

# 50 años de cribado neonatal: cómo afrontamos el futuro

Belén Pérez González  
[coordinadora]



| FUNDACIÓN  
RAMÓN ARECES





# **50 años de cribado neonatal: cómo afrontamos el futuro**



**Belén Pérez González**  
(Coordinadora)

## **50 años de cribado neonatal: cómo afrontamos el futuro**



Reservados todos los derechos.

Ni la totalidad ni parte de los libros pueden reproducirse o transmitirse por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética o cualquier almacenamiento de información y sistema de recuperación, sin permiso escrito de Editorial Centro de Estudios Ramón Areces, S.A.

El contenido expuesto en este libro es responsabilidad exclusiva de sus autores.

© EDITORIAL CENTRO DE ESTUDIOS RAMÓN ARECES, S.A.

Tomás Bretón, 21 – 28045 Madrid

Teléfono: 915 398 659

Fax: 914 681 952

Correo: [cerala@cerasa.es](mailto:cerala@cerasa.es)

Web: [www.cerala.es](http://www.cerala.es)

© FUNDACIÓN RAMÓN ARECES

Vitruvio, 5 – 28006 MADRID

[www.fundacionareces.es](http://www.fundacionareces.es)

Diseño de cubierta: KEN / [www.ken.es](http://www.ken.es)

ISBN-13: 978-84-9961-384-0

Depósito legal: M-4009-2021

Impreso por:

ANEBRI, S.A.

Antonio González Porras, 35-37  
28019 MADRID

Impreso en España / Printed in Spain

# ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| PRÓLOGO (Federico Mayor Zaragoza) .....   | 9  |
| 50 AÑOS DE DIAGNÓSTICO PRECOZ DE METABOLOPATÍAS EN ESPAÑA (Federico Mayor Zaragoza) .....   | 11 |
| LA FUNDACIÓN RAMÓN ARECES Y EL <i>TRIÁNGULO CRÍTICO</i> DEL RECIÉN NACIDO (José María Medina) .....                                     | 29 |
| MANEJO DE LOS PACIENTES ANTES Y DESPUÉS DEL CRIADO NEONATAL AMPLIADO (María Luz Couce).....   | 33 |
| Resumen .....   | 33 |
| Introducción.....   | 33 |
| Qué ha permitido el cribado neonatal ampliado en cuanto a las patologías a detectar .....   | 36 |
| Qué ha permitido de forma global el cribado neonatal ampliado.....  | 41 |
| Referencias.....  | 42 |
| CAMBIO DE PARADIGMA EN CRIBADO NEONATAL DE ENFERMEDADES METABÓLICAS HEREDITARIAS (Antonia Ribes) .....                                  | 45 |
| Resumen .....   | 45 |
| Cribado neonatal.....   | 46 |
| Inicio de los programas de cribado neonatal.....  | 47 |
| Cambio de paradigma en cribado neonatal .....   | 49 |
| Criterios de inclusión de las enfermedades en los programas de cribado neonatal. Situación actual.....                                  | 49 |
| Bases de la tecnología utilizada para la expansión de los programas de cribado neonatal: espectrometría de masas en tandem (MS/MS)..... | 51 |
| Herramientas post-analíticas en los programas de cribado neonatal ampliados.....  | 52 |

|   |           |
|---|-----------|
| Marcadores bioquímicos primarios .....  | 53        |
| Marcadores de segundo nivel .....   | 53        |
| Cribado metabólico de última generación: integración de las ómicas .  | 55        |
| Agradecimientos.....  | 57        |
| Referencias .....   | 57        |
| <b>EL VALOR DE LA GENÉTICA EN EL CRIBADO DE ENFERMEDADES METABÓLICAS HEREDITARIAS (Belén Pérez) .....</b>   | <b>61</b> |
| Resumen.....  | 61        |
| Introducción.....   | 62        |
| Pruebas de segundo nivel en cribado neonatal: el valor de los estudios genéticos.....   | 65        |
| Cribado genético de enfermedades metabólicas.....   | 68        |
| Referencias .....   | 72        |
| <b>MEDICINA GENÓMICA Y SALUD PÚBLICA EN EL RECIÉN NACIDO: AMPLIACIÓN DEL CRIBADO NEONATAL A OTRAS PATOLOGÍAS GENÉTICAS RARAS (Francesc Palau)....</b> | <b>77</b> |
| Resumen.....  | 77        |
| Introducción.....   | 78        |
| Medicina clínica: diagnóstico .....   | 79        |
| Medicina preventiva.....  | 81        |
| Predicción en Medicina y salud .....  | 83        |
| Medicina genómica del recién nacido: el cribado neonatal genético .....   | 84        |
| Referencias .....   | 88        |
| <b>EL CRIBADO GENÉTICO: ASPECTOS ÉTICOS (Carmen Ayuso)....</b>  | <b>91</b> |
| Resumen.....  | 91        |
| Introducción.....   | 92        |
| Características de los cribados en su enfoque ético .....   | 94        |
| Recomendaciones y conclusiones .....  | 99        |
| Referencias .....   | 100       |

## PRÓLOGO

Federico Mayor Zaragoza

Al término de la Jornada de “50 años de cribado neonatal en España, ¿cómo afrontamos el futuro?”, celebrada en la Fundación Ramón Areces el día 15 de enero de 2019, dije: ‘quiero en primer lugar recordar con profunda gratitud a todos los que han hecho posible –personas e instituciones– los logros ya alcanzados. Y reconocer, con confianza hacia el futuro, a quienes se disponen a ampliar el espectro y fiabilidad preventivos de enfermedades infrecuentes. En particular, al Dr. Lapunzina, en tanto que Director Científico del CIBERER.

Mi reconocimiento más sincero se extiende a quienes han intervenido en estas Jornadas, Asociaciones de Familiares de Pacientes incluidas. Les ruego que formen parte del Consejo Asesor, presidido por la Dra. Ugarte, que se constituirá con el fin de orientar, con el profundo conocimiento que tienen de este tema, las acciones que sean necesarias para la adecuada puesta en práctica del proyecto piloto, y aconsejar, cuando este lo requiera, al Director Científico del CIBERER.

A la Dra. Magdalena Ugarte quiero dedicar las últimas palabras de clausura, entregándole un escrito que termina así:

“Me complace mucho rendirle homenaje al tiempo que le ruego siga trabajando con el mismo entusiasmo que lo ha hecho hasta ahora. ‘El deber supremo es seguir’, escribió Pedro Salinas”.

Con las presentaciones a la Jornada se ha elaborado el presente libro. Es una publicación relevante porque, como en todo camino, es muy conveniente una pausa para proyectar y definir con acierto los rumbos futuros. A todos los autores, mi más sincero reconocimiento.



Madrid, 15 de enero de 2019

Profesora D<sup>a</sup> Magdalena Ugarte  
Directora del Centro de Detección de Enfermedades Moleculares (CEDEM)  
Universidad Autónoma de Madrid

Querida Maleni:

Hace 52 años decidí confiarle el gran Proyecto de Diagnóstico Precoz y Tratamiento de Metabolopatías Congénitas. Fue uno de los mayores aciertos de mi vida. Hoy en día, la prevención de alteraciones moleculares en recién nacidos se ha ampliado sustancialmente y pretendemos ahora extenderla al cribado genómico.

Más de 5,000 afectados viven en la actualidad normalmente. Cada uno de ellos constituye una inmensa compensación y estímulo.

Mé complace mucho rendirle homenaje al tiempo que le ruego siga trabajando con el mismo entusiasmo que lo ha hecho hasta ahora. "El deber supremo es seguir", escribió Pedro Salinas.

Con la mayor estima,

Federico Mayor Zaragoza

C/ Nicolás Cabral, 1  
CANTOBLANCO, UAM  
28045 MADRID  
Tel: 91 196 44 01  
Fax: 91 196 44 26

# 50 AÑOS DE DIAGNÓSTICO PRECOZ DE METABOLOPATÍAS EN ESPAÑA

Federico Mayor Zaragoza

Doctor en Farmacia. Catedrático de Bioquímica de la Universidad de Granada (1963-1972) y de la Universidad Autónoma de Madrid (1973-2004). Rector de la Universidad de Granada (1968-1972). Cofundador y Director del Centro de Biología Molecular del CSIC y de la UAM. Subsecretario de Educación y Ciencia (1974-1975). Consejero del Presidente del Gobierno (1977-1981). Ministro de Educación y Ciencia (1981-1982). Director General de la Unesco (1987-1999) Académico de las Reales Academias Nacionales de Farmacia y Medicina. Presidente de la Fundación Cultura de Paz y del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces

El Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces, según consta en el acta de la reunión celebrada el 8 de octubre de 2018, propuso la celebración de una Jornada de Conmemoración de los 50 años de Cribado de Metabolo-patías en España en la que se proponía la intervención del Director del CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), Dr. Pablo Lapunzina, del especialista en cribado genómico y representante adjunto de España en el Committee for Rare Disease de las Naciones Unidas, Dr. Francesc Palau y, muy en particular, de la Directora del Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares (CED-DEM), Dra. Magdalena Ugarte.

El Plan Nacional de Detección en el neonato de alteraciones moleculares que, si no se tratan adecuadamente de inmediato, cursan con gravísimas discapacidades intelectuales y funcionales, fue establecido en 1968 en la Universidad de Granada, cuando se aprobó el proyecto que había presentado a la Dirección General de Sanidad (figuras 1 y 2). Confié la dirección del Centro que se creó con este motivo (CIAMYC, Centro de Investigación de Alteraciones Moleculares y Cromosómicas) a la Dra. Magdalena Ugarte que, desde aquel momento, ha sido la piedra angular de todas las etapas que han conducido al notable incremento de las enfermedades metabólicas detectadas precozmente en los niños recién nacidos. Gracias a estas actividades, muchos niños españoles han podido crecer con total normalidad a pesar de poseer un defecto genético

Figura 1



Secretaría  
Sección

8 de junio de 1968  
Fecha: \_\_\_\_\_  
Neg.: \_\_\_\_\_  
Nºm.: 5113  
N/Ref.: \_\_\_\_\_  
S/Ref.: \_\_\_\_\_  
Asunto: Comunicando aprobación Pla-  
para investigación alteraciones  
congénitas metabólicas y cromosom-  
C:

El Exmo. Sr. Director General de Sanidad  
por oficio nº 257 de 7 del corriente, me dice lo que sigue:

"Tengo el honor de comunicar a V.I. que estudiado por este Cen-  
tro Directivo el "PLAN PARA LA INVESTIGACION Y CONTROL DE LAS AL-  
TERACIONES CONGENITAS METABOLICAS Y CHROMOSOMICAS" presenta por el  
Profesor F. Mayor; esta Dirección ha resuelto aprobar en principio  
el mismo y que se proceda a su ejecución inmediata en la pro-  
vincia de Granada como experiencia en la que se perfeccionará  
la organización y método para en su caso extender su acción pro-  
gresivamente al resto del país.

Deberá comunicar esta resolución a las personas interesa-  
das en el mismo y prestar la colaboración precisa."

Lo que traslado a Vd. para su conocimiento y efectos  
oportunos.

Dios guarde a Vd. muchos años.  
EL JEFE PROVINCIAL DE SANIDAD


Prof.Dr. Don Federico Mayor.- Catedrático de Bioquímica de la Facultad  
de Farmacia.-GRANADA

Figura 2

Granada, 16 de Junio de 1.968

Hijo Sr. D.  
Jesús García Orcoyen  
Director General de Sanidad  
Plaza de España  
MADRID

R12

MI distinguido amigo:

La Jefatura Provincial de Sanidad de Granada me ha comunicado la aprobación por ésta Dirección General de la puesta en marcha de los Servicios de análisis moleculares y citogenéticos, de acuerdo con el "Plan" que propuse y se elevó a su consideración.

Convencido de la gran importancia -actual y, especialmente, potencial- de este nuevo tipo de medicina preventiva, basado en la detección de alteraciones moleculares gracias a una metodología de gran especificidad, quiero hacerle patente mi satisfacción por la favorable acogida recibida, junto con los mejores augurios para el futuro de este Servicio, a cuyo encauzamiento prestaré mi más entusiasta colaboración.

Esperando tener la ocasión de saludarle personalmente en un próximo futuro, le saluda atentamente,

Fdo: F. Mayor.

que de no haber sido detectado a tiempo hubiera supuesto un deterioro neurológico irreversible.

La puesta en marcha del Centro en Granada representaba la primera etapa de las previstas al regreso de mi visita al profesor C.T. Woolf, auténtico pionero en la materia, quien en su escrito del 10 de enero de 1968 (figura 3) ya advertía que “el diagnóstico no debe limitarse a la *fenilcetonuria* sino que debe ampliarse a otros errores congénitos del metabolismo que puedan tratarse”.

Rápidamente se iniciaron los pasos (figura 4) que condujeron a la instalación en la Delegación en Granada de la Dirección General de Sanidad de unos laboratorios adecuadamente dotados. En enero de 1969 se recibió la visita en el Centro de Investigaciones de Granada del Director General de Sanidad (figuras 5, 6 y 7).

Las enfermedades metabólicas hereditarias, paradigma de enfermedades infrecuentes, aparecen por primera vez en la literatura médica en 1902, cuando el Dr. Archibald Garrod –médico bioquímico del Hospital Sr. Bartholomew de Londres– describe la *alcaptonuria*, la más “aparente” enfermedad rara, ya que la orina se ennegrece inmediatamente después de su emisión debido a la oxidación del ácido homogentísico que se elimina, fruto del metabolismo de la tirosina. Seis años más tarde presentó al Real Colegio de Médicos de Londres cuatro “errores congénitos del metabolismo”: el albinismo, la alcaptonuria, la cistinuria y la pentosuria.

En 1934, el bioquímico y médico noruego A. Fölling descubrió la fenilcetonuria, al detectar ácido fenilpirúvico en la orina de pacientes con retraso mental. Fue el microbiólogo norteamericano Guehrie quien en los años 60 desarrolló un ensayo cromatográfico que ponía de relieve la presencia de fenilalanina en la sangre del recién nacido.

En España, se inició la cromatografía de aminoácidos por la Dra. Ugarte en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Granada (CIAMYC) en 1967, generalizándose a continuación en Barcelona (Dr. Juan Sabater), Murcia (Dr. Lozano Teruel),... conduciendo a la aprobación de un Plan Nacional de Prevención de la Subnormalidad y la constitución del Real Patronato al final de los años 70. La investigación relativa a estas alteraciones infrecuentes se incorporó desde el primer momento a los concursos científicos de la Fundación Ramón Areces, junto a los cursos sobre “bioquímica perinatal” que impartía el profesor Emilio Herrera.

Figura 3

MRC

Medical Research Council  
External Staff

reference LIW/ js

Department of the Regius  
Professor of Medicine  
The Radcliffe Infirmary, Oxford  
telephone Oxford 49891 ext 225

January 10th, 1968

TP

Professor F. Mayor,  
Universidad de Granada,  
Facultad de Farmacia,  
Catedra de Bioquimica,  
GRANADA, Spain.

Dear Professor Mayor,

Many thanks for your letter of January 2nd, I agree with you that it would be well worth-while to set up a screening service for the newborn in Spain, particularly if this screen were not confined to phenylketonuria but also covered other treatable inborn errors of metabolism. I think it is an excellent plan that you, with the Heads of the Analytical Centre and Preventive Medicine visit me in Oxford to study the actual working of the scheme. I plan to stop laboratory work here on March 1st; I hope, therefore, it will be possible for the three of you to visit Oxford either this month or next month. If it is to be February, it is preferable early in February. I would welcome the chance of taking part in the course of formation of the Centre in Madrid and of giving the opening lecture. Will it, however, be possible to organize this in the time left before I go to Vancouver?

With best wishes and the hope of a fruitful outcome.

Yours sincerely,

L. I. Woolf

Figura 4

Asistentes:

M. Ugarte,  
D. Sanchez Mariscal  
F. Sanchez Medina  
F. Mayor.

Intervenciones de  
firma  
del 27/8

- Viernes dia 23-8: Reunión con Don Rafael Ibáñez, con el fin de lograr su autorización para la inmediata puesta en marcha de las obras de adecuación en la Jefatura Provincial de Sanidad.
- Dia 25-8: Envío de los presupuestos restantes a la Dirección General de Sanidad.
- Mediados de Septiembre: Rueda de prensa y T.V.E. *en Granada*.
- Nombramiento de asesores honorarios: Dres. Miguel Guiarao, Galdó y Salvatierra. *Ogma*.
- Suministros inmediatos (M. Ugarte): Adiestramiento en el empleo del MITACHI; papel de filtro para análisis y recogida de muestras; dietas para tratamientos.

Figura 5

A B C. LUNES 27 DE ENERO DE 1969.

## EL DIRECTOR GENERAL DE SANIDAD INAUGURA EN GRANADA UN CENTRO DE INVESTIGACIONES MOLECULARES

Con la construcción de la autopista Sevilla-Cádiz, la primera de estas capitales quedará a una hora de distancia del mar

Granada 26. Un centro de investigaciones moleculares y cromosómicas ha sido inaugurado en la tarde de hoy por el director general de Sanidad, doctor don Jesús García Orcoyen.

El director general fue recibido en la Jefatura Provincial de Sanidad por el jefe provincial de la misma, doctor Ibáñez González y alto personal del centro.

El doctor Ibáñez González hizo constar que la labor que se espera desarrollen los distintos centros sanitarios de Granada no se podrá llevar a buen término si no se tiene la entusiasta colaboración de los sectores sanitarios de la provincia y especialmente de los médicos titulares.

El centro citado funcionará como centro piloto para Andalucía Oriental y las experiencias que se adquieran servirán para la creación de más centros de este tipo y para perfeccionamiento del personal. El doctor García Orcoyen hizo votos por el éxito de las instalaciones inauguradas.— Cifra.

Figura 6

## Un centro de investigación para prevenir la subnormalidad infantil

- ◆ MEDIANTE SIMPLES ANALISIS DE ORINA A RECIEN NACIDOS
- ◆ UN DIAGNOSTICO PRECOZ Y UN TRATAMIENTO DIETETICO QUE PUEDEN EVITAR MUCHAS ENFERMEDADES

La subnormalidad, un terreno en el que el hombre avanza continuamente. Hoy se sabe que son muchas las enfermedades que conducen a ella, y se sabe que un diagnóstico precoz en recién nacidos, mediante un sencillo aparato pueden combatirlas eficazmente. En Granada, concretamente, en un ala del edificio de la Jefatura provincial de Sanidad, tenemos todo un Centro de Investigación, primero en España, que con carácter piloto lleva funcionando varios meses.

El eje de ese Instituto es Centro de Investigación en Alteraciones Moleculares. Lo constituye un aparato, un autoanalizador de aminoácidos, de fabricación japonesa, y patente norteamericana, cuya adquisición ha supuesto las 600.000 pesetas. Todos los niños nacidos en Granada y provincia son examinados, mediante muestras de su orina, en papel filtro, a los 15 días de su nacimiento. Actualmente, el aparato actúa sobre siete enfermedades, consideradas como las más frecuentes vías a la subnormalidad (y todo es relativo, pues se trata de enfermedades que se dan

junto a la provincia de Córdoba. Mercado a un tratamiento dietético, medianos alimentos especiales, que han sido precisamente traer de Gran Bretaña, y de cuyo precio astronómico se da por supuesto que no es económico. Los resultados, sin embargo, son muy prometedores, han doblado. Pero son niños de varios años; en ellos, la lucha es lenta y de horizontes limitados.

Todo es fácil. Se envía a los padres con hijos recién nacidos, un papel filtro, con un diámetro de largo más o menos; solo tienen que empaquetarlo en cinta de celofán y enviarlo al Centro. Sin embargo, todavía son muchos los padres escépticos que no envían la muestra. Si en Granada «cumplen» un 60 por ciento, en la provincia, el porcentaje es mucho menor. La muestra tiene que ser alrededor del día 15 en la vida del niño, época óptima para detectar ya la enfermedad, en que todavía no aparecen los síntomas.

En el autoanalizador se introducen los síntomas. Y si denota anormalidad se solicita orina líquida o sangre. Antes de dos meses comenzará el régimen alimenticio especial. La alimentación es, efectivamente, otro dato clave. Dado que son

bás que luchar años después en más difíciles condiciones. Pero muchos otros se han eficazmente combatido.

Y hay mucho más. La experiencia costarricense (cada tres horas, el aparato efectúa un análisis completo) permitirá ampliar muchos conocimientos sobre la subnormalidad, y aplicarlos —como en el caso de Trujillo, antes citado—, tras su diagnóstico más exacto con los mayores. El costo por análisis es de unas quince pesetas; a ellas habrá que añadir los gastos de personal, correo, etc. Cada caso de detección saldrá, pues, muy caro. Pero vale la pena.

Estas enfermedades son todas hereditarias. Conviene señalarlo porque es muy frecuente el caso del padre normalmente sano que cree inútil el análisis de su hijo. Pero ocurre que él es un portador en el que las enfermedades no se manifiestan, y separado de su progenitor, un ejemplo más de que muchas enfermedades pueden ser vencidas mediante descubrimientos de alteraciones metabólicas y cromosómicas. Las alteraciones moleculares son otro camino para la Medicina, en el que se está avanzando. En Es-



El autoanalizador. Todo un complejo y minucioso aparato para detectar esas enfermedades extrañas e infrecuentes que pueden conducir a la subnormalidad. A la derecha, la mano con los resultados del análisis. (Foto de nuestro redactor gráfico Torre Molina.)

en una proporción del 1/5.000 o, incluso, del 1/10.000). Entre ellas, se encuentran la oligofrenia, la galactosemia, la diabetes, la cistina, la histidinemia...

### ANALISIS

Una subnormalidad, a los seis meses, ya es muy difícil de vencer, pero si a los 15 días se detectan síntomas, se está a tiempo. El Centro vive hoy volcado hacia la investigación y tratamiento de la subnormalidad. Un caso que preocupa es el de dos niñas de la aldea de Trujillo,

enfermedades por alteraciones moleculares, por actuación de sustancias anómalas, un tratamiento dietético estudiado, corrige las insuficiencias o elimina los excesos. Todo puede solucionarse con esas premisas: diagnóstico al poco de nacer el niño y dieta rápida.

Organización  
Mediante el Registro Civil, y gracias a un grupo de asistentes sociales, 16.000 niños, cifra redonda de nacimientos en Granada y provincia este año, recibirán su carta y su papel filtro. Los médicos de los pueblos, los jefes locales de Sanit-

apla, donde no se producen aún alimentos tratados convenientemente para estos fines (recientemente en Barcelona, pero muy caros), el centro de Granada, que pronto elaborará estas primeras experiencias en un ámbito regional, es excepcional ejemplo.

Promotor técnico de este Centro ha sido don Federico Mayor Zaragoza. Granada es el prólogo de una futura gran campaña nacional. La lucha contra este grupo de enfermedades de curso rápido, que conducen al retraso mental, crece. Si en Norteamérica y en otros países

Figura 7

122 Retroceso en el tiempo: la investigación biomédica en España



Fig. 14. Inauguración del CYAMIC (Centro de detección neonatal de enfermedades metabólicas congénitas), Granada, 1968. A la izquierda, la Dra. Magdalena Ugarte.

Mientras estaba en Oxford, en el mes de marzo del año 1967, se celebró en Granada la séptima reunión de la Sociedad Española de Bioquímica. Fueron días de gran densidad en muchos aspectos y de creación de nuevos núcleos de investigación científica biomédica. Don Severo Ochoa, Carl Cori, Luis F. Leloir, Don Carlos Jiménez Díaz,... estuvieron en Granada, (Figs. 15 y 16) después de haber asistido, en Madrid, a una muy importante reunión sobre proteinogénesis



Fig. 15. DHC Universidad de Granada: 1<sup>a</sup> fila empezando por la izquierda, Profesores C. Osorio, C. Cori, Severo Ochoa, Federico Mayor y L.F. Leloir (1967).

Figura 8

## CONCLUYO LA CONFERENCIA DE ENFERMEDADES METABOLICAS



*En la Escuela de Estudios Árabes concluyeron ayer las sesiones de trabajo de la Conferencia sobre detección y tratamiento de enfermedades metabólicas hereditarias, a la que han asistido más veinte de los más importantes científicos de esta especialidad en todo el mundo. Era la primera vez que todos han coincidido en unas jornadas de estudio y discusión, promovidas por la Universidad, el Consejo de Investigaciones Científicas y la Dirección general de Sanidad. El profesor Mayor Zaragoza coordinó el desarrollo de las sesiones. Los científicos quisieron llevarse este testimonio irrepetible de todos ellos ante el fondo de la Alhambra y la Sierra. (Información, en página última). — (Foto FERRER)*

En el mes de junio de 1973, patrocinado conjuntamente con la Dirección General de Sanidad, la Universidad de Granada y el CSIC, tuvo lugar un importante “Simposio sobre detección y tratamiento de enfermedades metabólicas hereditarias” (figuras 8 y 9), que reunió a relevantes especialistas de todo el mundo.

