadores en el modelo de regresión logística de fórmula (I) antes del tratamiento, ni en el modelo de regresión logística de fórmula (II) una vez iniciado el tratamiento.

Otros documentos que hacen referencia a métodos para predecir o pronosticar el riesgo que tiene un individuo para desarrollar anemia cuando se lleva a cabo un tratamiento de la hepatitis C con antivirales de acción directa, tales como ribavirina, son los documentos D02 y D03. El documento D02 se refiere a un estudio para poder predecir el desarrollo de anemia en tratamientos que emplean telaprevir en combinación con interferón pegilado y ribavirina. Se pone de manifiesto mediante análisis de regresión logística con multivariantes que indicadores posibles significativos para predecir el desarrollo de anemia severa son factores independientes, tales como, concentración de hemoglobina, tasa estimada de filtración glomerular e ITPA (Inosina trifosfatasa) (véase página 668; página 669, columna izquierda, segundo párrafo y página 671, columna izquierda, primer párrafo). Pero no se indica que se utilicen dichos marcadores para la fórmula (I) de regresión logística antes del tratamiento ni para la fórmula (II) de regresión logística una vez iniciado el tratamiento.

El documento D03 hace referencia a la búsqueda de estrategias para identificar pacientes con un alto riesgo a desarrollar anemia poco después del inicio de una terapia con telaprevir (TVR) más interferón pegilado (PegIFN) y ribavirina (RBV) (terapia triple) (véase página 1113, columna izquierda, segundo párrafo). Para ello se emplearon análisis de regresión logística múltiples (véase página 1113, columna derecha, tercer párrafo). Y se llegó a la conclusión de que factores tales

como el sexo, el índice de masa corporal BMI (body mass index), la edad, y el índice de hemoglobina eran factores determinantes para poder predecir la aparición de anemia tras el tratamiento con dicha terapia triple (véase página 1114). Tampoco se utilizan dichos marcadores para las fórmulas (I) y (II).

Por lo tanto, la reivindicación 1 parece ser nueva y cumplir el requisito de actividad inventiva.

Las reivindicaciones 2 a 13 dependen directa o indirectamente de la primera y han de interpretarse como añadidas a ésta, por lo que parecen tener también novedad y actividad inventiva.

Por consiguiente, las reivindicaciones 1 a 13 parecen cumplir los requisitos de novedad y de actividad inventiva según los artículos 6 y 8 de la LP.