Antes de trasladar el Centro de la Universidad de Granada a la Autónoma de Madrid, en 1973, cuando se habían realizado análisis en más de 15.000 neonatos, se presentó el informe correspondiente con los resultados obtenidos (figura 10).

La capacidad diagnóstica inicial se amplió posteriormente a más de 30 errores metabólicos gracias a la espectrometría de masas. Desde hace varios años a todos los recién nacidos se les practica la “prueba del talón”.

En marzo de 1973 se constituyó, con los doctores Ignacio Villa Elizaga, Joan Sabater Tobella y Alberto Sols, el Instituto Nacional de Bioquímica Perinatal.

Figura 9

DEL 25 AL 28, EN GRANADA

# universidad CIENCIA \*

FINALIZO EL SIMPOSIO

## Socialmente rentable el estudio de las enfermedades metabólicas

UN IMPERATIVO: EXTENDER A LOS PAISES SUBDESARROLLADOS LOS AVANCES DE LOS DESARROLLADOS

En la Escuela de Estudios Árabes que, por cierto, está en proceso de establecimiento, se ha organizado, para inaugurarla, el Simposio Internacional sobre control de enfermedades metabólicas hereditarias, primero que se celebra en España, y reunión científica que ha congregado en Granada a los más destacados especialistas mundiales en esta rama de la Bioquímica.

En la sesión de ayer mañana se abordó el tema de las consecuencias a largo plazo de la labor de trazamiento y detección de estas enfermedades y se procedió a una recapitulación general del Simposio. El profesor C. E. Dent, inglés, a quien cabe la iniciativa de celebrar esta reunión científica en Granada, dio el laúd. Al profesor don Federico Mayer Zaragoza, presidente del Simposio devolvieron el balance de las sesiones que ofrecemos a continuación:

Al modo de celebración de esta reunión en Granada se justifica por la existencia en Granada del C. I. A. M. I. C., centro piloto en la detección y diagnóstico precoz de estas enfermedades, por las actividades medicinales y criminológicas que allí se realizan y para el paso de completar sus actividades con la investigación, y para el que la celebración del Simposio ha sido una importante ocasión de intercambio entre científicos de Europa, de América y Asia, y de países de África, de Oriente y del mundo. Llegar, Valdivieso y Matías, cabe en gran medida el éxito de organización de la reunión.

El hecho de que la asistencia haya sido mayor que la esperada, y la facultad la situación era incomprensible, los temas abordados. Y a lo largo de las sesiones una interrogante ha estado siempre presente: ¿Cuál es el punto de partida desde un punto de vista científico y social el estudio de estas enfermedades, de pequeña incidencia, o sería mejor dedicar esos esfuerzos a estudio y prevención de otras enfermedades más graves?

A este respecto, las conclusiones son claras: se está muy al principio del camino, el número de enfermedades por alteraciones en el metabolismo es muy alto, continuamente se están descubriendo nuevas alteraciones, otras nuevas alteraciones, y todavía es, en conjunto, muy poco lo que se conoce. Pero es una necesidad de justicia y una ventaja social incontestable la detección de las mismas, se necesita para ello planteamiento claramente los objetivos y perfeccionar la metodología, aparte de centrarse en las zonas o grupos humanos con más alto riesgo de incidencia de estas enfermedades, muchas de las cuales, como es sabido, implican factores genéticos.

Es pues, socialmente rentable el estudio de estas enfermedades (científicamente, es indiscutible esa rentabilidad). Pero hay que coordinar esfuerzos, y establecer una mayor colaboración entre analistas, médicos y

centros hospitalarios, sobre todo, aquellos centros hospitalarios más vinculados al nacimiento y al retraso mental.

Otro tema planteado es el del diagnóstico pre-natal, tema arduo pues se sostiene las implicaciones filosóficas y éticas de este tipo de técnica. Se impone para avanzar en este terreno un mejor conocimiento de la bioquímica perinatal.

También se trató el tema de los transportadores, es decir, de esas personas que no suelen tener malas condiciones que las transmiten. Se evidencia aquí la necesidad de un tratamiento y también de un "consenso genético" de estas personas, de forma que conocan con exactitud la posibilidad de que transmisoras de enfermedades metabólicas a sus descendientes.

Problema especial es el de las comunidades. Se está evidenciando que ciertas comunidades son más propensas a este tipo de enfermedades. Los esquemas por los cuales Tanto en África como en el resto del mundo se confirman la diferencia según razas: Los negros son más propensos que los blancos. Todos estos problemas han de ser tenidos muy en cuenta en la hora de organizar la detección. Por otra parte, es probable que honestamente preocupe: el imperativo de extender a los países poco desarrollados los conocimientos y avances que se están produciendo en los estados más adelantados en este campo de las enfermedades metabólicas hereditarias. Es de justicia que los avances en el terreno de la bioquímica se extiendan a todos los países.

Con visión de futuro, se estudió también el tema de la suposición de las carencias que ciertas enfermedades suponen. El remplazo de las deficiencias que se producen en la "ingesta bioquímica" pero que ya empieza a ser abortado. Queda, determinar el "reemplazo" para realizar el remplazo.

Finalmente, y esto afecta mucho a todos los países, se ha reafirmado la necesidad de estos países, y ha evidenciado el modesto nivel comparativo de España en este campo y la alta competencia internacional. Pero también se ha mostrado el avance español, con numerosos investigadores y la necesidad de coordinar a esos grupos (Granada, Barcelona, Salamanca,...) que por primera vez se reúnen.

En el internacional se ha confirmado al alto nivel de U. S. A. y Canadá, precisamente por el gran trabajo de prospección desarrollado en esos países, y también la posición destacada de Gran Bretaña. Contactos se han establecido con Francia, aunque sin una sistematización, se proyectan celebrar periódicamente en cada vez que nuevos avances lo hagan necesarios.

CHECA

### Figura 10

## RESULTADOS DE LA DETECCION MASIVA DE ENFERMEDADES MOLECULARES CONGENITAS EN LOS RECIEN NACIDOS DE LA PROVINCIA DE GRANADA.

M. Ugarle, M. Maties, F. Valdivieso y F. Mayor

Centro de Investigación de Alteraciones Moleculares

Jefatura Provincial de Sanidad - GRANADA.

### INTRODUCCION

En enero de 1. 969, se comenzó a desarrollar en Granada un programa de detección masiva entre los recién nacidos en la provincia con el fin de detectar ciertas enzimopatías - congénitas susceptibles de tratamiento. La mayoría de los autores coinciden en que mediante un tratamiento dietético adecuado, iniciado precozmente, se pueden prevenir las alteraciones neurológicas -más o menos graves- que inexorablemente en su ausencia se producirían, como consecuencia del error - genético.

Simultáneamente a esta labor de rutina se ha realizado el estudio detallado de parte de la población subnormal con fines diagnósticos y de localización de grupos de "alto riesgo". La incidencia hallada y la descripción de los casos fue comunicado en el II Congreso Internacional para el estudio científico de Retraso Mental, celebrado el pasado año en Varsovia.

Años más tarde, es la “Asociación Española para el Estudio de las Metabolopatías Congénitas”, relacionados con el CEDEM (UAM), la que firma un acuerdo de colaboración con la Consejería de Salud y Bienestar Social de la Comunidad Autónoma de Madrid (figura 11).

El Plan Nacional de Prevención de Minusvalías se había consolidado: en 1975 incluyó la detección de hipotiroidismo congénito (Dra. Gabriela Morreal) y en 1985 se llevaron a cabo las transferencias de determinación a las Comunidades Autónomas.

Este proceso ha constituido en su conjunto un gran éxito preventivo, que ha contado con el apoyo prioritario de la Fundación Ramón Areces, de la excelente iniciativa que representó el CIBERER y, muy en particular, de las múltiples asociaciones de familiares de pacientes de enfermedades raras, que representan hoy en día una gran esperanza en el horizonte médico asistencial de una patología que solo es “rara” en quienes no la sufren, ya que es evidente que los porcentajes no tienen en medicina más que un valor estrictamente epidemiológico.

En Europa –como indica el Dr. Manuel Palacín en su contribución a la revista de la SEBBM de enero-junio 2018– se consideran “raras” las enfermedades que afectan a no más de uno por cada dos mil nacimientos, lo que supone 260 mil pacientes en la Unión Europea (508 millones de habitantes). En la base de datos “Online Mendelian Inheritance in Man” (OMIM) se describen las características genotípicas de unos 10 mil trastornos monogénicos. Los genes responsables se han identificado en aproximadamente la mitad de los casos. El objetivo del International Rare Diseases Research Consortium (IRDRC) es desarrollar para el año 2027 al menos mil nuevas terapias de enfermedades infrecuentes. El grupo de Palacín –ver la excelente descripción que hace de las bases moleculares de la reabsorción renal de aminoácidos– contribuirá sin duda a hacer posible tan relevante meta biomédica.

La progresiva personalización de la medicina, el descubrimiento de la singularidad en cada momento de la existencia humana, pone de relieve la importancia de poder destinar progresivamente unos fondos mayores a la investigación biomédica, que demuestra que, en términos científicos, lo imposible no existe. Lo que no puede ser es que actualmente se destinen más de 4.000 millones de dólares al día a armas y gastos militares cuando miles de personas mueren de hambre y de extrema pobreza. Es necesario un nuevo concepto de seguridad que no solo se ocupe de las fronteras y territorios sino de los habitantes de dichos

Figura 11



En Madrid, a dieciséis de julio de mil novecientos ochenta y cinco,

REUNIDOS

De una parte, el Excmo. Sr. don Federico Mayor Zaragoza, Presidente de la Asociación Española para el Estudio de Metabolopatías Congénitas de Madrid, y de otra, la Excm. Sra. doña María Gómez Mendoza, Consejera de Salud y Bienestar Social de la Comunidad Autónoma de Madrid.

Intervienen en función de sus respectivos cargos y en el ejercicio de las facultades que, para convenir en nombre de las Entidades que representan, tienen conferidas y,

EXPONEN

I. Que con fecha 25 de octubre de 1983, se suscribió un Convenio entre la Dirección General de Salud Pública del Ministerio de Sanidad y Consumo (órgano gestor del Plan Nacional de Prevención de la Subnormalidad, en virtud del Real Decreto 2176/78 de 25 de agosto) y la Asociación Española para el Estudio de Metabolopatías Congénitas de Madrid, con objeto de realizar un programa de detección precoz de metabolopatías, dentro del Plan Nacional de Prevención de la Subnormalidad, terminando su vigencia el 31 de diciembre de 1983.

II. Que como en los Presupuestos Generales del Estado para 1.984 se recogía un capítulo de Subvención a la Comunidad Autónoma de Madrid para programas de Diagnóstico Neonatal Precoz, se suscribió un nuevo convenio entre la Consejería de Salud y Bienestar Social y la Asociación Española para el Estudio de Metabolopatías Congénitas de Madrid, cuya vigencia fué del 1 de enero al 31 de diciembre de 1984.

III. Que las actividades desarrolladas en los Convenios anteriormente mencionados fueron un programa de detección precoz de aminoacidopatías y un programa de detección precoz de hipotiroidismo congénito.

territorios: una vida digna que, según las Naciones Unidas, representa acceso a los alimentos, al agua potable, a servicios de salud y educación de calidad, desde la primera infancia.

Los equipos de investigadores coordinados en el CIBERER, alentados por las asociaciones de enfermos y de familiares, llevarán a cabo sin duda la “hoja de ruta” adecuada para la prevención de alteraciones irreversibles.

La importancia que la Fundación Ramón Areces viene concediendo a las enfermedades raras (figura 12) se demuestra, una vez más, en las importantes cantidades que se dedican a dicha prevención en el XIX Concurso Científico (de 2.582.454 euros destinados a investigación científica, 1.184.000 euros se destinan a enfermedades infrecuentes, además de los 600.000 euros destinados específicamente al cribado genético).

El Plan de Cribado Genético tiene como misión llevar a cabo la caracterización precisa del defecto molecular a través de la determinación de la mutación genética causante de la enfermedad. Este proceso solo puede llevarse a efecto con la secuenciación del gen o genes mutados, un proceso que no ha sido posible hasta el desarrollo de la denominada “secuenciación masiva”. En efecto, mediante esta técnica se lleva a cabo la lectura completa del genoma, lo que permite localizar el gen mutado y, aún más importante, las características específicas de la mutación. El conocimiento de estos detalles es clave para el diseño del tratamiento, dado que permitirá la elección del factor o cofactores, cambios en la dieta o, incluso, en su caso, los fármacos adecuados. En enero del año 2015, la Dra. H.C. Hooward, de la Universidad de Uppsala, publicó en *Science* (figura 13) la importancia que podría tener la investigación genómica en la prevención de las enfermedades moleculares.

Se propone llevar a cabo un plan piloto conjunto del CEDEM con el CIBERER y el Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras del Hospital San Juan de Dios de Barcelona, para determinar si la “prueba del talón” –que actualmente diagnostica una treintena de alteraciones metabólicas– podría incluir la detección genómica, ampliándose de este modo la capacidad preventiva de otras alteraciones patológicas infrecuentes.

El proyecto piloto incluirá múltiples aspectos, desde los técnicos de secuenciación NGS y análisis bioinformático, a los relativos al asesoramiento genético, pasando por los aspectos del análisis de secuencia y emisión de informes de

Figura 12

INVESTIGACIÓN LA FUNDACIÓN DESTINA MÁS DE CUATRO MILLONES DE EUROS A DISTINTAS ÁREAS INVESTIGADORAS

## Las enfermedades raras y emergentes acaparan las ayudas de la Areces

-3

### Redacción

La Fundación Ramón Areces entregó ayer las Ayudas a la Investigación en Ciencias de la Vida y de la Maternidad correspondientes a la XV Convocatoria del Concurso Nacional. El acto estuvo presidido por Isidoro Álvarez, Patrono Presidente de la Fundación Ramón Areces, y clausurado por Cristina Garmendia, ministra de Ciencia e Innovación.

La institución ha adjudicado ayudas a 41 proyectos que investigarán sobre enfermedades raras y emergentes, epigenética, nuevos materiales biocompatibles, biotecnología de la alimentación funcional, acuicultura y producción de hidrógeno por procedimientos biológicos, que se realizarán en centros y universidades de Andalucía, Aragón, Castilla y León, Cataluña, Galicia, Madrid, Navarra, País Vasco y Comunidad Valenciana. La Fundación Ramón Areces ha destinado a estos proyectos 4.344.451 euros, un 28 por ciento más que en la edición anterior.

Más de la mitad de las ayudas, 2.212.906 de euros, se destinan a investigar las bases moleculares, tratamientos, trastornos hemáticos, parasitología y microbiología de 21 enfermedades raras y emergentes.

La citada entidad ha considerado necesario asignar recursos para la investigación de este tipo de enfermedades, es decir, aquellas que, implicando peligro de muerte, invalidez o minusvalía, se dan con una prevalencia baja, menor de 5 casos/10.000 habitantes, de las que frecuentemente se



Raimundo Pérez Hernández, director; Florencio Lasaga, patrono; Isidoro Alvarez, patrono presidente; Luis Ángel Rojo, presidente del Consejo de Ciencias Sociales de la Fundación Ramón Areces; Cristina Garmendia, ministra de Ciencia e Innovación, y Federico Mayor, presidente del Consejo Científico de la fundación, junto con los investigadores que han recibido las ayudas.

### Ayudas adjudicadas XV concurso

#### Áreas de investigación

|   | Nº de proyectos | Euros            |
|---|-----------------|------------------|
| - Enfermedades raras y emergentes                       | 21              | 2.212.906        |
| - Biología Molecular de la Epigenética                  | 8               | 861.692          |
| - Nuevos materiales Biocompatibles                      | 4               | 387.635          |
| - Producción de Hidrógeno por procedimientos biológicos | 3               | 310.464          |
| - Acuicultura   | 3               | 326.582          |
| - Biotecnología de la Alimentación Funcional            | 2               | 245.172          |
| <b>TOTAL</b>  | <b>41</b>       | <b>4.344.451</b> |

Fuente: Fundación Ramón Areces

desconoce su etiología, epidemiología, métodos de diagnóstico o terapéutica.

Uno de los objetivos de estas ayudas es prestar apoyo a los jóvenes investigadores. La mayoría de los trabajos adjudicatarios tienen al frente como investigador principal a científicos que apenas

superan y muchas veces no llegan a los 40 años de edad. Asimismo, la Fundación Ramón Areces cede a los autores los derechos de propiedad intelectual o industrial que puedan derivarse de la ejecución de cada proyecto.

Un total de 431 proyectos procedentes de toda España

se han presentado a esta convocatoria de ayudas, cuyo objetivo es contribuir a consolidar una sólida estructura científica y tecnológica en nuestro país.

Las investigaciones financiadas en la anterior edición han generado en sólo dos años 124 artículos científicos.

cos en AIDS Research and Human Retrovirus, American Journal of Cardiology, Circulation, Human Molecular Genetics o Molecular Endocrinology y 126 comunicaciones a congresos nacionales y 171 a internacionales.

Y un trabajo de investigación adjudicatario en la última edición de las ayudas sobre el síndrome de Rendu-Osler-Weber, una enfermedad rara que se caracteriza por una profusión de hemorragias nasales que aumenta con la edad, acaba de obtener la designación del raloxifeno como medicamento buérfano. La investigación ha sido dirigida por la Luisa María Botella Cubells, del Centro de Investigaciones Biológicas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

## Figura 13



# Whole-genome sequencing in newborn screening? A statement on the continued importance of targeted approaches in newborn screening programmes

Heidi Carmen Howard<sup>1,2</sup>, Bartha Maria Knoppers<sup>3</sup>, Martina C Cornel<sup>3</sup>, Ellen Wright Clayton<sup>4</sup>, Karine Séenay<sup>2</sup> and Pascal Borry<sup>5</sup> endorsed by the European Society of Human Genetics; the P3G International Paediatric Platform; the Human Genome Organisation; and the PHG Foundation

The advent and refinement of sequencing technologies has resulted in a decrease in both the cost and time needed to generate data on the entire sequence of the human genome. This has increased the accessibility of using whole-genome sequencing and whole-exome sequencing approaches for analysis in both the research and clinical contexts. The expectation is that more services based on these and other high-throughput technologies will become available to patients and the wider population. Some authors predict that sequencing will be performed once in a lifetime, namely, shortly after birth. The Public and Professional Policy Committee of the European Society of Human Genetics, the Human Genome Organisation Committee on Ethics, Law and Society, the PHG Foundation and the P3G International Paediatric Platform address herein the important issues and challenges surrounding the potential use of sequencing technologies in publicly funded newborn screening (NBS) programmes. This statement presents the relevant issues and culminates in a set of recommendations to help inform and guide scientists and clinicians, as well as policy-makers regarding the necessary considerations for the use of genome sequencing technologies and approaches in NBS programmes. The primary objective of NBS should be the targeted analysis and identification of gene variants conferring a high risk of preventable or treatable conditions, for which treatment has to start in the newborn period or in early childhood.

*European Journal of Human Genetics* (2015) 23, 1593–1600; doi:10.1038/ejhg.2014.289; published online 28 January 2015

### BACKGROUND

Next-generation sequencing technologies and genome sequencing approaches: the reality and the potential. The development of next-generation sequencing (NGS) technologies (ie, new high-throughput and massively parallel DNA sequencing technologies) has substantially reduced both the cost and the time required to sequence an entire human genome. The prospects of the availability of NGS technologies and consequently the greater facility to conduct whole-genome sequencing (WGS) have led some to predict that the use of this technology will change the current practice of medicine and public health by enabling more accurate, sophisticated and cost-effective genetic testing.<sup>1</sup> It is foreseen that in the short term, the implementation of WGS in the clinic will improve diagnosis and management of some disorders with a strong heritable component,<sup>2</sup> as well as improve personalized diagnosis and personalized drug therapy and treatment. Presently, NGS is being used for targeted sequencing of sets of genes to help guide cancer treatment, and a number of cancer centers are considering using WGS or whole-exome sequencing (WES) in the future. During pregnancy, noninvasive prenatal testing for aneuploidy is also being done using NGS.<sup>3</sup> In the clinic, WGS and WES are also being used to identify the causes of rare genetic diseases, especially in children<sup>4</sup> and in individuals with 'atypical manifestations, (that) are difficult to confirm using clinical or laboratory criteria alone,

or otherwise require extensive or costly evaluation'.<sup>5</sup> Disorders for which WGS has been used as a diagnostic tool are usually genetically heterogeneous and have variable phenotypic expression such as intellectual disability, congenital malformations and mitochondrial dysfunctions.<sup>5</sup> Other foreseen applications include tissue matching, disease risk predictions, reproductive risk information, forensics or even recreational genomic information (such as genealogy or non-medically related traits). Nonetheless, Goldenberg and Sharp<sup>6</sup> predict that 'it is likely that the earliest applications of whole-genome sequencing will be restricted to settings in which genetic testing is already a routine part of clinical or public health practice, such as state newborn screening (NBS) programs'.<sup>6</sup> In truth, it should be noted that DNA testing, *per se*, is not a routine part of NBS and that only a very small proportion of babies, depending on the country, have a DNA test (as opposed to a biochemical test).<sup>7,8</sup> Furthermore, the above prediction could be criticized as the routine nature of NBS with its often implied consent, together with its public health context, and the particular vulnerability of the population tested, would make it an unsuitable context into which to first welcome a WGS approach.

An important fact to keep in mind when discussing this topic and reading through this document is that NGS and WGS are not synonymous terms. NGS technologies are tools that can be used to sequence DNA (and consequently analyze sequence variants), as well

<sup>1</sup>Centre for Research Ethics and Bioethics, Uppsala University, Uppsala, Sweden; <sup>2</sup>Department of Human Genetics, Centre of Genomics and Policy, McGill University, Montreal, Quebec, Canada; <sup>3</sup>Department of Clinical Genetics and EMGO Institute for Health and Care Research, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands; <sup>4</sup>Centre for Biomedical Ethics and Society, Vanderbilt University, Nashville, TN, USA; <sup>5</sup>Department of Public Health and Primary Care, University of Leuven, Leuven, Belgium

\*Correspondence: Dr HC Howard, Centre for Research Ethics and Bioethics, Uppsala University, Box 564, Uppsala SE-751 22, Sweden. Tel: +46 18 471 65 75; E-mail: heidi.howard@cb.uu.se

Received 27 August 2014; revised 20 November 2014; accepted 2 December 2014; published online 28 January 2015

resultados del cribado. La publicación “Genome Secuencing in Newborn Screening?”, de 2015, aportada por el Dr. Francesc Palau, destaca el relieve que tendría dicha ampliación para la prevención de estas alteraciones, de las cuales ya se han descrito más de 5.000.

Supervisará este proyecto, que se pretende ampliar a otros centros hospitalarios, el Dr. Pablo Lapunzina, Director Científico del CIBERER.

La Dra. Belén Pérez, coordinadora de esta Jornada, ha contribuido en primer lugar a las actividades del CEDEM, que cuenta hoy con la colaboración de unas cincuenta personas y constituye la proyección joven de una institución que tiene sus raíces hace más de 50 años. En este periodo de tiempo se han diagnosticado más de 5.000 casos de metabolopatías (figura 14), lo que ha modificado para muchos de los pacientes el curso natural de la enfermedad, disminuyendo de forma drástica la morbilidad y la mortalidad y favoreciendo la prevención en numerosas familias. Además de confirmar el diagnóstico bioquímico han sido ca-

Figura 14

| Nº de casos estudiados en el Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares con Enfermedades Metabólicas Hereditarias entre los 48.977 casos analizados durante el periodo 1 enero 1974-31 de octubre de 2018 |   |  |             |
|--|---|--|-------------|
|  |   |  |             |
| AA   | Aminoacidopatías  | Hiperfenilalaninemia (HFA) /Fenilketonuria (PKU) | 1226        |
| ALC  | Acidosis láctica congénita  | Hiperfenilalaninemia por deficiencia de DNAS12   | 16          |
| AO   | Acidurias orgánicas   | Deficiencias en el metabolismo de BH4            | 39          |
| BIL  | Acidemia propiónica   | Enfermedad de Jarabe de Arce (MSUD)              | 118         |
| CDG  | Aciduria glutárica tipo I   | Tirosinemias tipo I, II y III                    | 92          |
| CH   | Aciduria metilmalónica  | Hiperglicinemia no cetósica                      | 81          |
| COL  | Aciduria metilmalónica con homocistinuria                                   | Homocistinuria (CBS)                             | 64          |
|  | Beta-metilcrotonilglicinuria  |  | 27          |
| CR   | Defectos en el transporte y síntesis de creatina                            |  | 30          |
| CU   | Defectos en el ciclo de la urea   |  | 206         |
| EG   | Otras enfermedades genética   |  | 89          |
| FAO  | Defectos beta-oxidación mitocondrial de ácidos grasos                       |  | 360         |
| P_FAO  | Deficiencia de acilCoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena corta      | 58   | 78          |
| KB   | Deficiencia de acilCoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena media      | 144  | 21          |
| LS   | Deficiencia de acilCoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena larga      | 33   | 20          |
| ME   | Aciduria glutárica tipo II  | 29   | 17          |
| MPS  | Deficiencia de 3-OH acilCoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena larga | 23   | 55          |
|  | Deficiencia en transporte de carnitina                                      | 34   |             |
| NEU  | Defectos en el metabolismo de neurotransmisores                             |  | 69          |
| PEX  | Defectos en el metabolismo peroxisomal                                      |  | 108         |
| PP   | Defectos en el metabolismo de purinas y pirimidinas                         |  | 64          |
| TM   | Defectos en el transporte de membrana                                       |  | 204         |
| XNB  | Defectos en el metabolismo de xenobióticos                                  |  | 286         |
|  | <b>TOTAL</b>  |  | <b>5003</b> |

paces de identificar en la mayoría de los casos el gen responsable de la patología y, utilizando pruebas funcionales diseñadas *ad hoc*, predecir el fenotipo y aplicar una terapia específica basada en el genotipo. En la actualidad, los objetivos del CEDEM están dirigidos a mejorar y acelerar el diagnóstico de las enfermedades metabólicas hereditarias utilizando una combinación de herramientas “ómicas” -genómicas, transcriptómicas, metabolómicas, metilómicas- con un propósito preventivo y terapéutico.

El Dr. Francesc Palau, pediatra-investigador con una destacada trayectoria en genética médica, ha contribuido al estudio fisiopatológico de la ataxia de Friedreich y otras alteraciones de esta naturaleza que requieren un profundo conocimiento de la genética y epigenética. Su artículo titulado “*Fenotipos, genes y moléculas: la necesidad de investigar en enfermedades raras*”, publicado en la Revista de la SEBBM, en marzo de 2018, resume muy bien el gran alcance de las lecciones a aprender y remedios a aportar con una visión patológica progresivamente personalizada. Es particularmente interesante el planteamiento de las axonopatías en las enfermedades neurodegenerativas.

No cabe duda de que, después de 50 años de cribado neonatal en España, es muy acertado intentar ampliar su ámbito mediante la inspección genómica.

# LA FUNDACIÓN RAMÓN ARECES Y EL TRIÁNGULO CRÍTICO DEL RECIÉN NACIDO

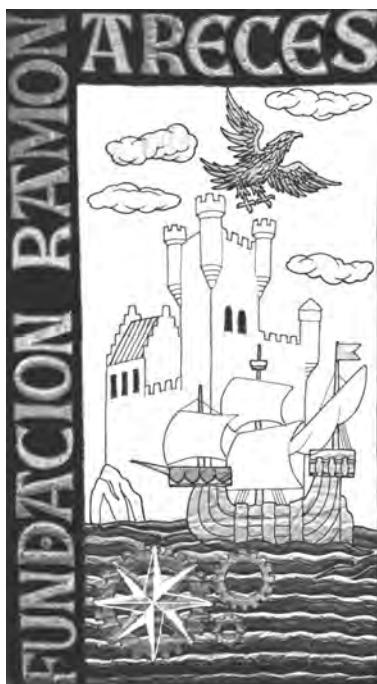
José María Medina

Catedrático Emérito de Bioquímica y Biología Molecular  
Consejero Científico de la Fundación Ramón Areces

En 1976, Don Ramón Areces había desarrollado un paradigma de grandes almacenes que había revolucionado el sistema de ventas en España. Es en este momento cuando se identifica, una vez más, con el medio en que vive y decide “devolver a la sociedad parte de lo que esta me ha dado con anterioridad”. Para ello, crea una fundación con el objetivo de promocionar el desarrollo de la investigación científica en España. Para identificar los fines que su fundador asigna a la nueva institución, basta con observar el logotipo de la Fundación Ramón Areces (figura 1), el cual porta la carabela del descubrimiento y la rosa de los vientos transmutada en rueda de la tecnología, ambas coronadas por un águila que nos anima a mirar lejos con la esperanza de alcanzar metas aparentemente distantes. Es una clara imagen de la investigación científica trazada mediante símbolos emblemáticos de nuestra historia. Es el fiel reflejo del pensamiento de Ramón Areces: promover lo que hoy denominamos “investigación traslacional”. Y, muy específicamente, la investigación traslacional... nacional.

Cuando se crea la Fundación Ramón Areces, el sistema de asignación de fondos para la investigación científica por los organismos oficiales está en plena expansión. Sin embargo, los fondos disponibles no permiten financiar todos los proyectos que demandan los científicos españoles. No es de extrañar que grupos de sobrada solvencia se vean marginados en razón de prioridades más o menos reconocidas. Sin embargo, es en estos grupos donde fija su atención Ramón Areces, pues pide a sus asesores que detecten los grupos de estas características, es decir, pequeños equipos de investigación, sólidamente formados pero que, por su juventud o por lo desconocido de sus temas de trabajo, son ignorados por las fuentes de financiación de ámbito nacional. Ayudar a grupos de estas características cumple, además, con el deseo de Ramón Areces de no competir con

Figura 1. Logotipo de la Fundación Ramón Areces.



valencia, pero muy relevantes en cuanto a su repercusión social y al sufrimiento de las familias que las padecen. De hecho, la investigación en Enfermedades Raras es el paradigma de la ciencia, es decir, nos interesamos en la investigación del origen de la enfermedad con objeto de diseñar medicamentos que consigan disminuir el sufrimiento de los enfermos. Empero, de su descubrimiento colegimos el funcionamiento normal de nuestro cuerpo. Se trata del célebre axioma *de la patología a la fisiología*.

Pero cuando la Fundación comienza sus primeros pasos no se habla aún de enfermedades raras sino de enfermedades perinatales, es decir, metabolopatías congénitas, deficiencias en el crecimiento intrauterino o enfermedades relacionadas con el trauma del parto. De hecho, la salud del recién nacido depende de un triángulo de circunstancias cuyos vértices ocupan las principales amenazas que acechan al niño desde su concepción hasta su acceso a la vida extrauterina (figura 2). El **ángulo superior** del mencionado triángulo está ocupado por los condicionamientos genéticos, los cuales son, sin duda, los más determinantes para su bienestar futuro y los más difíciles de modificar en su beneficio. En este

Figura 2. Triángulo crítico del recién nacido.



sentido, en el ángulo superior radican las enfermedades genéticas de las que carecemos en la mayoría de los casos de tratamientos definitivos, pero que su detección precoz permite una intervención pronta y adecuada para paliar o, en su caso, evitar las secuelas ocasionadas por el defecto genético. En los ángulos inferiores del triángulo se encuadran las que podemos denominar enfermedades “adquiridas”, es decir, aquellas que se producen como consecuencia de problemas durante la gestación o durante el periodo postnatal temprano. De hecho, el crecimiento intrauterino puede verse alterado por muy diversas circunstancias, tales como la insuficiencia placentaria o la diabetes materna, mientras que el desarrollo neonatal puede estar amenazado por la hipoxia *transpartum*, la prematuridad, ductus arterioso patente, etc. Si el recién nacido es capaz de superar los vértices de este **triángulo crítico** se abren para él todas las expectativas de una vida saludable exenta de secuelas permanentes.

Consciente de la importancia de los **tres** vértices de este triángulo crítico del recién nacido, la Fundación Ramón Areces se propuso desde sus inicios apoyar a los grupos españoles implicados en la investigación de la etiología molecular de las enfermedades genéticas (entonces llamadas metabólicas), la de las causadas por trastornos en el crecimiento intrauterino, así como las ocasionadas por la hipoxia *transpartum*. Por ello, los primeros grupos que recibieron el impulso

de la Fundación Ramón Areces fueron el dirigido por Magdalena Ugarte, en la Universidad Autónoma de Madrid, para el estudio de las enfermedades metabólicas; el dirigido por Emilio Herrera, en la Universidad San Pablo-CEU, para el estudio de la diabetes materna; y el dirigido por José M<sup>a</sup> Medina, el que suscribe, primero en la Universidad Autónoma de Madrid y, posteriormente, en la Universidad de Salamanca, para el estudio de la prematuridad e hipoxia neonatales. Gracias a este impulso, en el vértice superior del triángulo crítico se consolidaron las bases para la detección y tratamiento de enfermedades tan deletéreas como la fenilcetonuria, galactosemia y acidemia metilmalónica, entre otras. Y de la investigación realizada en los vértices inferiores se sentaron las bases para el control de la diabetes de la madre durante la gestación, el manejo y tratamiento del neonato prematuro, etc.

Pero no se ha tratado de una acción puntual, puesto que la Fundación Ramón Areces ha tenido un interés continuado en promocionar la investigación de las enfermedades raras. Prueba de ello es que, solo en los últimos 12 años, la Fundación Ramón Areces ha concedido 90 Ayudas a la Investigación en enfermedades raras, dedicando para ello un total cercano a los 10 millones de euros. Asimismo, ha organizado 25 simposios en colaboración con el CIBERER y concedido 15 becas postdoctorales para investigadores jóvenes interesados en la investigación de las enfermedades raras.

Los que desde la Fundación Ramón Areces, como el Profesor Mayor Zaragoza, el Profesor Rodríguez Villanueva o yo mismo, hemos perseguido la consecución de los objetivos propuestos por D. Ramón Areces nos sentimos orgullosos de haber contribuido al desarrollo de la investigación en este campo, con la certeza de que este es el camino para la lucha contra estas enfermedades que a menudo afectan a nuestras más queridas e indefensas criaturas.

# **MANEJO DE LOS PACIENTES ANTES Y DESPUÉS DEL CRIBADO NEONATAL AMPLIADO**

María Luz Couce

Servicio de Neonatología. Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Metabólicas Congénitas. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela  
Universidad de Santiago de Compostela. Centro de Investigación Biomédica en  
Red Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Investigación Sanitaria  
de Santiago de Compostela (IDIS)

## **RESUMEN**

Tras 50 años de recorrido del cribado en España y ya unos años con el cribado ampliado no cabe duda que los programas de cribado neonatal constituyen uno de los avances más significativos que se han producido en Salud Pública, beneficiándose casi 400.000 niños/año en España. Su práctica, con cobertura de prácticamente 100% de los recién nacidos pese a no ser obligatorio en nuestro país, ha significado uno de los grandes logros asistenciales en Pediatría.

## **INTRODUCCIÓN**

El ser humano tiene su dotación genética, pero después le influyen oportunidades, adversidades, destino, suerte, que pueden interferir en su evolución. No cabe duda que la implementación del cribado ampliado ha supuesto un cambio en la evolución de muchos pacientes, particularmente con enfermedades metabólicas hereditarias del metabolismo intermedio. Y es que, el poder detectar en el neonato un error congénito de metabolismo (ECM) cuando aún está sin sintomatología clínica juega y ha jugado un papel determinante en el pronóstico de estos pacientes.

El cribado neonatal es un proceso para la identificación precoz de trastornos en el neonato sobre todo metabólicos, pero también endocrinos, inmunológicos, auditivos..., para su diagnóstico, tratamiento y seguimiento a largo plazo. El cribado encaminado al diagnóstico precoz de estas enfermedades congénitas ha

demostrado ser eficaz, eficiente y efectivo tanto desde el punto de vista del diagnóstico como desde el de la sanidad pública y del de la rentabilidad económica. Actualmente está implementado en mayor o menor grado en la gran mayoría de los países industrializados.

El cribado neonatal se inició en la segunda parte del siglo XX, basándose en los trabajos de Robert Guthrie [1] que desarrolló una prueba sencilla, económica y eficaz para determinar si los neonatos padecían fenilcetonuria (PKU). Desde la década de los 90, a raíz de los hallazgos de Millington [2], la espectrometría de masas en tandem (MS/MS) ha ido incorporándose gradualmente en los programas de cribado neonatal de muchos países, surgiendo así el cribado ampliado. Es la herramienta más poderosa que ha aparecido en los últimos 20 años en el campo del diagnóstico neonatal de los ECM por tratarse de un sistema de gran versatilidad, sensibilidad y alta capacidad de análisis que ha permitido ampliar el cribado al realizar la medida simultánea de varios metabolitos y hacer casi realidad el concepto ideal para el cribado de: 1 muestra → 1 análisis → múltiples diagnósticos [3].

Galicia fue la primera Comunidad Autónoma en España, y de las primeras de Europa, en iniciar el cribado neonatal ampliado por MS/MS en junio del 2000 [3, 4], posteriormente se fueron incorporando otras Comunidades produciéndose una gran variabilidad entre ellas en las entidades cribadas. El Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud aprobó, en julio de 2013, las enfermedades que formarían parte del nuevo programa de cribado neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas incluido en la cartera común básica del SNS. Así, las enfermedades que se indica cribar en España actualmente son: hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria, fibrosis quística, deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media, deficiencia de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga, aciduria glutárica tipo I y la enfermedad de células falciformes [5]. En estos meses próximos está previsto incorporar una octava entidad, la deficiencia de biotinidasa (tabla 1). Actualmente ya en bastantes países de EEUU, Europa y en varias comunidades de España se criban un mayor número de entidades, particularmente del metabolismo de aminoácidos, ácidos orgánicos y defectos de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos.

**Tabla 1. Enfermedades recomendadas para cribado y/o en estudio piloto a nivel nacional en el momento actual.**

| Enfermedad   | Qué puede prevenir el cribado   | Tratamiento   |
|--|---|---|
| Hiperfenilalaninemia/<br>Fenilcetonuria  | Retraso mental, convulsiones,<br>coma, muerte   | Dieta restringida en fenilalanina<br>Tratamiento con BH4 en<br>algunos casos  |
| Enfermedad de Jarabe<br>de Arce  | Retraso en el desarrollo mental,<br>convulsiones, coma, muerte                          | Dieta restringida en aminoácidos<br>de cadena ramificada.<br>Tiamina  |
| Tirosinemia tipo1  | Daño hepático y renal con se-<br>cuelas. Retraso en el crecimien-<br>to, coagulopatías  | Dieta restringida en fenilalanina y<br>tirosina.<br>Tratamiento con NTBC  |
| Homocistinuria   | Retraso mental, luxación del<br>crystalino, miopía severa,<br>tromboembolismo           | Dieta restringida en metionina<br>Betaína, B12, B6, folato  |
| Aciduria Glutárica tipo 1  | Retraso en el desarrollo, espas-<br>ticidad, encefalopatía, coma,<br>muerte             | Dieta restringida en proteínas.<br>Carnitina.   |
| Aciduria Isovalérica   | Encefalopatía, daño neurológico,<br>coma, muerte  | Dieta restringida en proteínas.<br>Glicina, carnitina   |
| Déficit de $\beta$ -oxidación de<br>ácidos grasos de cadena<br>media (MCAD)      | Hipoglucemias, convulsiones,<br>coma, muerte súbita                                     | Tto dietético rico en hidratos de<br>carbono y sin exceso de grasas.<br>Evitar el ayuno. Carnitina en<br>ocasiones  |
| Déficit de $\beta$ -oxidación de<br>ácidos grasos de cadena<br>larga (LCHAD/TFP) | Cardiomielopatía, coma, muerte<br>súbita  | Tto dietético restringido en grasas<br>de cadena larga, dieta rica en<br>hidratos de carbono de absorción<br>lenta, evitar ayuno.<br>Suplemento de triglicéridos de<br>cadena media y carnitina en algu-<br>nos casos |
| Deficiencia de Biotinidasa   | Retraso mental, convulsiones,<br>afectación cutánea, muerte                             | Biotina   |
| Fibrosis quística  | Retraso en el crecimiento, enfer-<br>medad pulmonar crónica severa,<br>muerte prematura | Terapia según evolución   |
| Hipotiroidismo congénito   | Retraso mental severo. Retraso<br>de desarrollo   | Hormona tiroidea  |

El objetivo de un buen cribado ampliado es ambicioso, pues aparte de un número óptimo de entidades que sean susceptibles de cribar, es que se realice la determinación al 100% de los recién nacidos y se tenga el diagnóstico e inicio del tratamiento en los primeros 10 días de vida. Para esto es necesario que la muestra se tome en el momento adecuado (24-48 horas de vida en general) y que el tiempo entre toma de muestra y análisis idóneamente sea de 1-2 días.

## **QUÉ HA PERMITIDO EL CRIBADO NEONATAL AMPLIADO EN CUANTO A LAS PATOLOGÍAS A DETECTAR**

El poder detectar una entidad en el período neonatal por cribado ampliado ha supuesto:

- **Con la expansión del cribado neonatal podemos evitar o prevenir el desarrollo de síntomas** al efectuar un tratamiento precoz en enfermedades que generalmente se manifiestan fuera del período neonatal. Es la situación ideal del cribado ampliado neonatal y la que se produce en la mayoría de las ocasiones: la identificación presintomática de anomalías que permite la aplicación de tratamientos precoces y facilita un buen pronóstico a largo plazo de las patologías derivadas. El diagnóstico precoz evita o minimiza las complicaciones, evita pruebas diagnósticas innecesarias e identifica familias susceptibles de asesoramiento genético.

Ejemplos a tener en cuenta:

- La fenilcetonuria, en el nacimiento tienen un aspecto normal, con tendencia a piel blanca, cabello y ojos claros. Posteriormente tienden a presentar piel seborreica o con eczema, olor a ratón, microcefalia, retraso mental, retraso de crecimiento, prognatismo mandibular. Su detección y tratamiento precoz permiten una evolución normal. Desde el inicio del cribado en España hasta 2017 se han beneficiado 1.832 niños. Además, si siguen un control adecuado estas futuras mamás PKU pueden evitar, dado que la fenilalanina elevada es teratógena, la embriofetopatía por PKU [6].
- La aciduria glutárica tipo 1, cuyo debut clínico es generalmente en la primera infancia con una crisis de encefalopatía aguda, que provoca destrucción y necrosis de los ganglios basales y que tiene como consecuencia una gran disfunción neurológica. En cambio, el diagnóstico y

tratamiento temprano se asocia en general a una evolución neurológica favorable, por lo que su identificación precoz constituye un reto diagnóstico [7]. En la tabla 2 se puede objetivar la detección y evolución de pacientes con aciduria glutárica tipo 1 con diagnóstico por cribado y tardío de Galicia.

- La homocistinuria clásica, por déficit de Cistationina  $\beta$ -sintasa, donde muchos de los que no son diagnosticados por cribado presentan ya al diagnóstico luxación del cristalino, miopía severa, hábito marfanoid e incluso en algunos la detección es por las alteraciones vasculares con tromboembolismo que puede ser muy severo y marcar el pronóstico. Con un tratamiento controlado desde el período neonatal se espera que no desarrollemos ninguno del cortejo de esta sintomatología [8].

**Tabla 2. Pacientes de Galicia con detección precoz y tardía de aciduria glutárica tipo 1 [7].**

| Pacientes             | 1            | 2            | 3            | 4            | 5            | 6            | 7                     | 8                     | 9                                  |
|-----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------------------|-----------------------|------------------------------------|
| Sexo                  | M            | F            | M            | F            | F            | F            | M                     | M                     | M                                  |
| Tiempo de seguimiento | 9a 9m        | 9a 7m        | 3a 6m        | 2a 2m        | 23m          | 16m          | 4a 1m                 | 10a 9m                | 10a                                |
| Edad al diagnóstico   | 8 días       | 7 días       | 15 días      | 20 días      | 11 días      | 16 días      | 8m                    | 14m                   | 13a 10m                            |
| Presentación clínica  | Asintomático | Macrocefalia | Asintomático | Macrocefalia | Macrocefalia | Macrocefalia | Crisis encéfalopática | Crisis encéfalopática | Parálisis cerebral distónica grave |
| Neuroimagen           | 1            | 1            | Normal       | Normal       | Normal       | 1            | 1, 2, 3               | 1, 2                  | 1, 3, 4                            |

1 = Aumento del espacio subaracnoideo frontotemporal con apertura de las cisuras sylvianas, 2 = Hipereñal a nivel de los ganglios basales, 3 = Desmielinización cerebral bilateral, 4 = Atrofia cerebral difusa.

M = masculino, F = femenino.

- Con la expansión del cribado neonatal podemos prevenir el desarrollo de síntomas más discapacitantes e incluso letales al efectuar un tratamiento precoz.

Ejemplos a tener en cuenta:

- Defectos de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos de cadena larga (LCHADD). La mayoría no presentan síntomas a la detección; pero también pueden presentar elevación de CPK, cardiomiopatía e hipoglucemia. Los fenotipos severos de deficiencia completa de proteína trifuncional se manifiestan precozmente, incluso antes del cribado, y pueden llegar a ser letales. Es importante tener presente los antecedentes obstétricos pues la madre pudo haber tenido en el embarazo un S. HELLP.

Con un tratamiento precoz se reduce significativamente la morbimortalidad. No obstante, a pesar del tratamiento adecuado y con óptimo cumplimiento desarrollan retinopatía pigmentaria progresiva un 30%, también más raramente pueden desarrollar neuropatía periférica (más en déficit de proteína trifuncional) [9, 10].

- Tirosinemia tipo 1. Con el cribado neonatal es frecuente que a su detección estén asintomáticos; raramente pueden presentar alteraciones de la coagulación e incluso fallo hepático. Tras el tratamiento precoz con nitisinona y dieta restringida en fenilalanina y tirosina, no tienen en general descompensaciones hepáticas ni neurológicas, y el deterioro de enfermedad crónica hepática es raro. Además, el riesgo de hepatocarcinoma es mucho menor. Sin embargo, problemas con déficit de atención y dificultades de aprendizaje pueden presentarse también en los pacientes detectados a través del cribado [11].
- Galactosemia clásica. El diagnóstico y el tratamiento precoz están en relación directa con la prevención de la morbilidad y la mortalidad de la enfermedad durante el período neonatal, evitando la aparición de secuelas irreversibles para el paciente. En el estudio GALNET: 466 casos de galactosemia clásica de los que 232 fueron detectados cribado neonatal. Observan que la detección por cribado neonatal y el inicio de dieta en la primera semana de vida implican una evolución más favorable, aunque no evita la aparición de complicaciones tardías [12].

- A veces enfermedades graves del metabolismo intermedio se manifiestan en las primeras horas o días de vida previo a saber los resultados del cribado pero su detección ayuda a hacer un tratamiento más precoz y que este pueda ser efectivo.

Ejemplos a tener en cuenta:

- Enfermedad de la orina de jarabe de arce. Las formas clásicas, que constituyen el 80% de los casos, presentan una actividad enzimática < 3% y en ocasiones pueden manifestarse clínicamente antes de tener los resultados del cribado neonatal. Así, en el estudio realizado por los grupos del Hospital Sant Joan de Déu, Virgen del Rocío y el Clínico de Santiago, se objetivó que hasta en el 50% de los casos de detección precoz se realizaban medidas de diálisis frente al 100% de los de detección tardía [13]. Un diagnóstico rápido una vez empiezan los síntomas permite una actuación más rápida, implicando con ello un mejor pronóstico.
- Defectos del ciclo de la urea como la Citrulinemia tipo 1. Puede manifestarse en alguna forma muy grave con hiperamonemia severa antes de tener los resultados del cribado, pero el disponer de los resultados rápidamente contribuye a que el tratamiento sea más eficaz. Un ejemplo es un caso de detección del cribado de Galicia con ese diagnóstico y que fue publicado en Anales Ped (Barc.) en 2010 y en el que el paciente estaba somnoliento sin haberse diagnosticado y al tener los resultados del cribado la administración rápida con fenilbutirato permitió una mejor evolución [14].

- Se detectan a veces fenotipos que pueden ser mucho más moderados y que en algún caso podrían estar asintomáticos toda su vida.

Ejemplos a tener en cuenta:

- Deficiencia de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos de cadena media (MCADD), se ha visto que por cribado es relativamente frecuente observar fenotipos moderados, con niveles de octanoilcarnitina (C8) y de los ratios C8/C2 y C8/C10 discretamente elevados y que no presentan la mutación c.985A>G en homocigosis en el gen MCAD. En cualquier caso, se debe realizar un tratamiento dietético simple sin

exceso de grasas, evitando el ayuno prolongado y ante situaciones de estrés asegurar alto aporte de carbohidratos.

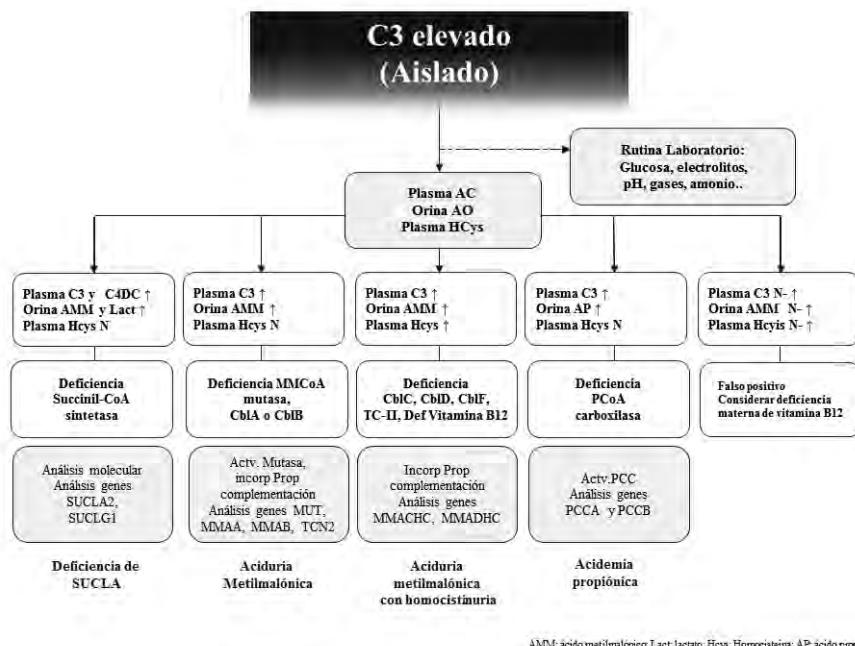
- Acidemia isovalérica. Por cribado se pueden detectar a veces formas asintomáticas. Si C5 está entre niveles de 0,8 y 6  $\mu\text{mol/L}$  en el cribado pueden permanecer asintomáticos incluso durante episodios febriles sin tratamiento dietético. Las formas más severas tienen generalmente > niveles de C5. Por ello, si niveles de C5 entre 0,8 y 6  $\mu\text{mol/L}$  se aconseja tratamiento dietético moderado con aporte proteínas naturales de 1,5 g/kg/día y carnitina. Según la evolución de niveles C5 y estudios moleculares podemos ir liberalizando más la dieta, con una actitud más agresiva en los episodios de estrés [15].
- A veces se detectan elevaciones transitorias por transferencia placentaria de metabolitos maternos y que permite la detección del déficit en sus madres.
  - Déficit del transportador de carnitina. Se han detectado por cribado madres con deficiencia primaria de carnitina asintomáticas, con niveles de carnitina muy bajos, sin estar sus hijos afectados.
  - Se pueden detectar “alteraciones bioquímicas” que no se corresponden con una enfermedad determinada.

El cribado detecta, pero generalmente se precisan más estudios para el diagnóstico. Así, una elevación de C3 puede corresponder a varias entidades pero también puede ser un falso positivo y hay que considerar una deficiencia de vitamina B12 materna (figura 1).

El cribado de fibrosis quística positivo, de acuerdo al consenso americano [16] exige la determinación posterior de Cl en sudor y estudio genético si este no está incluido en el cribado.

- Conocimiento real de la prevalencia de muchas enfermedades que no eran conocidas, al posibilitar la observación de un mayor número y real de ECM en comparación con el período anterior a su utilización. Así, en la literatura se ha comprobado que hay entidades, como la deficiencia de la  $\beta$ -oxidación mitocondrial de los ácidos grasos de cadena media, que tienen una prevalencia casi similar a la fenilcetonuria o incluso mayor en algunos países. Asimismo que la aciduria orgánica más frecuentemente detectada es la metilcrotonilglicinuria [4, 17, 18].

**Figura 1.** Elevación de propionilcarnitina (C3) en el análisis de cribado neonatal, qué puede significar.



En Galicia, las entidades más frecuentemente diagnosticadas tras la instauración del cribado son las hiperfenilalaninemias (1/4040), deficiencia de MCAD (1/19900) y galactosemias (1/19100). Las dos primeras son también las más frecuentemente encontradas en otros Centros como en Portugal, Carolina del Norte y otros países del entorno europeo, no así la galactosemia que en nuestro medio se busca de forma específica. Comprobamos igualmente una mayor incidencia de déficit de biotinidasa (1/30.023), de aciduria glutárica tipo 1 (1/35.027) y de enfermedad de la orina de jarabe de arce (1/52.541) reflejada en la literatura [4].

## QUÉ HA PERMITIDO DE FORMA GLOBAL EL CRIBADO NEONATAL AMPLIADO

Tras ya dos décadas de experiencia en el cribado neonatal ampliado se ha comprobado:

- Mayor incidencia de las enfermedades cribadas de lo que pensábamos.

- Conocer mejor la historia natural de estos procesos. Se han objetivado cambios en la historia natural con nuevas formas de presentación y también formas más moderadas. Un mejor conocimiento de la historia natural nos permitirá poder establecer tratamientos más efectivos.
- Reducción significativa de la morbimortalidad de las patologías detectadas.
- El cribado neonatal es económicamente válido. El coste promedio de la discapacidad en España es de 50.000€ por año de vida de la persona discapacitada [19]. El cribado neonatal no solo salva vidas, sino que también es económicamente válido con una reducción significativa en la atención crítica y los gastos de atención médica crónica. En más del 95% de las enfermedades que detecta, evita la discapacidad y en el 100% mejora significativamente la calidad de vida. Por lo que su rentabilidad está fuera de toda duda.

### *Referencias*

1. Guthrie, R. y Susi, A. A simple Phenylalanine method for detecting Phenylketonuria in large populations of Newborn Infants. *Pediatrics*. 1963;32:338-43.
2. Millington, D.S.; Kodo, N.; Norwood, D.L. y Roe, C.R. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inherit Metab Dis* 1990;13:321-24.
3. Fraga, J.M.; Cocho, J.A.; Castiñeiras, D.E.; Couce, M.L.; Bóveda, M.D.; Iglesias, A.J. y Alonso Fernández, J.R. Aspectos actuales en el cribado neonatal, aplicación de la espectrometría de tandem masas al diagnóstico precoz de los Errores Congénitos del Metabolismo. *An Esp Pediatr* 2000; 53(S2): 81-86.
4. Couce, M.L.; Castiñeiras, D.E.; Bóveda, M.D.; Baña, A.; Cocho, J.A. e Iglesias, A.J. et al. Evaluation and long-term follow-up of infants with inborn errors of metabolism identified in an expanded screening programme. *Mol Genet Metab* 2011; 104: 470-75.

5. Resumen ejecutivo del grupo de expertos sobre concreción de cartera común de servicios para cribado neonatal In: Ministerio de Sanidad SSeIE, ed.
6. Lanke, R.R. y Levy, H.L. Maternal phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. An international survey of the outcome of untreated and treated pregnancies. *N Engl J Med* 1980; 303:1202-8.
7. Couce, M.L.; López-Suárez, O.; Bóveda, M.D.; Castiñeiras, D.E.; Cocho, J.A. y García-Villoria, J. et al. Glutaric aciduria type I: outcome of patients with early- versus late-diagnosis. *Eur J Paediatr Neurol* 2013; 17:383-89.
8. Keller, R.; Chrastina, P.; Pavlíková, M.; Gouveia, S.; Ribes A. y Kölker, S. et al. Newborn screening for homocystinurias: Recent recommendations versus current practice. *J Inherit Metab Dis* 2019; 42: 128-39.
9. Spiekerkoetter, U.; Lindner, M.; Santer, R.; Grotzke, M.; Baumgartner, M.R. y Boehles, H. et al. Treatment recommendations in long-chain fatty acid oxidation defects: consensus from a workshop. *J Inherit Metab Dis* 2009; 32: 498-505.
10. Sykut-Cegielska, J.; Gradowska, W.; Piekutowska-Abramczuk, D.; Andressen, B.S.; Olsen R.K. y Ołtarzewski, M. et al. Urgent metabolic service improves survival in long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (LCHAD) deficiency detected by symptomatic identification and pilot newborn screening. *J Inherit Metab Dis*. 2011; 34: 185-95.
11. Geppert, J.; Stinton, C.; Freeman, K.; Fraser, H.; Clarke, A. y Johnson, S. et al. Evaluation of pre-symptomatic nitisinone treatment on long-term outcomes in Tyrosinemia type 1 patients: a systematic review. *Orphanet J Rare Dis* 2017; 12:154.
12. Rubio-Gozalbo, M.E.; Haskovic, M.; Bosch, A.M.; Burnyte, B.; Coelho, A.I. y Cassiman, D. et al. The natural history of classic galactosemia: lessons from the GalNet registry. *Orphanet J Rare Dis*. 2019; 14: 86.
13. Couce, M.L.; Ramos, F.; Bueno, M.A.; Díaz, J.; Meavilla, S. y Bóveda, M.D. et al. Evolution of maple syrup urine disease in patients diagnosed by newborn screening versus late diagnosis. *Eur J Paediatr Neurol*. 2015; 19:652-59.

14. Moure, J.D.; Couce, M.L.; Pérez-Muñuzuri, A. y Fernández-Lorenzo, J.R. Hyperammonaemia. Treatment in the emergency and acute phase of a patient with citrullinaemia. *An Pediatr (Barc)* 2010; 72:88-9.
15. Couce, M.L.; Aldamiz-Echevarría, L.; Bueno, M.A.; Barros, P.; Belanger-Quintana, A.; Blasco, J.; García-Silva, M.T.; Márquez-Armenteros, A.M.; Vitoria, I.; Vives, I.; Navarrete, R.; Fernández-Marmiesse, A.; Pérez, B. y Pérez-Cerdá, C. Genotype and phenotype characterization in a Spanish cohort with isovaleric aciduria. *J Hum Genet*. 2017; 62(3):355-60.
16. Farrell, P.M.; White, T.B.; Ren, C.L.; Hempstead, S.E.; Accurso, F. y Derichs, N. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatrics* 2017; 181:S4-15.
17. Vilarinho, L.; Rocha, H.; Sousa, C.; Marcão, A.; Fonseca, H.; Bogas, M. y Osório, R.V. Four years of expanded newborn screening in Portugal with tandem mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33:S133-38.
18. Juan-Fita, M.J.; Egea-Mellado, J.M.; González-Gallego, I.; Moya-Quiles, M.R. y Fernández-Sánchez, A. Expanded newborn screening in the Region of Murcia, Spain. Three-years experience. *Med Clin (Barc)* 2012; 139:566-71.
19. Informe sobre “El sobreesfuerzo económico que la discapacidad intelectual o de desarrollo ocasiona en la familia en España 2014”. FEAPS.

# CAMBIO DE PARADIGMA EN CRIBADO NEONATAL DE ENFERMEDADES METABÓLICAS HEREDITARIAS

Antonia Ribes

Sección de Errores Congénitos del Metabolismo-IBC

Servicio de Bioquímica y Genética Molecular

Hospital Clínic de Barcelona. CIBER de Enfermedades Raras, Barcelona

## RESUMEN

El cribado neonatal es una actividad de prevención secundaria en salud pública, cuyo objetivo final es llegar a un diagnóstico precoz para aplicar el tratamiento adecuado, que conduzca a la eliminación o reducción significativa de la discapacidad y secuelas asociadas a la enfermedad concreta.

El evento más relevante en la historia del cribado neonatal fue la descripción de la fenilcetonuria (PKU) por el Dr. Asbjørn Følling. Esta enfermedad ha sido el paradigma de las enfermedades metabólicas hereditarias (EMH) y se ha utilizado como modelo, ya que el tratamiento temprano ha demostrado ser eficaz en la prevención de la sintomatología clínica.

En los años 90 la introducción de la espectrometría de masas en tandem (MS/MS) en los laboratorios de cribado neonatal dio lugar a un cambio de paradigma. Esta metodología permite la medida simultánea de diferentes metabolitos en un único ensayo y en consecuencia sustituir el concepto: 1 análisis/1 gota de sangre/1 enfermedad, por el de 1 análisis/1 gota de sangre/ múltiples enfermedades. Esta tecnología despertó mucho entusiasmo y se empezaron programas sin unos criterios claros de inclusión de las enfermedades. Este hecho ha generado muchas desigualdades entre distintos programas. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de llegar a un consenso sobre las enfermedades que se deberían incluir en el cribado neonatal.

De la misma forma que no se puede hablar de los inicios del cribado neonatal sin mencionar a Asbjørn Følling, tampoco se puede hablar del cribado neona-

tal ampliado sin mencionar a Piero Rinaldo, ya que ideó unas herramientas de interpretación post-analítica que han ayudado de forma decisiva a la implementación de dichos programas en todo el mundo (CLIR 2.09; <https://clir.mayo.edu>). CLIR es una base de datos interactiva que incluye los marcadores bioquímicos primarios. En algunos casos estos son muy específicos, de forma que los falsos positivos son mínimos, pero en otros no es así. Para estos últimos es necesario añadir un marcador de segundo nivel, que se realiza en la muestra de sangre inicial, contribuyendo así a la disminución de falsos positivos, a la disminución de la angustia paterna además de llegar de forma más rápida al diagnóstico y en consecuencia al tratamiento.

La integración de todas las ómicas ha iniciado ya su andadura en varios aspectos motivados en gran parte por la implementación de las técnicas de secuenciación masiva al diagnóstico clínico. Todavía existen muchos desafíos técnicos para que este sistema pueda adaptarse al cribado neonatal de forma inmediata, pero estamos convencidos de que la integración y confluencia de todos los conocimientos en grandes bases de datos es el camino a seguir.

## CRIBADO NEONATAL

Es una actividad de prevención secundaria en salud pública, ampliamente aceptada a nivel internacional, dirigida a identificar precozmente los recién nacidos asintomáticos afectados por determinadas enfermedades, la mayoría de ellas de origen genético.

El objetivo final de esta actividad preventiva consiste en llegar a un diagnóstico definitivo para aplicar un tratamiento adecuado, que conduzca a la eliminación o reducción significativa de la discapacidad y secuelas asociadas a la enfermedad concreta.

El cribado ha de estar centrado en el interés del niño, y el sistema de salud debe garantizar no solo el diagnóstico si no el tratamiento y el seguimiento clínico de los niños diagnosticados precozmente. Así pues el cribado neonatal no es solo un análisis, es un programa, que debe reunir a todos los profesionales en un único equipo que actúe de forma coordinada y que realice reuniones periódicas de revisión y trasmisión del conocimiento, así como el mantenimiento adecuado de las bases de datos. El equipo ha de estar formado por:

- Salud Pública de cada CCAA, que financia y coordina el programa, procurando que sea de alcance universal.
- Centro maternal donde haya nacido el niño. Tiene una labor muy importante en la obtención de la muestra del talón, de forma adecuada, e informando a los padres de los estudios que se van a realizar a sus hijos.
- Laboratorio de cribado. Su labor es fundamental en la realización de los análisis. La metodología utilizada debe ser rápida y fiable evitando, además, en la medida de lo posible, hallazgos indeseados.
- Laboratorio de diagnóstico. Para confirmar o descartar la orientación propuesta por el laboratorio de cribado, además de realizar un diagnóstico diferencial si fuese necesario.
- Hospital pediátrico para el tratamiento, evaluación clínica y seguimiento del recién nacido.
- Hospital de adultos para el tratamiento y seguimiento de todos aquellos que al alcanzar la edad adulta deban ser transferidos a un hospital adecuado a su edad.

## INICIO DE LOS PROGRAMAS DE CRIBADO NEONATAL

El evento más relevante en la historia del cribado neonatal fue la descripción de la fenilcetonuria (PKU) por el Dr. Asbjørn Følling, médico, bioquímico y profesor de medicina nutricional de la Universidad de Oslo en 1934 (1). La PKU ha sido el paradigma de las enfermedades metabólicas hereditarias (EMH) y se ha utilizado en la salud pública como modelo, ya que su tratamiento temprano ha demostrado ser eficaz en la prevención de los síntomas asociados a esta enfermedad, habiéndose conseguido un cambio radical en la historia natural de la misma.

Følling realizó un inesperado descubrimiento. Al agregar cloruro férrico a la orina de dos niños PKU, esta se volvió de color verde oscuro, mientras que las orinas de niños normales se volvían de color café-rojizo. Más tarde demostró que el color verde de la orina se debía a la acumulación de ácido fenilpirúvico y postuló que el retraso mental de los niños se relacionaba con la presencia de ácido fenilpirúvico en la orina. Følling empezó a investigar si en otros niños con retraso mental, estaba presente dicha sustancia, por lo que reunió orina de

400 pacientes hospitalizados en el área de Oslo y encontró ocho casos similares, que además de los hallazgos en la orina, compartían otras características: todos eran de tez clara, con eczema, tenían complejión ancha, con hombros grandes, marcha espástica y retraso mental acentuado. Los datos genealógicos de estas familias aportaron evidencia convincente para proponer que la fenilcetonuria se heredaba de forma autosómica recesiva (2).

En su primer artículo sobre PKU, Følling había hipotetizado que las cantidades elevadas de ácido fenilpirúvico en la orina, eran el resultado de la incapacidad para metabolizar fenilalanina (3), que más adelante comprobó, en colaboración con los biólogos Karl Closs y Sverre Dick Henriksen.

Los siguientes grandes hitos en la historia de la enfermedad ocurrieron en la década de los años cincuenta con el inicio del tratamiento dietético. En 1953, el Dr. Bickel (4) propuso que el desarrollo de los niños con PKU sería prácticamente normal si la fenilalanina se restringía de la dieta desde el periodo neonatal. Esta propuesta motivó la detección neonatal de la PKU en muchos países, y en 1958 se llevó a cabo el primer programa poblacional en la ciudad de Cardiff utilizando el test de Følling.

En EE. UU. los programas de detección neonatal de PKU comenzaron a principios de la década de 1960, cuando el Dr. Robert Guthrie describió una prueba de detección simple para medir la fenilalanina de forma masiva, mediante una gota de sangre impregnada en papel (5). Los beneficios de la detección en los niños recién nacidos atrajeron rápidamente el apoyo de la población. Desde entonces, la detección a gran escala se hizo posible. El programa universal de detección de recién nacidos con PKU comenzó en Massachusetts en 1963 y muchos países establecieron rápidamente sus propios programas. En España, los pioneros en tener la visión de la importancia del programa de cribado neonatal fueron los Profesores Federico Mayor Zaragoza y la Profesora Magdalena Ugarte, por lo que iniciaron dicho programa, en el año 1968, en Granada. Posteriormente, el hipotiroidismo congénito fue la enfermedad que se introdujo de forma generalizada en los programas de cribado, por los beneficios derivados de su detección neonatal. Actualmente, se realiza el cribado neonatal en una población aproximada de 130 millones de recién nacidos.

## **CAMBIO DE PARADIGMA EN CRIBADO NEONATAL**

En los años 90 la introducción de la espectrometría de masas en tandem (MS/MS) en los laboratorios clínicos y en concreto en los de cribado neonatal dio lugar a un cambio de paradigma. Millington y Chace (6,7) fueron los pioneros de la implementación del análisis de aminoácidos y acilcarnitinas mediante MS/MS en los programas de cribado neonatal.

Esta metodología fue uno de los factores desencadenantes de la revisión y expansión de los programas de cribado neonatal en todo el mundo, ya que permite la medida simultánea de diferentes metabolitos en un único ensayo y, en consecuencia, permite detectar diferentes enfermedades a partir de una gota de sangre impregnada en papel. Además, la PKU se podía también detectar por esta metodología, por lo que la gota de sangre destinada inicialmente al análisis de PKU se destinaría ahora a PKU más otras muchas enfermedades. Así pues, se cambia el concepto: 1 análisis/1 gota de sangre/1 enfermedad, por el de 1 análisis /1 gota de sangre/múltiples enfermedades.

## **CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE LAS ENFERMEDADES EN LOS PROGRAMAS DE CRIBADO NEONATAL. SITUACIÓN ACTUAL**

La introducción de la MS/MS despertó mucho entusiasmo y se empezaron programas sin que se hubiera establecido unos criterios claros de inclusión de las enfermedades. Este hecho generó muchas desigualdades, no solo entre países sino también entre las distintas regiones o comunidades de un mismo país. La falta de equidad en materia de salud pública neonatal era muy evidente. En respuesta a ello, la Secretaría de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos, formó un Comité Asesor en el año 2003 para proporcionar recomendaciones sobre las pruebas de detección neonatal, tecnologías, políticas y pautas a seguir para elaborar unos criterios de inclusión (8). Este comité estaba formado por 289 profesionales de la salud que evaluaron 84 enfermedades candidatas. Se llegó a un consenso de incluir un panel primario de 29 enfermedades y un panel secundario de 25 enfermedades adicionales, que formarían parte del diagnóstico diferencial del primer panel. Este comité se reúne periódicamente y desde entonces se han evaluado 12 enfermedades más y se han añadido 3 al panel inicial (9).

En Europa existe una gran diversidad en las enfermedades que se incluyen en los programas de cribado neonatal. Desde programas que solo incluyen 2 enfermedades, a otros que incluyen más de 30.

En España, el cribado ampliado por MS/MS se inició en la Comunidad de Galicia en el año 2000 y se fueron sumando paulatinamente otras CCAA, aunque no todas las CCAA incluyeron el mismo número de enfermedades. Se produjeron muchas diferencias entre las distintas CCAA, por lo que en 2012 el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud (SNS) creó un Grupo de trabajo para el desarrollo de la cartera común de servicios. En julio del 2013, este grupo recomendó la inclusión de 7 enfermedades. A finales del 2018 se recomendó la inclusión de una entidad más. Actualmente, en algunas CCAA se ha realizado un estudio piloto para otras 3 que aún está pendiente de valoración (10). La realidad es que este número de patologías varía de 8 a 30 dependiendo de la CCAA, sin tener en cuenta que pueden llegar a ser muchas más si se incluyen las que formarían parte del diagnóstico diferencial del panel primario.

En Italia, en 2018, se estableció por ley, un panel de 40 enfermedades (11).

Por lo tanto, existe una necesidad urgente de llegar a un consenso sobre las enfermedades que se deberían incluir en el cribado neonatal en los países europeos (12); para una revisión exhaustiva de las enfermedades a nivel mundial recomendamos la lectura de Castiñeras et al., 2019 (13).

Es necesario tener en cuenta que cualquier consideración para expandir un panel de enfermedades debe involucrar un proceso riguroso de toma de decisiones que equilibre los beneficios con los riesgos de daños potenciales (14). Sin embargo, debemos ir abandonando la rigidez inicial de los principios de Younger y Wilson (15), que fueron adecuados para una época determinada, pero se deben ir adaptando a medida que avanzan los conocimientos. Actualmente, la tasa de diagnóstico sobre determinadas enfermedades, que hace unos años ni tan solo se conocían, ha aumentado, lo que influye directamente en un mejor conocimiento de la historia natural de la enfermedad, en el conocimiento de nuevos biomarcadores, en la posibilidad de nuevos tratamientos, así como en otros factores que conlleven un claro beneficio en cuanto a un mejor pronóstico y una mejor calidad de vida (16).

Así por ejemplo, los principios de Younger y Wilson modificados, que se han utilizado en Catalunya y en otras CCAA, para revisar el programa de cribado neonatal son los siguientes:

- Que la enfermedad dé lugar a una severa morbilidad o mortalidad si no se diagnostica precozmente.
- Que exista un tratamiento eficaz o paliativo que mejore la calidad de vida del recién nacido.
- Que la incidencia de la enfermedad sea relativamente elevada por sí sola, o bien en combinación con aquellas que se detecten en el mismo proceso analítico.
- Que el test sea rápido, sensible, específico y aplicable a grandes masas de población.

Por otro lado, el programa debía responder a ciertos criterios establecidos por Andermann et al. (17, 18) que se mencionan a continuación.

- Los objetivos y evaluación del programa han de estar definidos desde el principio.
- Tiene que existir una evidencia científica de la efectividad del programa.
- El programa tiene que integrar las pruebas de laboratorio, incluyendo el diagnóstico, tratamiento, evaluación y seguimiento clínico.
- El programa debe tener una garantía de calidad adecuada, así como unos indicadores que garanticen dicha calidad (edad al diagnóstico, edad inicio del tratamiento etc.).
- El programa ha de garantizar la elección informada, confidencialidad y respeto a la autonomía.
- Los beneficios globales del programa han de ser superiores a los daños.

## **BASES DE LA TECNOLOGÍA UTILIZADA PARA LA EXPANSIÓN DE LOS PROGRAMAS DE CRIBADO NEONATAL: ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TÁNDEM (MS/MS)**

La espectrometría de masas es una técnica analítica que permite la identificación y cuantificación de múltiples analitos en una muestra biológica. Un

espectrómetro de masas es un instrumento que opera bajo vacío produciendo partículas cargadas (iones) a partir de moléculas. Posteriormente, estos iones se analizan proporcionando información sobre el peso molecular del compuesto y también de su estructura química. Existen muchos tipos de espectrómetros de masas que permiten analizar una amplia gama de moléculas: desde gases y moléculas de pequeño tamaño hasta proteínas.

En cribado neonatal se utiliza la espectrometría de masas en tandem, este es un instrumento que tiene más de un analizador, generalmente dos (en tandem). Esta metodología es altamente específica y sensible y es el método de elección para obtener resultados cuantitativos. En este caso, la molécula bajo análisis debe ser conocida y debe haber sido bien caracterizada previamente. De esta forma, se pueden analizar muchos compuestos a la vez y en un tiempo muy corto, aproximadamente 2 minutos por muestra. Además, la medida de múltiples metabolitos permite la valoración de uno respecto a otro, lo que mejora la especificidad analítica (19), evitando falsos positivos y sobretodo falsos negativos. Así por ejemplo, en el programa de Catalunya se monitorizan 96 parámetros para la detección de 20 enfermedades en 2 minutos por muestra. Por todo ello, MS/MS se ha convertido actualmente en la metodología de elección para el cribado neonatal de las acidurias orgánicas, deficiencias de la beta-oxidación mitocondrial y trastornos de los aminoácidos.

## HERRAMIENTAS POST-ANALÍTICAS EN LOS PROGRAMAS DE CRIBADO NEONATAL AMPLIADOS

De la misma forma que no se puede hablar de los inicios del cribado neonatal sin mencionar a Asbjørn Følling, tampoco se puede hablar del cribado neonatal ampliado sin mencionar a Piero Rinaldo, Co-director del laboratorio de Genética Bioquímica de la Clínica Mayo (Rochester, Minnesota). Piero Rinaldo ideó unas herramientas de interpretación post-analítica que han ayudado de forma decisiva a la implementación de dichos programas en todo el mundo (CLIR 2.09; <https://clir.mayo.edu>). CLIR es una aplicación web de segunda generación que mantiene una base de datos interactiva de resultados de múltiples laboratorios de cribado. Las herramientas CLIR son aplicables ya sea al diagnóstico de una determinada entidad o al diagnóstico diferencial entre dos entidades con fenotipos superpuestos, etc. El acceso a CLIR está disponible gratuitamente para usuarios que deseen compartir sus datos de referencia y perfiles de casos

positivos. El objetivo de la colaboración y del intercambio de datos es mantener una validación clínica en constante evolución y mejora. El modelo estadístico que se lleva a cabo dentro de CLIR requiere una gran cantidad de datos con el fin de mejorar el valor predictivo positivo de las enfermedades sujetas a cribado.

## MARCADORES BIOQUÍMICOS PRIMARIOS

Los marcadores bioquímicos primarios son aquellos mediante los que se inicia el cribado de las enfermedades. Por ejemplo, fenilalanina para PKU, glutarilcarnitina para aciduria glutárica tipo I, etc. En algunos casos los marcadores primarios son muy específicos y aunque siempre se ha de realizar un análisis de confirmación, los resultados son muy característicos, de forma que los falsos positivos son mínimos. Sin embargo, en muchas ocasiones estos marcadores no son específicos de una enfermedad concreta, si no de varias. Además, estos pueden estar alterados por otras causas no genéticas (20, 21). En estos casos, para tratar de averiguar la causa de su alteración se solicita una segunda muestra. El problema de esta solicitud es la angustia que se genera en los padres hasta obtener el segundo resultado, además de ocasionar un retraso en el inicio del tratamiento en los casos positivos.

En algunos programas se ha hecho el esfuerzo de incluir un marcador secundario o de segundo nivel para aquellos casos en que sea necesario. El análisis del marcador de segundo nivel se realiza en la muestra de sangre en papel inicial, de forma que al día siguiente de haber encontrado una alteración en el marcador primario tengamos ya el resultado del marcador secundario. Todo ello, sin haber angustiado a los padres de forma innecesaria.

## MARCADORES DE SEGUNDO NIVEL

La utilización de los marcadores de segundo nivel en los programas de cribado neonatal está ampliamente aceptada (16, 22). En este apartado vamos a ilustrar su utilidad en el caso de la acidemia metilmalónica, acidemia propiónica y homocistinuria. La detección de estas enfermedades se realiza habitualmente mediante el análisis de propionilcarnitina (C3), metilmalonilcarnitina (C4DC), metionina (Met) y de las relaciones C3/acetilcarnitina (C3/C2) y C3/Met. Sin embargo, debido a la alta tasa de falsos positivos, se requiere el uso de ácido metilmalónico (MMA), ácido metilcítrico (MCA) y homocisteína (Hcys) como prueba de segundo nivel (21, 22). Estos marcadores están altera-

dos tanto si su origen es genético como si es adquirido. La causa adquirida más común es la deficiencia de vitamina B12 en recién nacidos cuya madre es vegetariana estricta. Estos recién nacidos si no se detectan y tratan, pueden llegar a tener manifestaciones clínicas tan graves como las causadas por las enfermedades genéticas (23-25). En Catalunya, a finales de 2014, se estableció la metodología analítica para realizar las pruebas de segundo nivel en las enfermedades que se han mencionado arriba. Los resultados finales sobre un total de 258.345 recién nacidos fueron:

- 142 deficiencias adquiridas de vitamina B12, en todos los casos se confirmó la deficiencia tanto en la madre como en el niño. Los recién nacidos fueron tratados con vitamina B12 y se advirtió a las madres de la necesidad de tomar una dieta adecuada mientras su hijo recibiera alimentación materna.
- 21 recién nacidos con una causa genética, entre ellas, 4 acidemias metilmalónicas con homocystinuria (tipo CblC), 1 deficiencia del receptor de transcobalamina (TCR), 7 acidemias metilmalónicas aisladas (1 CblA, 1 CblB y 5 MUT), 1 acidemia metilmalónica combinada con acidemia malónica (ACSF3), 4 acidemias propiónicas (PA), 1 defecto de SUCLA2 y 4 homocistinurias (CBS).
- 14 falsos positivos, un número muy bajo ya que ni tan solo llega al 0,0055% del total de recién nacidos.

Este estudio nos ha permitido desvelar la elevada incidencia de deficiencias adquiridas de vitamina B12 (aproximadamente 1:2.000), similar a la de un estudio reciente en población alemana (21) mientras que la incidencia de las alteraciones genéticas para las enfermedades arriba mencionadas es de 1:13.613. Cabe señalar que entre las alteraciones genéticas encontramos tres (TCR, ACSF3 y SUCLA2) que no estaban incluidas en nuestro panel principal y su diagnóstico se ha obtenido gracias al análisis genético a través de la secuenciación del exoma.

Por lo tanto, los programas de cribado neonatal ampliados mediante MS/MS se convierten en una herramienta útil para la detección temprana de deficiencias adquiridas. Por otro lado, en la búsqueda de la causa genética de estas enfermedades obtenemos un beneficio secundario al aplicar técnicas de secuenciación masiva en lugar de la clásica secuenciación Sanger, que como en este caso, ha dado lugar al diagnóstico incidental de pacientes con enfermedades no

incluidas en el programa. Estos hallazgos han hecho posible iniciar en algunos casos un tratamiento precoz, lo que permitirá en un futuro conocer el beneficio del mismo.

En otros casos, en que se han dado estos hallazgos incidentales, no existe todavía un tratamiento, pero el diagnóstico evitará la odisea familiar y facilitará el acceso a un consejo genético adecuado (26). Estos casos ilustran la importancia de continuar investigando un hallazgo inexplicable e incidental con el fin de contribuir al avance del conocimiento o a la descripción de nuevas enfermedades tal como ha sido descrito recientemente (27).

## CRIBADO METABOLÓMICO DE ÚLTIMA GENERACIÓN: INTEGRACIÓN DE LAS ÓMICAS

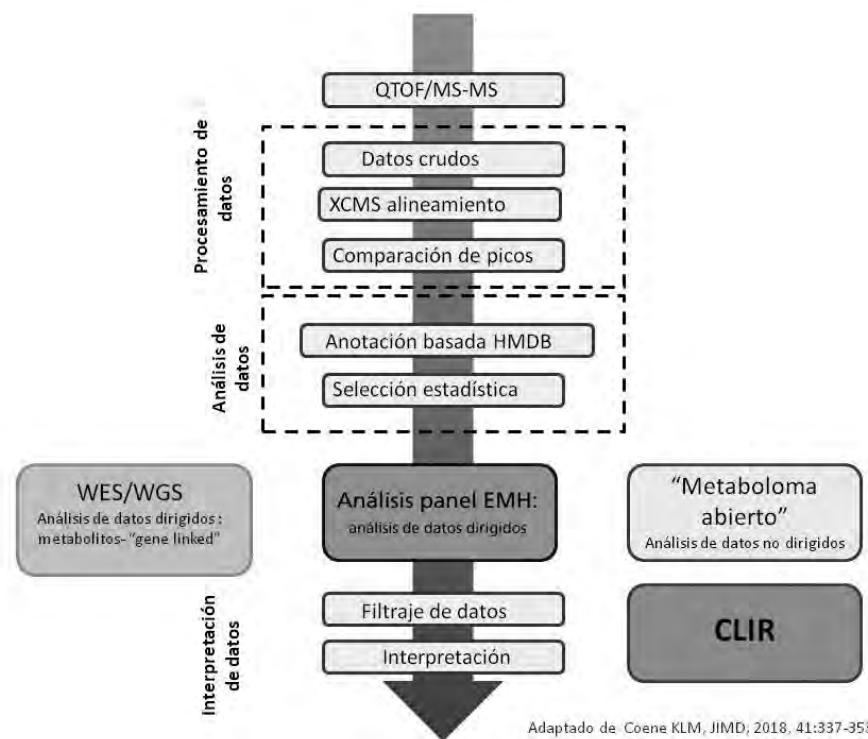
La integración de todas las ómicas ha iniciado ya su andadura (28) en los siguientes aspectos:

- Búsqueda de la causa genética o epigenética de una enfermedad.
- Interpretación de variantes genéticas de significado incierto.
- Identificación de biomarcadores diagnósticos para nuevas enfermedades.
- Búsqueda de biomarcadores (genéticos, bioquímicos, proteómicos....) para seguimiento de enfermedades.

La implementación de la secuenciación del exoma al diagnóstico clínico ha generado la necesidad de una evaluación funcional de las variantes genéticas. Es decir, es necesario averiguar si una variante determinada es una mutación que pueda causar enfermedad o bien es un polimorfismo. Por tanto, el estudio funcional mediante metabolómica o proteómica será de gran utilidad además de imprescindible para las variantes de significado incierto.

Actualmente existen plataformas de cribado metabolómico de última generación que son capaces de detectar más de 10.000 características en cada muestra (28). Las características identificadas en las muestras de pacientes y de controles se alinean y se anotan utilizando la base de datos del Metaboloma Humano, siguiendo el esquema de la figura 1. Posteriormente se realizan pruebas estadísticas para identificar concentraciones de metabolitos significativamente alterados. Estos datos se pueden analizar en un contexto metabolómico dirigido, es decir, se estudian unos determinados metabolitos previamente

**Figura 1.** Flujo de trabajo en cribado metabólico de última generación.  
Esquema adaptado de Coene et al., 2018 (28).



establecidos, o bien se pueden analizar en un contexto no dirigido, o análisis abierto del metaboloma. Este último análisis, si bien es complejo, conduce a la identificación de nuevos biomarcadores. Probablemente, este sea uno de los caminos a seguir en el laboratorio de diagnóstico, máxime si se integran los datos genómicos con los metabolómicos para facilitar la interpretación de variantes genéticas. Todavía existen muchos desafíos técnicos para que este sistema pueda adaptarse al cribado neonatal de forma inmediata, pero estamos convencidos de que la integración y confluencia del conocimiento en grandes bases de datos es el camino a seguir.

Actualmente se conocen por lo menos 100 enfermedades metabólicas hereditarias con posibilidad de tratamiento. Por ello, es previsible que a medida que avance el conocimiento técnico se vayan incorporando nuevas enfermedades al

cribado neonatal. Las enfermedades lisosomales son buenas candidatas, pero el cribado bioquímico no es sencillo y es necesario incluir siempre marcadores de segundo nivel como son las determinaciones enzimáticas o estudios moleculares. Todo ello, para evitar el elevado número de falsos positivos que se podrían derivar (29).

Por otro lado, además del cribado metabólico (indicando que podría tener un marcador bioquímico) otras enfermedades, sin marcadores bioquímicos, pero con marcadores genéticos, tales como, la inmunodeficiencia combinada severa (SCID) o la atrofia muscular espinal (AME) son ya una realidad en cribado neonatal.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a José Luis Marin, Rosa Maria Lopez, Sonia Pajares, Ana Argudo, José Manuel Gonzalez de Aledo, Judit Garcia y Laura Gort la colaboración y trabajo conjunto realizado en beneficio de los pacientes y del programa de cribado neonatal de Catalunya.

## *Referencias*

1. Scriver, C.R. y Kaufman, S. Hyperphenylalaninemia: Phenylalanine hydroxylase deficiency. En: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, eds. The metabolic and molecular basis of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill Inc; 2001. p. 1667-724.
2. Følling, A. y Mohr, O.L. y Ruud, L. Oligophreniaphenylpyruvica. A recessive syndrome in man. Skrifter Det Norske Vitenskapsakademi Oslo. Mat Naturv Klasse 1945; 13:1-44.
3. Følling, I. The discovery of phenylketonuria. Acta Paediatrica 1994; 407:4-10.
4. Bickel, H.; Gerrard, E. y Hickmans, M. Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. Lancet 1953; 265:812-813.
5. Guthrie, R. y Susi, R. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. Pediatrics 1963; 32:338-343.

6. Millington, D.S.; Kodo, N.; Norwood, D.L, y Roe, C.R. Tandemmass spectrometry: A newmethod for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inherit Metab Dis* 1990; 13:321-324.
7. Chace, D.H.; Di Perna, J.C. y Naylor, E. Laboratory integration and utilization of tandem mass spectrometry in neonatal screening: A model for clinical mass spectrometry in the next millennium. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88:45-47.
8. Watson, M.S.; Mann, M.Y.; Lloyd-Puryear, M.A.; Rinaldo, P. y Howel, I.R. Newborn screening:Towards a uniform screening panel and system. *Genet Med* 2006; 8:12S-252S.
9. Advisory Committee on Heritable Disorders in Newborns and Children - Recommended Uniform Screening Panel. Disponible en: <https://www.hrsa.gov/advisorycommittees/mchbadvisory/heritabledisorders/recommendedpanel/index.html>.
10. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienester Social. Programas de Cribado neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas. Madrid: MSCBS; 2017. Disponible en: <http://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/cribadoNeonatal.htm>.
11. Ministerio della Salute. Disposizioni per l'avvio dello screening neonatale per la diagnosi precoce di malattie metaboliche ereditarie. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana. Decreto 13 ottobre 2016 [consultado 11 Sep 2018]. Disponible en: <http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2016/11/15/16A08059/sg>.
12. Cornel, M.C.; Rigter, T. y Weinreich, S.S. A frameworktostart thedebate on neonatal screening policies in the EU: An ExpertOpinion Document. *Eur J Hum Genet* 2014; 22:12-17.
13. Castiñeras, D.E.; Couce. M.L.; Marin, J.L.; González-Lamuño, D. y Rocha, H. Situación actual del cribado neonatal de enfermedades metabólicas en España y en el mundo. *An Pediatr* 2019; 91:128.e1-128.e14.
14. Raffle, A. y Gray, M. Screening: EvidenceandPractice. Oxford:Oxford University Press; 2007.

15. Wilson, J.M.G. y Jungner, G. Principles and Practice of Screening for Disease. WHO Chronicle 1968; 22(11):473.
16. Neonatal Screening for Inherited Metabolic Diseases in 2016. Villoria, J.G.; Pajares, S.; López, R.M.; Marin, J.L. y Ribes, A. Semin Pediatr Neurol. 2016; 23(4):257-272.
17. Andermann, A.; Blancquaert, I.; Beauchamp, I. y Déry, V. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years. Bulletin of the World Health Organization, April 2008, 86 (4).
18. Andermann, A.; Blancquaert, I. y Déry, V. (2010). Genetic screening: a conceptual framework for programmes and policy-making. J Health Ser Res Policy 15(29: 90-97).
19. McHugh, D.; Cameron, C.A.; Abdenur, J.E.; Abdulrahman, M.; Adair, O. y Al Nuaimi, S.A. et al. Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: a worldwide collaborative Project. Genet Med 2011; 13(3). 230-254.
20. Gramer, G.; Fang-Hoffmann, J.; Feyh, P.; Klinke, G.; Monostori, P. y Okun, J.G. et al. High incidence of maternal vitamin B12 deficiency detected by newborn screening: First results from a study for the evaluation of 26 additional target disorders for the German newborn screening panel.
21. Gramer, G.; Fang-Hoffmann, J.; Feyh, P.; Klinke, G.; Monostori, P. y Müttze, U. et al. Newborn screening for vitamin B12 deficiency in German-strategies, results and Public health implications. J Pediatr 2020; 216: 165-172.
22. Weis, K.J.; Röschinger, W.; Blessing, H.; Lotz-Havla, A.S.; Schiergens, K.A. y Maier, E.M. Diagnostic challenges using a 2-tier strategy for methylmalonic acidurias: Data from 1.2 million dried blood spots. Ann Nutr Metab 2020, DOI 10.1159/000508838.
23. Guez, S.; Chiarelli, G.; Menni, F.; Salera, S.; Principi, N. y Espostio, S. Severe vitamin B12 deficiency in an exclusively breastfed 5-month-old Italian infant born to mother receiving multivitamin supplementation during pregnancy. BMC Pediatr. 2012; 12:85-90.

24. Marble, M.; Copeland, S.; Khanfar, N. y Rosenblatt, D.S. Neonatal vitamin B12 deficiency secondary to maternal subclinical pernicious anemia: identification by expander newborn screening. *J Pediatr* 2008; 152: 731-733.
25. Weiss, R.; Fogelman, Y. y Bennett, M. Severe vitamin B12 deficiency in an infant associated with a maternal deficiency and a strict vegetarian diet. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2004; 26-270-271.
26. Pajares, S.; López, R.M.; Gort, L.; Argudo-Ramírez, A.; Marín, J.L. y González de Aledo-Castillo, J.M. et al. An incidental finding in newborn screening leading to the diagnosis of a patient with ECHS1 mutations. *Mol Genet Metab* 2020; 22, 100553.
27. Yahyaoui, R.; Blasco-Alonso, J.; Gonzalo-Marín, M.; Benito, C.; Serrano-Nieto, J. y González-Gallego, I. et al. Metabolic serendipities of expanded newborn screening . *Genes* 2020, 11, 1018; doi:10.3390.
28. Coene, K.L.M.; Kluijtmans, L.A.J.; Van der Heeft, E.; Engelke, U.F.H.; de Boer, S. y Hoegen, B. et al. Next-generation metabolic screening : targeted and untargeted metabolomics for the diagnosis of inborn errors of metabolism in individual patients. *J Inherit Metab Dis* 2018; 41:337-353.
29. Sanders, K.A.; Gavrilov, D.K.; Oglesbee, D.; Raymond, K.M.; Tortorelli, S. y Hopwood, J.J. et al. A comparative effectiveness study of newborn screening methods for four lysosomal storage disorders. *Int J Neonatal Screen.* 2020; 6(2):44. doi: 10.3390.

# EL VALOR DE LA GENÉTICA EN EL CRIBADO DE ENFERMEDADES METABÓLICAS HEREDITARIAS

Belén Pérez

Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares. Centro de Biología Molecular,  
CIBER de Enfermedades Raras, ISCIII, Madrid.  
IdiPAZ. Universidad Autónoma de Madrid.

## RESUMEN

El cribado neonatal es un programa de salud pública que permite la detección precoz, en recién nacidos, de defectos tratables. El cribado de enfermedades metabólicas hereditarias representa un paradigma en cuanto a la posibilidad de detectar deficiencias en los primeros **días de vida**, lo que permite aplicar terapias tempranas que evitan el daño neurológico irreversible y, por tanto, cambiar la historia natural de la enfermedad. El cribado de metaboliopatías comenzó hace 50 años con la detección de la fenilcetonuria y ha sido eficientemente ampliado en los últimos años a más de 30 patologías diferentes mediante un sistema sensible y eficaz de detección, en una sola prueba, de más de 50 metabolitos (aminoácidos y acilcarnitinas) por espectrometría de masas en tandem. El programa se completa con la confirmación del defecto utilizando tecnologías bioquímicas como prueba de segundo nivel y en algunos laboratorios una confirmación genética.

En este capítulo describimos la validez y utilidad clínica de los estudios genéticos como pruebas de segundo nivel tras la detección de un defecto en el programa de cribado neonatal y además, basado en la experiencia adquirida como prueba confirmatoria, debatimos y exploramos la posibilidad de ampliar el cribado neonatal a otras enfermedades metabólicas mediante pruebas de secuenciación masiva. Se discute las posibles enfermedades a cribar, los criterios de selección, la tecnología más adecuada y el coste-eficiencia de la prueba.

## INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de los programas de detección de recién nacidos (NBS, por sus siglas en inglés) es diagnosticar trastornos genéticos de forma temprana, permitiendo que el tratamiento comience antes de que aparezcan los síntomas. Entre las patologías que se criban están los errores innatos del metabolismo (EIM) que constituyen un grupo fenotípico y genéticamente muy heterogéneo de trastornos hereditarios. Los EIM individualmente son consideradas enfermedades raras, según la definición de la Unión Europea, aunque colectivamente se ha estimado una frecuencia global de 1:1000 nacimientos [1].

Estas patologías son debidas a defectos en genes que codifican por proteínas, enzimas o transportadores implicados en vías o procesos metabólicos. En muchos de estos casos el defecto puede ser detectado por un biomarcador diagnóstico [2] característica que hasta hace pocos años era el distintivo de estas patologías. Sin embargo, en los últimos años, gracias a los avances de la genómica se han ido describiendo multitud de nuevos defectos que no son fácilmente detectables por biomarcadores pero que de forma indirecta afectan a procesos metabólicos, lo que ha permitido ampliar sustancialmente el número de defectos que se clasifican como EIM [3]. Hasta la fecha se han identificado más de 1.000 EIM diferentes [4]. Estos se clasifican en base a la ruta metabólica afectada, ya sea por afectación del enzima principal o por deficiencias en cualquier elemento activo o de soporte de la ruta en cuestión, como por ejemplo defectos en la chaperona DNAJC12 que cursan con hiperfenilalaninemia [5], o defectos en la actividad del factor de transcripción HCFC1 asociado a aciduria metilmalónica combinada con homocistinuria [6], no siendo ninguno de los dos enzimas, provocan un defecto que afecta a la homeostasis metabólica.

El cribado neonatal es un programa de atención médica que se mantiene durante toda la vida del paciente, por lo que no es una prueba aislada. Este programa incluye la información a las familias antes de la toma de muestras, la recogida de las muestras de sangre impregnada en papel de todos los recién nacidos en los centros hospitalarios, su transporte a los centros de cribado, la confirmación de las sospechas en centros especializados y el seguimiento de los pacientes durante toda su vida. Dentro de las enfermedades que se criban, la detección de la fenilcetonuria (PKU) por deficiencia en la fenilalanina hidroxilasa (PAH) es un excelente ejemplo. El diagnóstico de la PKU durante los primeros días de vida permite la implementación de una terapia adecuada

evitando secuelas neurológicas irreversibles. En España, el cribado de PKU y otras aminacidopatías comienza en 1968 en Granada, gracias al empeño del Prof. Mayor Zaragoza y de su discípula la Prof. Magdalena Ugarte. Acabamos de cumplir 50 años de la detección de los primeros casos de PKU en nuestro país y son muchos los ejemplos que evidencian la importancia que ha tenido la detección temprana de esta patología.

El cribado neonatal no es una prueba diagnóstica, sino una prueba que permite la sospecha de una posible patología y, por lo tanto, debe ser confirmada por otros métodos bioquímicos y/o genéticos. Así, además de centros de cribado se necesitan centros de referencia, como el Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares. Una vez detectado un posible positivo se traslada el caso a los hospitales de referencia que son los que determinan las pruebas bioquímicas y/o genéticas que se deben realizar. En la era de la medicina de precisión, la combinación de ambas pruebas está dirigiendo de forma racional y muy satisfactoria la implementación personalizada de las terapias disponibles.

La segunda revolución del cribado llega en la década de los 90 de la mano del desarrollo tecnológico de la espectrometría de masas (MS-MS), que permitió la ampliación del programa a otras patologías metabólicas. En una sola prueba mediante un sistema sensible y eficaz de cuantificación en sangre impregnada en papel de más de 50 metabolitos (aminoácidos y acilcarnitinas), es posible la detección de más de una treintena de enfermedades metabólicas diferentes causadas por defectos genéticos en un centenar de genes. Entre estas patologías están la tirosinemia, la acidemia propiónica, la aciduria metilmalónica, o la deficiencia en acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCADD). Es una tecnología rápida y coste-efectiva, casi 100% sensible para la detección de la hiperfenilalaninemia (HPA) y MCADD, y muestra una sensibilidad muy alta para acidurias orgánicas de inicio temprano, defectos de oxidación de ácidos grasos y varios aminoácidopatías. Sin embargo, para la homocistinuria y la tirosinemia tipo I, no es tan sensible [7]. Otros trastornos detectados usando diferentes técnicas, por ejemplo, galactosemia, deficiencia de biotinidasa, enfermedad de Pompe y mucopolisacaridosis tipo I, están incluidos de forma heterogénea en algunos programas de cribado, pero no de forma uniforme ni en nuestro país ni en otros países [8].

Una vez identificado un posible defecto en las pruebas de primer nivel, la de segundo nivel para su confirmación es una prueba bioquímica, que implica entre otras la cuantificación de aminoácidos, homocisteína, acilcarnitinas o ácidos or-

gánicos [9]. Estos estudios, además de confirmar la posible deficiencia, permiten identificar algunos defectos con más precisión dirigiendo la aplicación terapéutica de una forma rápida. En muchos casos se realizan estudios bioquímicos diferenciales más complejos, ya que ciertos biomarcadores están relacionados con defectos en diferentes genes (trastornos de heterogeneidad de locus). En casos de HPA, por ejemplo, el análisis de pterinas en la orina y la determinación de la actividad de la dihidropteridina reductasa (DHPR) en sangre impregnada en papel (DBS por sus siglas en inglés) puede proporcionar una idea de qué gen podría estar afectado [10], pudiendo diferenciar entre los defectos en PAH o la co-chaperona DNAJC12 de los defectos en síntesis y regeneración del cofactor tetrahidrobioptérica (BH4), que requieren de un tratamiento diferente a la PKU.

Para confirmar el diagnóstico la prueba definitiva es genética. Además de confirmar la patología, la identificación de una variante puede revelar la necesidad de un tratamiento específico, como la administración de sapropterina (derivado de la BH4) en la PKU o vitamina B<sub>12</sub> en algunos defectos de la cobalamina [10, 11], ya que ambos tratamientos son específicos de mutación. Un ejemplo clásico es la detección de la HPA y la necesidad de confirmar genéticamente los casos detectados, ya que la terapia es específica del gen afectado e incluso de las mutaciones que causan el defecto. Así, la elevación del aminoácido fenilalanina en sangre, es debido en el 98% de los casos a un defecto en la proteína PAH causante de la PKU, pero también puede ser debido a defectos en otros cinco genes diferentes implicados en la síntesis y regeneración de su cofactor tetrahidrobioptérica (BH<sub>4</sub>), con terapias diferentes a la prescrita para la PKU [12]. En el caso de la PKU la detección de las variantes patogénicas determina la posible respuesta al tratamiento con sapropterina [13]. Por lo tanto, los estudios genéticos tienen un valor clínico indiscutible, no solo diagnóstico si no también terapéutico, y por ello deberían ser aplicados obligatoriamente como prueba de confirmación diagnóstica.

Hasta hace cinco años, el estándar de oro para la confirmación genética era la secuenciación gen por gen mediante la secuenciación convencional por Sanger. Sin embargo, la secuenciación masiva (NGS, por sus siglas en inglés) ha revolucionado el análisis genético, ya que podemos secuenciar desde cientos hasta miles de genes o incluso el genoma completo de una forma rápida y económica. Esta tecnología está recibiendo una especial relevancia en los trastornos con heterogeneidad de locus como es el caso de los defectos lisosomales, los defectos peroxisomales, defectos de glicosilación o las patologías mitocondriales, entre otras [14].

En este trabajo vamos a recoger las oportunidades que presenta la aplicación de la secuenciación masiva como prueba confirmatoria después de la detección de los defectos por MS-MS, así como la posibilidad de aplicar la NGS como prueba de primer nivel para ampliar la detección de defectos metabólicos “accionales o intervenibles”, que por no poseer un biomarcador detectable por espectrometría de masas, no están incluidos en los programas de cribado y sin embargo, se beneficiarían de un diagnóstico temprano.

## PRUEBAS DE SEGUNDO NIVEL EN CRIBADO NEONATAL: EL VALOR DE LOS ESTUDIOS GENÉTICOS

Con el propósito de evaluar la validez de los estudios genéticos como prueba de segundo nivel tras la detección de los casos detectados en el programa de cribado neonatal, nuestro grupo ha realizado y publicado un estudio prospectivo de casos positivos del cribado neonatal utilizando diferentes aproximaciones de secuenciación masiva [15]. Los resultados han puesto de manifiesto las ventajas y la utilidad de la genética para confirmar los casos con sospecha, pero han evidenciado la necesaria combinación de estos análisis con estudios de metabolómica dirigida o no dirigida para confirmar la significancia clínica de las variantes que se identifican [16, 17].

Los resultados sugieren que la utilización de paneles de genes, diseñados por el profesional en base al conocimiento científico en el momento del diseño, permite en la mayoría de los casos confirmar el diagnóstico. En concreto, el uso de un panel de captura de genes causantes de EIM permitió confirmar la sospecha diagnóstica, sin pruebas bioquímicas adicionales, en cerca del 70% de los casos remitidos desde los diferentes centros de cribado. En estos casos la presencia de una variante patogénica o previsiblemente patogénica según las reglas del ACMG (*American College of Medical Genetics*) permitió, sin pruebas bioquímicas adicionales, confirmar la sospecha diagnóstica [18]. Se confirmaron casos con dos variantes bialélicas patogénicas o probablemente patogénicas en los trastornos recesivos (p.ej., *PAH*, *ACADM*, *VLCAD*...), por la presencia de una variante patogénica en casos con patologías asociadas a una herencia autosómica dominante (*MAT1*) o ligados al cromosoma X (*OTC*). Sin embargo, en los casos con variantes nuevas de significado clínico incierto las pruebas bioquímicas fueron indispensables para verificar la patogenicidad de los cambios.

Es de destacar que gracias a la aplicación de este panel personalizado se identificaron casos con defectos en dos genes diferentes pero involucrados en la misma ruta metabólica. En concreto, se identificaron variantes patogénicas monoalélicas en genes diferentes asociados a defectos en la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos. Estos resultados ponen en evidencia la utilidad de la secuenciación masiva, ya que permite secuenciar todos los genes implicados en la misma ruta metabólica frente a la secuenciación gen a gen que no permitiría concluir con el diagnóstico. En estos casos de incertidumbre diagnóstica los estudios bioquímicos juegan un papel crucial, ya que permiten confirmar si ambas variantes patogénicas son causantes de la sospecha diagnóstica [19]. La combinación de las pruebas genéticas y su confirmación bioquímica fueron en estos casos esenciales para determinar la necesidad de mantener en seguimiento y/o tratamiento a los pacientes.

Una de las causas de conseguir confirmar la patología detectada en el cribado ha sido debida a la alta tasa de falsos positivos asociados a determinadas patologías, detectándose una variante o incluso ninguna variante patogénica. La mayoría de los falsos positivos estaban relacionados con defectos de la  $\beta$ -oxidación mitocondrial de ácidos grasos. Un ejemplo interesante es la deficiencia en acil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (VLCADD) ya que, tras el análisis de 22 casos detectados en cribado, solo 3 presentaban variantes bialélicas en el gen *ACADVL* siendo el resto falsos positivos (12 portadores de una variante y 7 sin mutaciones). En estos casos, la elevación leve en las muestras de plasma de confirmación de las acilcarnitinas específicas y la medida de la actividad enzimática ayudó a descartar la presencia de variantes en las secuencias no analizadas (regiones intrónicas, secuencias reguladoras, grandes delecciones, etc.) [20]. Una explicación para esta elevada tasa de falsos positivos es debida a la leve acumulación de acilcarnitinas asociada a la activación de la oxidación de los ácidos grasos mitocondriales en los primeros días de vida [21]. En estos casos la detección de niveles de otros biomarcadores como octanoil-carnitina (C8) y tetradecenoyl-carnitina (C14:1) probablemente reduciría la detección de falsos positivos. Recientemente también se ha propuesto una aproximación de *machine learning* para reducir la alta tasa de falsos positivos en esta patología [22].

El panel de genes no permite identificar en muchos casos las variantes causantes de patología, ya que se describen de forma permanente nuevos genes asociados a fenotipos clínicos y/o bioquímicos conocidos [4]. Así, utilizando paneles extensos de genes se detectaron nuevos defectos asociados a alteraciones bioquímicas identificables en el cribado neonatal. Es el caso del gen *BCAT2*

asociado a niveles plasmáticos elevados de aminoácidos de cadena ramificada y en contraste con el jarabe de arce con niveles bajos de cetoácidos de cadena ramificada (BCKA) y niveles indetectable de alo-isoleucina [23], o el gen *SLC7A2* asociado a niveles alterados de aminoácidos básicos fenocopia de defectos en *ARG1* [24].

Los estudios genéticos aplicando el exoma clínico (que analiza los genes con evidencias robustas de estar asociados a patología) no tienen una sensibilidad del 100% ya que son ciegos a la detección de variantes intrónicas internas, variantes en regiones reguladoras, epimutaciones etc. Un claro ejemplo es la ausencia de una sensibilidad del 100% en la confirmación de casos con hiperfenilalaninemia por deficiencia en *PTPS*, ya que se han descrito numerosas variantes intrónicas internas [25]. La utilización del genoma permitiría reducir el número de resultados negativos del exoma pero necesitaremos el desarrollo de métodos robustos para identificar variaciones causales fuera de las regiones codificantes y completarlo con otras aproximaciones ómicas como el RNAseq o la metabólica [26].

Todos estos resultados nos han permitido concluir que los estudios genéticos son válidos para confirmar, de una forma eficaz, la sospecha metabólica detectada en el cribado, identificar de forma rápida los falsos positivos, detectar los casos con herencia digénica y finalmente describir nuevos genes y fenotipos metabólicos asociados. Además, es de destacar que los resultados nos permiten confirmar que es importante la utilización de paneles extensos de genes y probablemente cuanto más extensos mayor será la tasa de éxito en la confirmación diagnóstica, ya que se van describiendo con regularidad nuevos genes asociados a patologías descritas y detectables en el programa de cribado. Hasta la fecha, generalmente se han utilizado paneles personalizados debido a la falta de cobertura diagnóstica de la captura de todo el exoma, pero esta última tecnología ha mejorado considerablemente en los últimos años y puede usarse para el diagnóstico genético de enfermedades raras en la práctica clínica [27, 28]. Un claro ejemplo que ilustra la ventaja de la utilización del análisis de exomas frente a la utilización de paneles de genes, es la reciente identificación por este procedimiento del gen *DNAJC12* como causa de hiperfenilalaninemia [29]. *DNAJC12* es una cochaperona que facilita el plegamiento de las tres hidroxilasas de aminoácidos aromáticos, PAH, tirosina hidroxilasa (TH) y triptófano hidroxilasa (TPH). Bioquímicamente es una fenocopia de los defectos en PAH. Una vez identificado *DNAJC12*, la revisión retrospectiva de los casos sin confirmación genética

ha permitido la identificación de numerosos casos con defectos en este gen [30]. Estos resultados han dirigido la revisión del tratamiento, ya que los pacientes con defectos en *DNAJC12*, a diferencia de los defectos en *PAH*, deben tratarse con precursores de neurotransmisores [5].

En cuanto al coste, nadie duda de que la confirmación bioquímica de las condiciones detectadas por espectrometría de masas es más económica que los estudios genéticos [31]. Sin embargo, la necesaria confirmación genética de todos los casos, no solo para el asesoramiento genético sino en la mayoría de los casos para pautar una adecuada intervención terapéutica, sugieren que la tendencia debe ir en la línea de la utilización de los estudios genéticos como prueba de segundo nivel y utilizar la confirmación bioquímica para resolver los casos inciertos.

## CRIBADO GENÉTICO DE ENFERMEDADES METABÓLICAS

En la era de la medicina de precisión resulta un verdadero desafío aumentar el número de enfermedades genéticas detectables en los primeros días de vida. La secuenciación masiva está preparada para acometer este desafío. La utilización de muestras de sangre impregnada en papel para identificación de patologías en recién nacidos asintomáticos es técnicamente posible, por lo que se puede ir ampliando, de forma secuencial, el número de patologías en estudio a medida que avancen los descubrimientos terapéuticos o se describan nuevos genes con evidencia de la relación gen y patología [32]. En cualquier caso, tanto la preparación de las muestras, como la secuenciación y el análisis bioinformático tienen que ser realizados en un corto periodo de tiempo para que, lo antes posible, se pueda aplicar una terapia adecuada que evite secuelas irreversibles [33].

Numerosas enfermedades raras, entre ellas muchos EIM podrían beneficiarse de una detección precoz. Un claro ejemplo es la galactosemia clásica, que aun siendo el sexto trastorno metabólico más común en la población caucasiana, con claros beneficios en cuanto a la aplicación de un tratamiento lo antes posible, no está incluida en la mayoría de los programas de cribado neonatal [34]. La galactosemia clásica es un trastorno autosómico recesivo del metabolismo de los carbohidratos, debido a una deficiencia severa de la enzima galactosa-1-fosfato uridiltransferasa (GALT). Tras el consumo de lactosa en el periodo neonatal, los lactantes afectados desarrollan un proceso de enfermedad potencialmente

letal con afectación multiorgánica, por lo que una detección precoz mejoraría claramente la morbi-mortalidad de esta patología. Por otra parte, hay una clara relación fenotipo-genotipo; determinados genotipos deben ser tratados de inmediato por el riesgo de una sepsis por *E. coli* potencialmente letal, mientras pacientes con otros genotipos requieren tratamiento pero no mueren por sepsis neonatal. Es evidente que, aunque es posible la detección por métodos bioquímicos, la detección de las variantes patogénicas permitiría la aplicación de una terapia personalizada, rápida y eficaz [35, 34].

Otros defectos metabólicos, como los que afectan al metabolismo de moléculas complejas (enfermedades peroxisomales, lisosomales, los trastornos congénitos de la glicosilación, glicogénesis, etc.) o los defectos mitocondriales, también se beneficiarían de una detección precoz mediante un análisis genómico, ya que ninguno cuenta con un biomarcador claro y/o fácil de analizar. En todos los casos, su detección temprana permitiría la aplicación de una terapia de forma rápida sin un debut clínico de variada gravedad [36, 37]. Además de los EIM, otros cientos de patologías genéticas raras también se podrían detectar en los primeros días de vida [37].

Uno de los retos para aplicar la NGS en el cribado neonatal es la elección de la técnica a utilizar. Sin duda, es atractivo el uso de paneles específicos para llegar a un diagnóstico, ya que el número de variables que se identifican es reducido y es más fácil la priorización. Sin embargo, como se ha constatado en las pruebas de segundo nivel, el diagnóstico podría ser erróneo ya que el número de genes asociados a esta patología está en constante aumento [36]. El exoma completo (región del genoma que codifica para proteínas) o la secuenciación del genoma podría representar una buena opción ya que podemos identificar variantes en una proporción de genes amplia [38] además de poder identificar variantes patogénicas en el DNA mitocondrial en el mismo ensayo. El cuello de botella en ambos casos, exoma completo o genoma, es la identificación de las variantes patogénicas entre los miles de cambios que se detectan y distinguir entre los polimorfismos ultra raros (en muchos casos específicos de la población) de las variantes con relevancia clínica. La aplicación del análisis del exoma parece más apropiada, por el número de variantes que se detectan y porque fuera de estas secuencias (2% del genoma) las evidencias de su relación con patología son menos robustas. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el rendimiento diagnóstico de los exomas nunca será del 100%, ya que el análisis de exomas es ciego a la detección de variantes intrónicas internas, variantes en genes que no codifican

para proteínas o epimutaciones [39]; y son poco eficaces en la detección de delecciones [27], o expansión de tripletes [40]. Este problema en la detección de variantes tiene relevancia clínica en niños sintomáticos, pero mucha más en niños asintomáticos ya que el número de falsos negativos puede ser crucial para la aplicación de una terapia adecuada. Para disminuir el número de falsos negativos sería ideal la aplicación de genoma clínico, que permita con métodos bioinformáticos adecuados detectar todos los tipos de variantes en genes con relevancia clínica aportando la ventaja de la posible detección de todas las variantes patogénicas [41, 15]. En resumen, aunque la sensibilidad y especificidad sería mayor aplicando la secuenciación del genoma, ya que conseguiremos poder identificar todas las causas de patología, aumentaríamos la incertidumbre en la generación de informes, por lo que tendremos que llegar a un equilibrio que podría estar en la línea de la secuenciación genómica con una captura virtual de genes asociados a patología (genoma clínico) [42].

Para reducir la incertidumbre y los tiempos de evaluación a la hora de priorizar las variantes se puede hacer una selección racional de los genes que deben ser informados. El siguiente reto es, por tanto, la selección de las patologías y los genes causales que deben incluirse en el cribado o que deben informarse. En este sentido, el proyecto BabySeq, el primer proyecto en marcha para la ampliación del cribado neonatal [43], ha propuesto unos criterios de inclusión para facilitar la interpretación rápida de los resultados en los recién nacidos. Los criterios a tener en cuenta incluyen la relevancia pediátrica, según los criterios del marco de clasificación de validez clínica de ClinGen [44]; la edad de inicio, solo incluyendo patologías de debut pediátrico; la penetración, solo incluyendo patologías con penetrancia completa; y modo de herencia [45]. Estos criterios han permitido crear un listado, que inicialmente contenía cerca de 1.000 genes y que está en continua revisión a medida que se van publicando cada vez más evidencias de la asociación de genes a patología. Entre estos genes propuestos por el proyecto BabySeq están incluidos aproximadamente 200 genes asociados con patologías metabólicas de inicio en la edad pediátrica. En este listado de enfermedades metabólicas se incluye, además de los genes asociados a patologías que se criban actualmente, otros genes asociados a patologías que pueden beneficiarse de la aplicación de un tratamiento temprano, como biotinidasa, galactosemia clásica, algunas glucogenosis, enfermedades peroxisomales, enfermedades lisosomales, defectos congénitos de glicosilación o patologías mitocondriales.

Aunque los criterios son claros, hay que tener en cuenta que existe una falta de consenso sobre qué genes tienen suficiente evidencia clínica para atribuir causalidad en patología. Para solucionar este problema, se ha creado una plataforma denominada PanelApp (<https://panelapp.genomicsengland.co.uk>) que dispone públicamente de paneles genéticos virtuales seleccionados por expertos, donde se revisan los genes asociados a patología de forma continua. Dependiendo del grado de evidencia se incluyen en paneles de más evidencia (paneles verdes) a menor evidencia (paneles rojos) [46].

La identificación de una variante no asegura necesariamente la condición de enfermedad, aunque estas hayan sido clasificadas como patogénicas o probablemente patogénicas por los métodos bioinformáticos que se utilizan en la priorización. Por este motivo, contar con evidencias clínicas o bioquímicas es imprescindible para determinar su relación con patología. En el caso de las enfermedades metabólicas, la posibilidad de complementar los estudios genéticos con un análisis metabólico ayudará a la clasificación de variantes causales con significancia clínica incierta. La gran ventaja de estas patologías es poder identificar y cuantificar metabolitos de forma dirigida, como se hace en la prueba del cribado actual, o no dirigida mediante un sistema de análisis metabolómico de nueva generación [47]. Por ello es muy aconsejable que en enfermedades metabólicas se puedan combinar ambas pruebas, especialmente cuando la confirmación bioquímica es rápida [17].

El cribado neonatal genético no pretende ni puede actualmente sustituir al actual y sensible sistema de cribado por espectrometría de masas, pretende complementar la información de una forma simultánea, aportando la confirmación y detección del gen y las variantes responsables de la sospecha metabólica ya que muchos de los biomarcadores están asociados a patologías genéticamente muy heterogéneas [16, 17]. El uso simultáneo del análisis genómico completo y la detección metabólica de próxima generación (NGMS) se ha propuesto como método para aumentar el número de EIM detectables [47-49]. Estos estudios de metabolómica permitirían verificar el efecto de las variantes potencialmente patogénicas seleccionadas ya que podríamos ver el efecto mediante análisis de biomarcadores.

Compartir toda la información genética y bioquímica obtenida de los estudios en bases de datos curadas, como la Base de datos de recursos del genoma clínico (ClinGen) o la Base de datos de variación Leiden (LOVD), proporcionará datos fiables que ayudarán a reducir el tiempo requerido para interpretar

la importancia de una variante. A medida que avancemos en la secuenciación genómica cada vez serán más ricas las bases de datos que relacionen variantes y fenotipos, lo que agilizará la interpretación de los resultados.

Sin duda, el gran obstáculo para la implementación de forma masiva de un sistema de cribado genético es el coste de la prueba. Los sistemas de salud no pueden asumir, por ahora, los elevados costes de las pruebas, pero su utilización en el entorno de la investigación permitirá tener una base científica para avanzar en esta línea y poder aplicar en un futuro este sistema de prevención cuando los costes se reduzcan.

### *Referencias*

1. Agana, M. et al., *Common metabolic disorder (inborn errors of metabolism) concerns in primary care practice*. Ann Transl Med, 2018. 6(24): p. 469.
2. Pampols, T., *Inherited metabolic rare disease*. Adv Exp Med Biol, 2010. 686: p. 397-431.
3. Morava, E. et al., *Quo vadis: the re-definition of “inborn metabolic diseases”*. J Inherit Metab Dis, 2015. 38(6): p. 1003-6.
4. Ferreira, C.R. et al., *A proposed nosology of inborn errors of metabolism*. Genet Med, 2019. 21(1): p. 102-106.
5. Blau, N. et al., *DNAJC12 deficiency: A new strategy in the diagnosis of hyperphenylalaninemias*. Mol Genet Metab, 2018. 123(1): p. 1-5.
6. Yu, H.C. et al., *An X-linked cobalamin disorder caused by mutations in transcriptional coregulator HCFC1*. Am J Hum Genet, 2013. 93(3): p. 506-14.
7. Wilcken, B. et al., *Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry*. N Engl J Med, 2003. 348(23): p. 2304-12.
8. Martínez-Morillo, E.; B. Prieto García y FV. Álvarez Menéndez, *Challenges for Worldwide Harmonization of Newborn Screening Programs*. Clin Chem, 2016. 62(5): p. 689-98.
9. Vilarinho, L. et al., *Four years of expanded newborn screening in Portugal with tandem mass spectrometry*. J Inherit Metab Dis, 2010. 33 Suppl 3: p. S133-8.

10. Blau, N. et al., *Diagnosis, classification, and genetics of phenylketonuria and tetrahydrobiopterin (BH4) deficiencies*. Mol Genet Metab, 2011. 104 Suppl: p. S2-9.
11. Fowler, B., J.V. Leonard y M.R. Baumgartner, *Causes of and diagnostic approach to methylmalonic acidurias*. J Inherit Metab Dis, 2008. 31(3): p. 350-60.
12. Trujillano, D. et al., *Accurate molecular diagnosis of phenylketonuria and tetrahydrobiopterin-deficient hyperphenylalaninemias using high-throughput targeted sequencing*. Eur J Hum Genet, 2014. 22(4): p. 528-34.
13. Blau, N. y Spronsen, F.J., *Disorders of phenylalanine and tetrahydrobiopterin metabolism*, in *Physician's guide to the diagnosis, treatment and follow-up of inherited metabolic diseases*, N. Blau, Duran, M, Gibson MK, Dionisi-Vici C, Editor. 2014.
14. Liu, Z. et al., *Toward Clinical Implementation of Next-Generation Sequencing-Based Genetic Testing in Rare Diseases: Where Are We?* Trends Genet, 2019. 35(11): p. 852-867.
15. Koboldt, D.C. et al., *The next-generation sequencing revolution and its impact on genomics*. Cell, 2013. 155(1): p. 27-38.
16. Navarrete, R. et al., *Value of genetic analysis for confirming inborn errors of metabolism detected through the Spanish neonatal screening program*. Eur J Hum Genet, 2019.
17. Peng, G. et al., *Combining newborn metabolic and DNA analysis for second-tier testing of methylmalonic acidemia*. Genet Med, 2018.
18. Richards, S. et al., *Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology*. Genetics in Medicine, 2015. 17: p. 405.
19. Vockley, J. et al., *Synergistic heterozygosity: disease resulting from multiple partial defects in one or more metabolic pathways*. Mol Genet Metab, 2000. 71(1-2): p. 10-8.
20. Merinero, B. et al., *Four Years' Experience in the Diagnosis of Very Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency in Infants Detected in Three Spanish Newborn Screening Centers*. JIMD Rep, 2017.

21. Boneh, A. et al., *VLCAD deficiency: pitfalls in newborn screening and confirmation of diagnosis by mutation analysis*. Mol Genet Metab, 2006. 88(2): p. 166-70.
22. Peng, G. et al., *Reducing False-Positive Results in Newborn Screening Using Machine Learning*. Int J Neonatal Screen, 2020. 6(1).
23. Knerr, I. et al., *Expanding the genetic and phenotypic spectrum of branched-chain amino acid transferase 2 deficiency*. J Inherit Metab Dis, 2019. 42(5): p. 809-817.
24. Yahyaoui, R. et al., *A new metabolic disorder in human cationic amino acid transporter-2 that mimics arginase 1 deficiency in newborn screening*. J Inherit Metab Dis, 2019.
25. Brasil, S. et al., *Pseudoexon exclusion by antisense therapy in 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase deficiency*. Hum Mutat, 2011. 32(9): p. 1019-27.
26. Fresard, L. y S.B. Montgomery, *Diagnosing rare diseases after the exome*. Cold Spring Harb Mol Case Stud, 2018. 4(6).
27. Nguyen, M.T. y K. Charlebois, *The clinical utility of whole-exome sequencing in the context of rare diseases - the changing tides of medical practice*. Clin Genet, 2015. 88(4): p. 313-9.
28. Yang, Y. et al., *Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders*. N Engl J Med, 2013. 369(16): p. 1502-11.
29. Anikster, Y. et al., *Biallelic Mutations in DNAJC12 Cause Hyperphenylalaninemia, Dystonia, and Intellectual Disability*. Am J Hum Genet, 2017. 100(2): p. 257-266.
30. Gallego, D. et al., *Pathogenic variants of DNAJC12 and evaluation of the encoded co-chaperone as a genetic modifier of hyperphenylalaninemia*. Hum Mutat, 2020.
31. Schwarze, K. et al., *Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature*. Genet Med, 2018.
32. Boemer, F. et al., *A next-generation newborn screening pilot study: NGS on dried blood spots detects causal mutations in patients with inherited metabolic diseases*. Sci Rep, 2017. 7(1): p. 17641.

33. Berg, J.S. et al., *Newborn Sequencing in Genomic Medicine and Public Health*. Pediatrics, 2017. 139(2).
34. Varela-Lema, L. et al., *Appropriateness of newborn screening for classic galactosaemia: a systematic review*. J Inherit Metab Dis, 2016. 39(5): p. 633-649.
35. Berry, G.T. *Galactosemia: when is it a newborn screening emergency?* Mol Genet Metab, 2012. 106(1): p. 7-11.
36. Narravula, A. et al., *Variants of uncertain significance in newborn screening disorders: implications for large-scale genomic sequencing*. Genet Med, 2017. 19(1): p. 77-82.
37. Pavely, A.R. et al., *Utilization of genomic sequencing for population screening of immunodeficiencies in the newborn*. Genet Med, 2017. 19(12): p. 1367-1375.
38. Botkin, J.R. y E. Rothwell, *Whole Genome Sequencing and Newborn Screening*. Curr Genet Med Rep, 2016. 4(1): p. 1-6.
39. Gueant, J.L. et al., *APRDX1 mutant allele causes a MMACHC secondary epimutation in cblC patients*. Nat Commun, 2018. 9(1): p. 67.
40. van Kuilenburg, A.B.P. et al., *Glutaminase Deficiency Caused by Short Tandem Repeat Expansion in GLS*. N Engl J Med, 2019. 380(15): p. 1433-1441.
41. Alfares, A. et al., *Whole-genome sequencing offers additional but limited clinical utility compared with reanalysis of whole-exome sequencing*. Genet Med, 2018. 20(11): p. 1328-1333.
42. Liu, H.Y. et al., *Diagnostic and clinical utility of whole genome sequencing in a cohort of undiagnosed Chinese families with rare diseases*. Sci Rep, 2019. 9(1): p. 19365.
43. Holm, I.A. et al., *The BabySeq project: implementing genomic sequencing in newborns*. BMC Pediatr, 2018. 18(1): p. 225.
44. Rehm, H.L. et al., *ClinGen--the Clinical Genome Resource*. N Engl J Med, 2015. 372(23): p. 2235-42.
45. Ceyhan-Birsoy, O. et al., *A curated gene list for reporting results of newborn genomic sequencing*. Genet Med, 2017. 19(7): p. 809-818.

46. Martin, A.R. et al., *PanelApp crowdsources expert knowledge to establish consensus diagnostic gene panels*. Nat Genet, 2019. 51(11): p. 1560-1565.
47. Wevers, R.A. and N. Blau, *Think big - think omics*. J Inherit Metab Dis, 2018. 41(3): p. 281-283.
48. Del Mar Amador, M. et al., *Targeted versus untargeted omics - the CAFSA story*. J Inherit Metab Dis, 2018. 41(3): p. 447-456.
49. Van Karnebeek, C.D.M. et al., *The role of the clinician in the multi-omics era: are you ready?* J Inherit Metab Dis, 2018. 41(3): p. 571-582.

# **MEDICINA GENÓMICA Y SALUD PÚBLICA EN EL RECIÉN NACIDO: AMPLIACIÓN DEL CRIBADO NEONATAL A OTRAS PATOLOGÍAS GENÉTICAS RARAS**

Francesc Palau

Servicio de Medicina Genética y Molecular, Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras, Hospital Sant Joan de Déu; Institut Clínic de Medicina i Dermatología, Hospital Clínic; Unidad de Pediatría, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat de Barcelona; y CIBER de Enfermedades Raras, ISCIII, Barcelona.

## **RESUMEN**

El cribado neonatal constituye una acción de salud pública de primera magnitud en el ámbito de la prevención secundaria de las enfermedades de debut en la época neonatal o lactancia, con una cartera básica común del Programa de Cribado Neonatal del SNS en España. Esta aborda siete enfermedades metabólicas, endocrinológicas o hematológicas, ampliadas a un número variable, mayoritariamente de base genética, según la diversas Comunidades Autónomas. Muchas de las enfermedades raras genéticas no tienen un biomarcador específico que pueda ser utilizado en un programa de cribado. Por otro lado, el número de enfermedades ‘accionables’, es decir, en las que una intervención precoz en el nacimiento o en la infancia temprana puede modificar el pronóstico y la acción terapéutica, va en aumento. La secuenciación genómica ha de permitir resolver la cuestión de disponer de un amplio abanico de biomarcadores específicos de enfermedad (los genes y sus variantes genéticas) y un sistema/tecnología único de aplicación a todas ellas (secuenciación masiva o NGS), que sea, además, abordable desde el punto de vista coste-beneficio. Su implementación requiere un esfuerzo importante de diálogo que aborde aspectos médicos, científicos, éticos y económicos en el marco de la salud pública y la prevención de la enfermedad.

## INTRODUCCIÓN

El cribado neonatal constituye una acción en salud pública en el ámbito de la prevención secundaria de las enfermedades de debut en la época neonatal que en España dio sus primeros pasos en 1968 (1). La cartera básica común del Programa de Cribado Neonatal (PCN) del Sistema Nacional de Salud (SNS) en España aborda 7 enfermedades que afectan a diferentes grupos nosológicos y fisiopatológicos, como son las enfermedades metabólicas hereditarias (fenilcetonuria, deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena media [MCADD], deficiencia de 3-hidroxi acil-CoA deshidrogenasa de cadena larga [LCHADD], acidemia glutárica tipo I [GA-I]), enfermedades endocrinológicas (hipotiroidismo congénito), enfermedades hematológicas (anemia falciforme) y la fibrosis quística. Más recientemente se ha incorporado el déficit de biotinidasa (2, 3). En base a este programa, las Comunidades Autónomas han establecido diferentes carteras complementarias con un número variable de enfermedades adicionales (entre 2 y 28). En su conjunto, se trata mayoritariamente de trastornos de base genética, afectando muchos de ellos al metabolismo.

El cribado neonatal es un procedimiento que se aplica de manera estandarizada a la población diana de recién nacidos, en el que la prueba biológica es fundamental. Actualmente, la prueba es de carácter bioquímico (metabolitos, hormonas, proteínas) y permite la detección de un biomarcador en sangre y/u orina, como son los niveles de metabolitos en las enfermedades metabólicas hereditarias (mediante espectrometría de masas en tandem [MS/MS]), la tripsina inmunorreactiva en el caso de la fibrosis quística, los niveles de la hormona TSH para detectar el hipotiroidismo congénito y la determinación de la HbA en la detección de la anemia falciforme (3, 4).

El número de enfermedades ‘accionables o intervenibles’, en las que una intervención precoz en el nacimiento o infancia temprana puede modificar el pronóstico y la acción terapéutica, va en aumento. Y, sin embargo, muchas de las enfermedades raras genéticas no tienen un biomarcador específico que pueda ser utilizado en un programa de cribado.

La secuenciación masiva paralela mediante tecnología NGS (*next generation sequencing*) permite el análisis del genoma en el ámbito del diagnóstico genético y determina la variante patogénica que constituye la causa primera de las enfermedades raras monogénicas. La aplicación al conjunto de los genes humanos y las secuencias intergénicas permite el estudio de la variación genética del indivi-

duo en regiones codificantes, regiones intragénicas no codificantes, secuencias promotoras y regiones intergénicas incluyendo secuencias reguladoras como son los *enhancers* y de los *silencers*. Es los que se conoce en términos de la capacidad de la tecnología NGS como secuenciación del genoma completo (*whole genome sequencing*, WGS), que abarca las 3.300 megabases del DNA humano haploide. Si el estudio se ciñe a las regiones codificantes, es decir el conjunto de exones y las regiones intrónicas flanqueantes, hablamos de secuenciación del exoma completo (*whole exome sequencing*, WES), que nos da información sobre la secuencia del 1,5% del total del genoma. El exoma contiene el conjunto de secuencias donde se concentran el 85%-90% de las variantes genéticas patogénicas o mutaciones. El análisis restringido del exoma a los genes que ya están asociados a alguna patología mendeliana o monogénica constituye otra aproximación diagnóstica que solemos denominar exoma clínico (*clinical exome sequencing*, CES) o mendelioma. Sea como fuere, la variación genética obtenida mediante secuenciación genómica constituye un biomarcador de primer orden para el diagnóstico de las enfermedades genéticas en pacientes de cualquier edad, incluidos recién nacidos y lactantes, y también para ser aplicado en el cribado neonatal. Es por ello que la secuenciación genómica ha de permitir resolver la cuestión de disponer de un amplio abanico de biomarcadores específicos de enfermedad (los genes y sus variantes genéticas) y un sistema/tecnología únicos de aplicación a todas ellas (NGS), que sea abordable desde el punto de vista coste-beneficio.

La incorporación de la secuenciación genómica como parte del cuidado estándar del individuo sano, incluido el recién nacido –distinto a su aplicación en el diagnóstico del paciente enfermo–, es un tema abierto de diálogo en la medicina, la salud pública y la sociedad de hoy en día. Cabe distinguir tres situaciones médicas y de salud en la utilización de la secuenciación genómica: (i) el diagnóstico en el proceso de atención médica; (ii) la prevención en el contexto de la salud pública; y (iii) la predicción como promoción de hábitos saludables y anticipatorios de problemas de salud.

## MEDICINA CLÍNICA: DIAGNÓSTICO

El diagnóstico es una de las tareas más importantes del médico y de la atención sanitaria (5, 6), de modo que, en las sociedades modernas en las que la ciencia y tecnología médicas disponibles proporcionan un elevado nivel de conocimiento sobre la enfermedad y cómo abordarla, junto con la organización y

estructura de los servicios sanitarios públicos que permiten conocer los modos y procesos de enfermar del individuo y de la población, la falta de diagnóstico por no aplicar al enfermo todo el esfuerzo diagnóstico deviene en una cuestión ética (7). En nuestra cultura médica occidental, el diagnóstico de un paciente supone una explicación material (biológica) y racional (mecanística) que se puede comprobar mediante el método científico, especialmente aquellas condiciones que suponen la presencia de una enfermedad orgánica (no quita ello que haya trastornos que vienen condicionados por etiologías socioculturales).

La disfunción fisiológica del individuo es la consecuencia de interacciones gen-ambiente a lo largo del tiempo (8). La enfermedad se puede, pues, considerar una mala adaptación al nicho ecológico que genera una incongruencia entre el fondo genético del individuo, su proceso de desarrollo y su experiencia vital (9). Tales desadaptaciones se caracterizan por alteraciones de la homeostasis genética, del desarrollo y fisiológica (9). El fondo genético no solo se mantiene regulado en el proceso vital, sino que también condiciona el balance bioquímico celular y general (homeostasis fisiológica) y la respuesta a lo largo de la vida del organismo en el ecosistema. Conocer, pues, el genoma de la persona permite diagnosticar la enfermedad genética (variantes de desadaptación) y disponer de elementos que nos informan de las respuestas a la terapia y de la susceptibilidad a la enfermedad ‘más compleja’. Sin embargo, el diagnóstico genético está condicionado tanto por la individualidad genética de la persona como la subpoblación humana a la que pertenece. En este sentido, son varios los factores que interaccionan y condicionan el diagnóstico molecular. Se pueden destacar los siguientes: la arquitectura genómica y variación genética del individuo, la variación individual de la expresión fenotípica (modo de manifestarse el proceso clínico en el enfermo), la heterogeneidad de *locus* de una parte importante de los fenotipos clínicos, la variabilidad de la regulación y epigenética de la expresión génica, el espectro de mutaciones, los tipos de variantes que son detectables por secuenciación y la calidad de la prueba genética/genómica realizada para la detección de variantes. No obstante, la incorporación del análisis del genoma en el diagnóstico genético conlleva nuevos desafíos en el proceso diagnóstico, como son:

- Responsabilidad de los profesionales en relación con la indicación de las pruebas genéticas/genómicas e interpretación de los datos y variantes.
- Elección de qué información y cómo recibirla, tanto por parte de los individuos como de los padres.

- Elaboración de consentimientos informados acorde con los posibles resultados esperables, hallazgos inciertos y hallazgos secundarios e incidentales, así como modelos de buenas prácticas.
- Elaboración de estándares en relación con la información de los tipos de hallazgos.
- Almacenamiento a largo plazo de la información genómica.
- Cuándo y cómo debería ser reanalizada y reinterpretada la información del genoma.

## MEDICINA PREVENTIVA

La aplicación de la secuenciación genómica, en un contexto de prevención en salud pública como es el cribado neonatal, conlleva dos aspectos fundamentales. En primer lugar, el valor añadido del análisis genómico en relación con las pruebas bioquímicas de las que se dispone en la actualidad. En segundo lugar, hay que contemplar cuáles son los trastornos seleccionables y qué criterios se aplican.

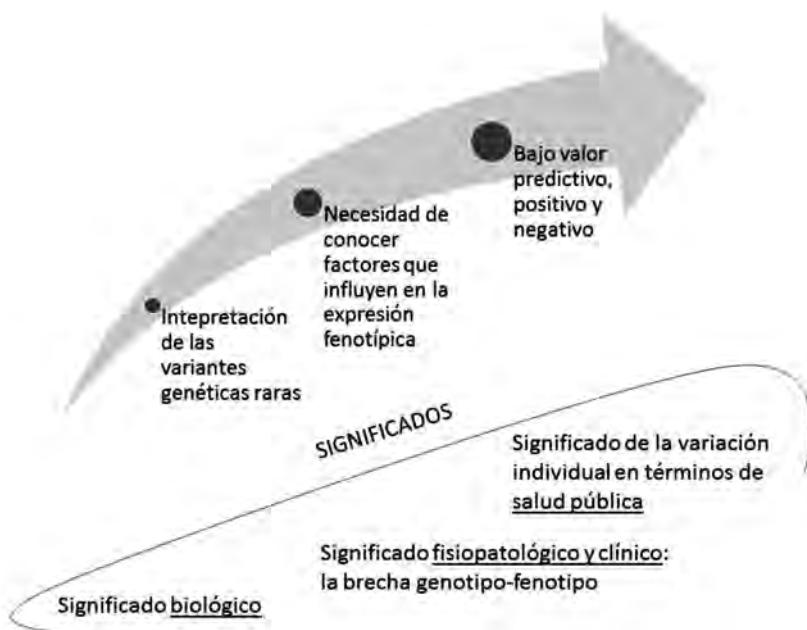
Por lo que respecta al primer punto, cabe reseñar que para un número importante de enfermedades metabólicas se dispone de biomarcadores (metabolitos) que permiten trabajar con un alto nivel de especificidad y sensibilidad, pero para otras muchas de las patologías genéticas no se dispone de ningún biomarcador. En función de este criterio, las pruebas genéticas basadas en NGS se contemplan desde dos prismas: (i) como cribado de segundo nivel ‘multiplexado’, incrementando la especificidad de los datos bioquímicos analizados mediante espectrometría de masas/masas MS/MS; y (ii) como cribado de primer nivel/primera instancia, especialmente en enfermedades raras para las que no se dispone de métodos convencionales bioquímicos.

En relación con la selección de trastornos sobre los que puede estar indicado aplicar el cribado neonatal, conviene tener en cuenta el criterio de accionabilidad, es decir, que la intervención precoz o temprana en el niño afectado sea capaz de modificar el curso y el pronóstico de la enfermedad. Para poder determinar el grado de accionabilidad cabe tener en cuenta varios aspectos relativos a la enfermedad, la información genética y el individuo. De la enfermedad hay que conocer o disponer de información adecuada sobre la historia natural, que se refleja en la edad de inicio (puede ser muy variable), la gravedad

de la misma (también puede ser variable) y la disponibilidad de un tratamiento que modifique el pronóstico de la misma. En relación con la genética del proceso patológico interesa conocer (i) el grado de penetrancia (alto o bajo), es decir, cuál es la probabilidad que un individuo portador de la(s) variante(s) patogénica(s) desarrolle la enfermedad y, especialmente por lo que respecta al cribado neonatal, en los primeros años de vida; y (ii) el efecto biológico de la(s) variante(s) rara(s) que puedan encontrarse, esto es, si se trata de variantes patogénicas o benignas, aparte de los hallazgos de polimorfismos. Por lo que respecta al tratamiento, cabe decir que es de gran relevancia si se dispone de terapias que curen o modifiquen el curso de la enfermedad, o de intervenciones que permitan una actuación terapéutica precoz y preventiva de complicaciones posteriores. En este sentido, cabe poner en valor la oportunidad para la vigilancia proactiva del niño.

Otros desafíos a considerar en la aplicación de la secuenciación genómica en el cribado neonatal tienen que ver con la capacidad actual para obtener una información fidedigna del genoma y cuál es el significado de los hallazgos genómicos en términos de toma de decisiones (figura 1): (i) desde una perspectiva biológica, qué significado tiene una determinada variante genética; (ii) en términos clínicos qué conocimiento hay entre el genotipo y el fenotipo en muchos trastornos (brecha fisiopatológica), tanto por el conocimiento patológico de las variantes como por el pleiotropismo de algunos genes (ej., las variantes en el gen *LMNA* son causa de progeria de Hutchinson-Gilford, lipodistrofia familiar, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth o distrofia muscular congénita, entre otras condiciones), lo que nos lleva a la necesidad de conocer los factores que influyen en la expresión fenotípica; y (iii) en términos de salud pública, el bajo valor predictivo biológico, tanto positivo como negativo, de una parte importante de las variantes genéticas raras que no son polimorfismos.

Figura 1. Desafíos de la secuenciación genómica en el cribado neonatal.



## PREDICCIÓN EN MEDICINA Y SALUD

En un programa de cribado neonatal, los datos genéticos obtenidos de la secuenciación genómica afectan al diagnóstico clínico inmediato a la obtención, confirmación, análisis biológico y validez clínica del resultado e introduce un aspecto importante de medicina preventiva en salud pública. Sin embargo, esta medicina genómica implica un tercer factor en el proceso de la salud y de los actos médicos que puede conllevar: la predicción. Ante la información de la secuencia del genoma del individuo, cabe hacerse la pregunta sobre el uso de dicha información a lo largo de la vida e, incluso, si tal información aporta un valor a los progenitores del recién nacido que puede haber heredado una variante genética que predisponde a alguna enfermedad del adulto y que ninguno de los padres todavía no ha manifestado, pero está a riesgo de ello. El acceso a la información predictiva de la salud a raíz de la aplicación del análisis genómico plantea cuestiones tales como:

- La información disponible para el médico sobre la historia familiar, interpretar los hallazgos clínicos o de la salud, otros miembros de la familia, variantes farmacogenómicas, estatus de portador de variantes recesivas, planificación reproductiva familiar, variantes comunes de condiciones complejas.
- Toma de decisiones de los padres sobre cuestiones relevantes:
  - Condiciones de inicio precoz para las que no hay intervenciones directas o medidas preventivas.
  - Condiciones del adulto que son accionables medicamente o estatus de portadores para trastornos recesivos.
  - La presencia de otros menores asintomáticos en la familia.
  - Necesidad de modificar y adecuar los consentimientos informados (CI) y nuevas aproximaciones innovadoras para facilitar la toma de decisiones parentales.
- Profesionales en consejo genético:
  - Generación de nuevos materiales y procedimientos de comunicación de los potenciales riesgos y beneficios.
  - Necesidad de formación de genetistas clínicos y asesores genéticos, aspecto este muy importante dado que en España no existe el reconocimiento oficial de la especialidad en genética clínica ni la formación reglada a través de másteres universitarios en consejo o asesoramiento genético.
- Infraestructura asistencial:
  - Manejo de informes, reanálisis de las secuencias, almacenamiento de la información genómica e integración de las historias clínicas electrónicas.
  - Fenotipado iterativo del individuo para definir la relevancia clínica de las variantes genéticas.

## MEDICINA GENÓMICA DEL RECIÉN NACIDO: EL CRIBADO NEONATAL GENÉTICO

En gran medida, el planteamiento de un cribado neonatal extendido a otras enfermedades genéticas para las que no se dispone de ningún biomarcador

metabólico, endocrinológico o hematológico ha cambiado a raíz de la disponibilidad de la secuenciación del genoma como biomarcador para muchas de las patologías hereditarias. Sin embargo, la disponibilidad de la tecnología de secuenciación masiva y de un grado relativamente aceptable de conocimiento sobre las consecuencias biológicas y patológicas de la variación del genoma humano no debe significar que la ecuación genoma-cribado genético sea inmediata. Hay muchos puntos que conviene analizar y sobre los que hay que mejorar la información de la que disponemos.

En este sentido, es importante desarrollar proyectos piloto de investigación con el objetivo de explorar cómo la información genómica puede ayudar a conocer y comprender mejor las enfermedades identificadas en la época neonatal e infantil de modo que se puedan implementar acciones para mejorar el curso de la enfermedad y su pronóstico, y modificar su historia natural. El objetivo de un proyecto de esta índole ha de ser, pues, explorar el impacto médico-asistencial, familiar y social, así como económico, de la secuenciación genómica en la atención sanitaria de los recién nacidos y lactantes, con una visión integral que aúne los aspectos médicos, de asesoramiento genético, bioéticos, psicológicos y sociales, con participación inclusiva de los diversos actores implicados, esto es, padres, pediatras de atención primaria, asesores genéticos, genetistas de laboratorio, bioinformáticos, médicos genetistas, neonatólogos, obstetras y eticistas. Los antecedentes inmediatos son proyectos desarrollados en EE.UU., concretamente los proyectos del Consorcio NSIGHT financiados por los Institutos Nacionales de la Salud (NIH) sobre la secuenciación de recién nacidos en el contexto de la medicina genómica y la salud pública (10, 11), entre los que destaca, en relación con la finalidad del presente proyecto, el *BabySeq Project* (12). Los primeros resultados de este último proyecto han venido siendo publicados recientemente (13-17), lo que es un buen indicador del creciente desarrollo que está teniendo este campo de la medicina genómica y su impacto en la salud pública.

Estas acciones están llevando a planteamientos de carácter médico (18), social (19) y bioético (20, 21) que confirman el creciente interés por la medicina genómica y su especial repercusión en los recién nacidos y la relevancia que puede tener en los programas de cribado neonatal. Todo ello hace pertinente y oportuno poner en marcha un proyecto científico piloto que permita dar respuesta a las cuestiones y preocupaciones que se plantean o se puedan plantear en nuestra sociedad. Un proyecto de esta índole debe contemplar preguntas sobre diferentes aspectos:

- a) Biológicos y tecnológicos: ¿podría la secuenciación genómica ser parte del cribado estándar universal para recién nacidos realizado por cada uno de los servicios de salud pública, reemplazando las pruebas bioquímicas convencionales, o podría ofrecerse como un suplemento opcional?
- b) Sociales y éticos: es fundamental tener en cuenta los principios bioéticos como son la no maleficencia, beneficencia, autonomía y preservación de un futuro abierto para cada niño... justicia social.
- c) Económicos: los aspectos económicos deben considerarse en el proyecto de modo que se pueda medir el coste ante la posible implementación a nivel de poblacional, teniendo en cuenta el coste-eficiencia del programa.

En nuestro país no se ha desarrollado todavía ningún proyecto que aborde estas cuestiones y que plantea desde una aproximación científica cómo enfocar el cribado neonatal de un número más amplio y creciente de trastornos genéticos que puedan beneficiarse de una acción precoz, bien sea en forma de tratamiento en el niño que mejore el pronóstico y el curso de la enfermedad, bien de una intervención familiar temprana que permita el asesoramiento genético y la prevención de la recurrencia de la enfermedad en el seno de la familia. En este contexto, se ha puesto en marcha el proyecto piloto ‘GenNatal’ para analizar cómo implementar la secuenciación genómica en medicina neonatal y salud pública. GenNatal está financiado por la Fundación Ramón Areces y participan en el mismo tres entidades: el Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER) del Hospital Sant Joan de Déu en Barcelona, el Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares (CEDEM) de la Universidad Autónoma de Madrid en Cantoblanco y el Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Los resultados de este proyecto han de servir para ofrecer a las autoridades sanitarias y a la sociedad un conocimiento y una metodología sobre la aplicación de la secuenciación genómica en los programas de cribado neonatal de las acciones en salud pública.

La finalidad del proyecto es explorar cómo la información genómica puede ayudar a conocer y comprender mejor las enfermedades identificadas en la época neonatal e infantil de modo que se puedan implementar acciones para poder mejorar el curso de la enfermedad, su pronóstico y modificar su historia natural. El objeto principal del proyecto es, pues, explorar el impacto médico-asistencial, familiar, social y económico de la secuenciación genómica en la atención sanitaria de los recién nacidos y lactantes, con una visión integral que aúne los aspectos

médicos, de asesoramiento genético, bioéticos, psicológicos y sociales con participación inclusiva de los diversos actores implicados, esto es, padres, asesores genéticos, genetistas de laboratorio, bioinformáticos, médicos genetistas, neonatólogos, obstetras, pediatras de atención primaria y eticistas. Los objetivos específicos están en relación directa con la evaluación de las respuestas operativas a las siguientes cuestiones:

1. Aumentar el número de trastornos sobre los que ofrecer información, más allá de aquellos que se cubren hoy en día (mínimo 7 enfermedades en el SNS) que se basan en biomarcadores bioquímicos/metabólicos.
2. Estudiar el posible beneficio del niño/a y de los padres ante la detección precoz de un trastorno de carácter accionable en términos de: (i) entrada en el sistema de atención sanitaria lo más pronto posible con el objetivo de minimizar el impacto de la condición; (ii) proveer a los padres de la información de la condición lo más pronto posible; (iii) prevención a medio o largo plazo de la ‘odisea diagnóstica’; (iv) oportunidad de tener información acerca de aspectos reproductivos de los progenitores; y (v) ofrecer opciones terapéuticas.
3. Conocer cómo viven los padres el proceso y la experiencia que para ellos representa el análisis genómico en el cribado neonatal.
4. Conocer la variabilidad genética de individuos sanos (o posibles enfermos) en relación al efecto patogénico de las variantes genéticas, especialmente aquellas catalogadas como de significado incierto (*variable of unknown significance*, VUS), y el procedimiento tecnológico que se aplica en la prueba genómica. Esta puede variar entre paneles de genes, el exoma completo o el genoma clínico completo.
5. Determinar cómo es el proceso global en sus tres partes principales: pre-test, test y posttest.
6. Examinar el potencial y el significado de disponer información genómica de por vida, así como los aspectos éticos y técnicos del almacenamiento de la información genómica.
7. Analizar el impacto económico y el coste-efectividad de un PCN extendiendo como el que se plantea en base a la secuenciación genómica.

Estos objetivos se clasifican en cuatro categorías genéricas: (i) aspectos de carácter asistencial, en el marco de la atención sanitaria y salud pública, con re-

percusión en la unidad familiar (objetivos 1-3); (ii) conocimiento biológico y tecnológico, dificultades y posibles soluciones (objetivo 4); (iii) manejo clínico del proceso: el asesoramiento genético (objetivo 5); y (iv) aspectos éticos e impacto económico (objetivos 6 y 7).

El análisis del genoma forma parte del conocimiento que tenemos de la enfermedad y se ha convertido en una prueba diagnóstica de primer orden, especialmente para las enfermedades raras monogénicas, aunque también para el abordaje de la medicina de precisión (22, 23). En este contexto, la secuenciación genómica es una opción en el cribado neonatal de enfermedades para las que no se dispone de biomarcadores que sean accionables. No obstante, tal como ya se ha señalado anteriormente, la aplicación en el cribado neonatal requiere una investigación y conocimiento previo que permita contestar las múltiples y variadas cuestiones que plantea. A modo de ejemplo, uno de los aspectos es el análisis genómico que se aplica empleando la tecnología de NGS. Según el tipo de análisis se podrá detectar o no algunas variantes genéticas, tales como las variaciones en número de copias (copy number variants, CNVs). La detección fidedigna de estas CNV mediante tecnología NGS requiere analizar el genoma completo y no el exoma. Ello se debe a que la sensibilidad del exoma para detección de repeticiones de número de copia no es la adecuada al secuenciar únicamente los exones. Esto es importante en el caso de algunas de las enfermedades accionables que tienen cierta prevalencia como es la atrofia muscular espinal (AME), en la que la mutación más frecuente (aproximadamente el 95% de los alelos mutantes) es la delección del exón 7 en el gen *SMN1*. Pero, un proyecto de esta índole es necesario, sobre todo, para abordar con conocimiento de causa aspectos clínicos, personales, parentales, sociales y bioéticos para los que no disponemos aún de respuestas definitivas.

## *Referencias*

1. Vicente E.; Casas L. y Ardanaz E. Origen de los programas de cribado neonatal y sus inicios en España. *An Sist Sanit Navar* 2017; 40: 131-140.
2. Sistema de información del programa poblacional de cribado neonatal del Sistema Nacional de Salud.

<https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/docs/SistemaInformacionCribadoNeonatal.pdf>.

3. González-Lamuño Leguina, D. y Couce Pico, M.L. Cribado neonatal. *Pediatria Integral* 2019; 23: 169.e1-169.e10.
4. Couce, M.L. Cribado neonatal de enfermedades congénitas. En: M. Cruz Manual de Pediatría, 4<sup>a</sup> ed. García J.J., Cruz O., Mintegi S., y Moreno J.M. (eds.). Editorial Ergon, Madrid, pp. 160-163, 2020.
5. Oski, F.A. The diagnostic process. En Oski, F.A.; DeAngelis C.D.; Feigin, R.D. y Warshaw, J.B. (eds.), *Principles and Practice of Pediatrics*. J.B. Lippincott Company: Philadelphia, pp. 50-52, 1990.
6. Rozman, C., Cardellach López, F. Fundamentos de la práctica médica. En: Rozman, C. y Cardellach, F. (eds.), *Medicina Interna Farreras/Rozman*, vol. I, 19<sup>a</sup> ed. Elsevier: Barcelona, pp. 3-5, 2020.
7. Palau, F. Diagnóstico de las enfermedades raras no-diagnosticadas. *EIDON* 2017; 47: 17-30.
8. Lieberman, D.E. La historia del cuerpo humano: evolución, salud y enfermedad, 2<sup>a</sup> ed., Pasado & Presente, Barcelona, 2017 [Original: The Story of the Human Body. Evolution, Health, and Disease, Pantheon Books, New York, 2013].
9. Childs, B. (1999) Genetic Medicine: A Logic of Disease. Baltimore: Johns Hopkins University Press [hay una edición más reciente de 2003].
10. Berg, J. et al. Newborn sequencing in genomic medicine and public health. *Pediatrics* 2017; 139: e20162252.
11. Ceyhan-Birsoy, O. et al. A curated gene list for reporting results of newborn genomic Sequencing. *Genet Med* 2017; 19: 809-818.
12. Holm, I.A. et al. The BabySeq project: implementing genomic sequencing in newborns. *BMC Pediatr* 2018; 18: 225.
13. Ceyhan-Birsoy, O. et al. Interpretation of genomic Sequencing results in healthy and ill newborns: results from the BabySeq project. *Am J Hum Genet* 2019; 104: 76-93.
14. Pereira, S. et al. Perceived benefits, risks, and utility of newborn genomic sequencing in the BabySeq project. *Pediatrics* 2019; 143: S6.
15. Genetti, C.A. et al. Parental interest in genomic sequencing of newborns: enrollment experience from the BabySeq project. *Genet Med* 2018; 21: 622-630.

16. Holm, I.A. et al. Returning a genomic result for an adult-onset condition to the parents of a newborn: insights from the BabySeq project. *Pediatrics* 2019; 143: S37.
17. Van Noy, G.E. et al. Challenging the Current Recommendations for Carrier Testing in Children. *Pediatrics* 2019; 143(Suppl 1): S27–S32.
18. Genetic Alliance UK. Fixing the present building for the future: newborn screening for rare conditions, <http://www.geneticalliance.org.uk/wp-content/uploads/2019/07/FIXING-THE-PRESENT-BUILDING-FOR-THE-FUTURE-Newborn-screening-for-rare-conditions-.pdf>.
19. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine; Health and Medicine Division; Board on Health Sciences Policy; Roundtable on Genomics and Precision Health. Implementing and Evaluating Genomic Screening Programs in Health Care Systems: Proceedings of a Workshop. Washington (DC): National Academies Press (US), 2018.
20. Johnston, J. et al. Sequencing newborns: a call for nuanced use of genomic technologies. *Hastings Cent Rep* 2018; 48 (Suppl. 2): S2-S51.
21. Esquerda, M. et al. *Ethical questions concerning newborn genetic screening*. Clin Genet, 2020. doi: 10.1111/cge.13828.
22. Palau, F. Pediatric Genomics and Precision Medicine in Childhood. In: *Precision Medicine for Investigators, Practitioners and Providers*, Faintuch, J. y Faintuch, S. (eds.), Elsevier, pp. 143-152, 2020.
23. Palau, F. Medicina personalizada o de precisión: la homeostasis de la individualidad. *SEBBM Revista* 2020; 203: 8-14.

# EL CRIBADO GENÉTICO: ASPECTOS ÉTICOS

Carmen Ayuso

Departamento de Genética y Genómica, Instituto de Investigación Sanitaria-Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid (IIS-FJD, UAM)  
–Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras– (CIBERER),  
Madrid.

## RESUMEN

Los programas de cribado neonatal permiten la identificación precoz en recién nacidos asintomáticos de diversas enfermedades, la mayoría de base genética. Las enfermedades que se incluyen son las que se pueden evitar, curar, o mejorar, al ser factible intervenir para modificar positiva y significativamente el curso de la enfermedad.

De un modo progresivo la metodología que se aplica en el cribado está incluyendo técnicas genéticas o genómicas, pero estos abordajes suscitan reflexiones ético-legales, estando entre las cuestiones más relevantes la selección de los genes y enfermedades a estudiar, el proceso de entrega de los resultados a los padres y los aspectos derivados de su implementación en el SNS.

Es necesario tener en consideración tanto la regulación general de los cribados y de los estudios genómicos, como el marco ético general y el específico que contempla los principios morales a preservar.

Entre los retos éticos destaca la posibilidad de realizar diagnósticos predictivos sobre enfermedades de aparición tardía (en la edad adulta). Solo aquellas enfermedades cuya prevención o tratamiento dependa de una intervención temprana en la edad infantil se deberán incluir en el cribado, evitando vulnerar la autonomía de los menores al realizar diagnósticos predictivos sin beneficio para el neonato y con el consiguiente perjuicio sobre su libertad futura para elegir conocerlas o no.

Otro riesgo es la detección de variantes genéticas cuya repercusión clínica es dudosa o desconocida. Así, el cribado deberá evitar en la medida de lo posible identificar o reportar resultados dudosos.

Por último, es conveniente prever la posibilidad de que el niño, una vez alcanzada la madurez pueda tener acceso y recibir la información genética que le concierne.

Para velar por el cuidado ético de todos estos aspectos, se recomienda implementar adecuadamente el proceso de consentimiento informado y el asesoramiento genético, en los cribados neonatales con herramientas genómicas, con el objetivo de lograr una mejor comprensión de todos los procedimientos y una aceptación informada y voluntaria de todos ellos.

## INTRODUCCIÓN

Los programas de cribado permiten la identificación precoz en neonatos asintomáticos de diversas enfermedades, muchas de base genética. Su aplicación está indicada para aquellas enfermedades en las que es posible intervenir para prevenir, tratar o modificar positiva y significativamente el curso de la enfermedad [1].

Actualmente, los estudios genéticos se usan como método secundario para confirmar resultados positivos obtenidos con el cribado bioquímico, pero cada vez más se plantea su uso como primera línea de cribado, particularmente el uso, en un futuro cada vez más próximo, de técnicas de secuenciación masiva (NGS) y concretamente, el cribado genómico (WGS y WES), debido a su ya demostrada utilidad clínica en el contexto del diagnóstico en los neonatos con sospecha de patología grave de origen genético [2, 3].

Recientemente, en EEUU se puso en marcha el consorcio *Newborn Sequencing in Genomic Medicine and Public Health* (NSIGHT) [4, 5] con el objetivo de explorar “*las oportunidades de uso de la información genómica para ampliar la comprensión de las enfermedades identificadas en el período neonatal*”, financiando varios proyectos, entre los cuales se encuentra el proyecto BabySeq [6, 7]. Otros programas se están poniendo en marcha siguiendo iniciativas públicas en el contexto internacional [8], existiendo también iniciativas de comercialización a nivel privado.

Estos abordajes genómicos del cribado neonatal suscitan, entre otras, reflexiones ético-legales, estando entre las cuestiones más relevantes la selección de los genes y enfermedades a estudiar, el proceso de entrega de los resultados a los padres [5] y los aspectos derivados de su implementación en el SNS [9, 10].

## **Base legal: regulación y guías**

La Tabla 1 recoge recomendaciones europeas [11-13], así como algunos de los documentos legales españoles [14-16] que afectan a los estudios genéticos en la práctica asistencial. Es de destacar que en ellos se definen, a efectos legales, las pruebas genéticas, así como el cribado genético, estableciéndose, en su caso, los límites y los criterios que deben reunir las pruebas para ser incluidas en el SNS. Así pues, en nuestro ordenamiento jurídico están ya recogidas estas características que, aunque no desarrolladas por completo, establecen el marco legal de aplicación.

**Tabla 1. Recomendaciones y marco regulatorio para las pruebas genéticas diagnósticas y de cribado.**

| En Europa   | En España   |
|---|---|
| Additional Protocol Convention on Human Rights and Biomedicine, concerning Genetic Testing for Health Purposes Council of Europe (2008) [11]<br><br>Acceso a medidas preventivas, equidad, calidad.<br><br>Recomendaciones de la Sociedad Europea de Genética Humana (ESHG): <ul style="list-style-type: none"><li>• NGS en menores [12]</li><li>• Datos genéticos y protección de datos [13]</li></ul> | Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. LIB [14].<br><br>Acompañadas de asesoramiento genético (AG) (art. 9) y consentimiento informado (CI) (arts. 48 y 49).<br><br>Cribado genético (art. 54).<br><br>Orden SSI/2065/2014, de 31 de octubre: por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre, por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización [15].<br><br>Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales [16]. |

## **Marco ético general de los estudios genómicos**

Por otra parte, también es conveniente recordar los principios morales que, como en el resto de la actividad clínica (y también científica), se aplican en los estudios y cribados de genéticos en seres humanos, como marco ético general [11,17-21] (tabla 2).

**Tabla 2. Marco ético general de aplicación en los estudios genómicos en seres humanos [11, 17-21].**

| <b>Bioética</b>  |                             |                                 |
|--|-----------------------------|---------------------------------|
| Conjunto de principios que orientan la conducta humana óptima, con relación a la vida (seres humanos, vida animal o vegetal, y del medio) [17] |                             |                                 |
| <b>Principios éticos básicos: Fundamentos [18-19]</b>  |                             |                                 |
| <b>Principio</b>   | <b>Cómo se aplica</b>       | <b>Valores</b>                  |
| Respeto a la persona   | Consentimiento informado    | Autonomía del recién nacido     |
| Beneficencia   | Evaluación riesgo/beneficio | Prevención vs medidas excesivas |
| Justicia   | Selección de los sujetos    | Costes, equidad                 |

| <b>Documentos</b>   |
|---|
| Convenio sobre los Derechos Humanos y Biomedicina (de Oviedo), 1997 [20]. Protocolo Adicional, relativo a los estudios genéticos con propósitos sanitarios, Council of Europe. 2008 [11]. |
| Declaración de Reikiavik sobre consideraciones éticas para el uso de la genética en la salud. Asociación Médica Mundial 2019 [21].  |

## **CARACTERÍSTICAS DE LOS CRIBADOS EN SU ENFOQUE ÉTICO**

Los retos éticos que plantea el cribado neonatal genómico derivan de tres de las características distintivas de esta aproximación metodológica.

En primer lugar, mientras que en el cribado metabólico o bioquímico existen marcadores biológicos que pueden revelar la presencia de enfermedad real, los marcadores genéticos solo indican la existencia de un riesgo, y no informan necesariamente de la presencia de la enfermedad asociada, por lo que, en ocasiones, pueden tener un carácter más predictivo que diagnóstico de enfermedad, sea esta de aparición en la infancia o en la vida adulta, y tanto para enfermedades en las que se pueda intervenir (*intervenibles*), como las no tratables.

Además, el cribado genómico permite detectar variantes cuya patogenicidad aún no está establecida o es dudosa (tipo 3 o VUS según la clasificación de las guías del ACMG) [22], por lo que este abordaje se acompaña de un margen mayor de incertidumbre que los estudios clásicos.

Por último, tanto por su carácter potencialmente predictivo, como por su naturaleza genética, el conocimiento de los resultados obtenidos podría ser de

interés para el recién nacido, una vez alcanzada su madurez o para sus familiares biológicos.

Los aspectos éticos necesarios a considerar en el cribado genómico neonatal son el balance beneficio/riesgo, que siempre debe ser favorable [23], el proceso de consentimiento informado y el asesoramiento genético antes y después de la prueba.

### Beneficios y riesgos

En la tabla 3 se resumen algunos de ellos, muchos de los que se preveían [1] y otros que se han puesto de manifiesto en el seguimiento de la cohorte de 159 recién nacidos estudiados en el BabySeq Project [24-25].

Tabla 3. Riesgos y beneficios percibidos en el cribado genético neonatal [1, 6, 24-25].

| Beneficios  | Riesgos   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Diagnóstico más rápido y preciso, predictivo, y de un mayor número de enfermedades (frente al cribado bioquímico clásico).</li><li>• Intervención más rápida: orientación precisa en el tratamiento y mejor prevención.</li><li>• Beneficios para terceros (familiares): consejo genético y reproductivo.</li><li>• Posibles usos secundarios (en el caso de WES/WGS): farmacogenética, reanálisis por enfermedades posteriores.</li><li>• <b>Salud Pública:</b> morbi-mortalidad, discapacidad poblacional, enfermedades de base genética.</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Cuestiones técnicas: calidad del proceso, difícil interpretación de los resultados:<ul style="list-style-type: none"><li>– Resultados erróneos (falsos + y –).</li><li>– Dudosos.</li><li>– Incompletos.</li></ul></li><li>• Riesgos derivados de estudio predictivo en menores: Autonomía.</li><li>• Problemas relacionados con las intervenciones a aplicar: seguimiento, riesgos de los tratamientos y prevención. Impacto psicológico.</li><li>• Otras implicaciones éticas, legales, y sociales: Confidencialidad, derechos de terceros.</li><li>• Equidad: Costes, accesibilidad.</li></ul> |

Uno de los asuntos a abordar es el hecho de que mediante el cribado neonatal genómico se podría realizar un diagnóstico predictivo en un menor. Por lo que es conveniente tenerlo en cuenta a la hora de elegir los genes/enfermedades a incluir en el cribado.

Las recomendaciones [11] y la regulación [15] indican que se pueden aplicar estudios genéticos predictivos en menores, siempre que se obtenga un beneficio directo para el niño, por ser factible aplicar alguna intervención durante la infancia que modifique el curso natural de la enfermedad.

Así pues, en principio se recomienda que solo las enfermedades *intervenibles*, en las que la intervención deba aplicarse de forma precoz durante la infancia, se deberían incluir en el cribado.

Además, el trastorno debería ser grave, la predicción genética de enfermedad fiable (variable genética tipo 4 o 5 asociada a enfermedad grave) y el riesgo elevado (alta penetrancia).

Algunos ejemplos de este tipo de patologías genéticas serían varias de las metabólicas, la atrofia músculo-espinal [26], la amaurosis congénita del Leber por mutaciones en *RPE65* [27] o la fibrosis quística [28], enfermedades para las que está disponible un tratamiento eficaz y cuya aplicación debe realizarse precozmente para tratar una enfermedad grave.

Algunos programas en fase de investigación, como el proyecto NSIGHT [6], incluyen brazos del estudio en los que los padres pueden elegir recibir información sobre enfermedades: a) de inicio pediátrico no *intervenibles*, b) recesivas, en estado de portador, o c) intervenibles de inicio en la edad adulta.

### **Consentimiento Informado (CI)**

Tanto la LIB [14] como grupos de expertos [29] y distintas organizaciones [21,30] han emitido recomendaciones acerca del proceso de consentimiento informado para las pruebas genéticas en el entorno clínico y de los elementos a incluir en la información previa a los participantes, particularmente con el uso de la tecnología de NGS (Tabla 4).

En cuanto al cribado neonatal bioquímico, el CI específico [31], recogido por escrito, está poco extendido y se considera que, dado el número de enfermedades y las características del cribado, no es “*ni deseable ni factible*” [32] y, por otra parte, al ser el cribado un requerimiento de salud pública, muchos gobiernos, como el de EEUU, no lo consideran necesario [9].

**Tabla 4.** Elementos a incluir en la información al paciente en el proceso de Consentimiento Informado (CI) para las pruebas y cribado genéticos en el marco clínico [14, 29-30].

| <b>LIB: CI y cribado genético</b>   | <b>Items del Consentimiento Informado (WES/WGS)</b>   |
|---|---|
| 1. Características y Objetivos del cribado.   | Table 1: 'The List': Proposed minimum elements of information to be included in all informed consent forms for WGS in the clinical setting                  |
| 2. Posibilidad de falsos positivos y, en consecuencia, Necesidad de confirmar o descartar el diagnóstico.   | 1. The scope of the test (Scope)  |
| Periodos de tiempo.   | 2. Brief description of the test process (Description)  |
| Valididad y fiabilidad (cribado y 2º nivel)   | 3. Benefits that we expect (Benefits)   |
| 3. Posibilidades existentes de tratamiento y prevención   | 4. Possible disadvantages, risks, or complications (Risks)  |
| 4. Incomodidades, Riesgos y Acontecimientos Adversos, asociados a la toma de muestras y a las medidas terapéuticas o preventivas  | 5. Voluntary nature of the test (Voluntary)   |
| 5. Voluntariedad  | 6. Possibility of refusal at any time without consequences (Refusal)  |
| <b>Recomendaciones de ESHG (EJHG, 2016)</b>   | 7. Description of alternative diagnostic methods, if any (Alternative test)   |
| 1. Para cada prueba NGS: información sobre enfermedades y genes en estudio, rango a informar, sensibilidad y especificidad analíticas (otras enfermitades relacionadas con el fenotipo clínico causadas por mutaciones en los genes en estudio) | 8. Description of the measures taken to ensure confidentiality and privacy of the results at present and in the future (Confidentiality)                    |
| 2. Información escrita u on line para los pacientes   | 9. The destination of the biological samples when the study ends (storage, encryption, anonymization, or destruction) or future use of samples (Future use) |
| 3. Información sobre probabilidad de hallazgos 2arios   | 10. Management of incidental findings that may appear in the study and the right not to know (Incidental findings)  |
| 4. Información sobre política local de manejo de hallazgos 2arios   |   |
| 5. Si opción a recibir (si/no) información de portador o hallazgos 2arios, obligación de cubrir logística   |   |
| 6. Enfoque e el panel de la enfermedad (para evitar hallazgos 2arios)   |   |

EJHG, Oct 2013

Informed consent for whole-genome sequencing studies in the clinical setting. Proposed recommendations on essential content and process

Sin embargo, al plantearse el cribado mediante abordaje genómico, lo que incluye un grupo numeroso de enfermedades, y debido a su complejidad, incertidumbre y carácter predictivo, tanto el CI [6,7] como el asesoramiento genético (AG) [1,7] pre y post prueba deberían realizarse, al menos en la fase inicial o exploratoria del cribado genómico, en tanto no se conozca el alcance ético de su implementación, aunque esta cuestión no está exenta de debate.

### Asesoramiento genético (AG): interpretación e información sobre los resultados

Por último, el AG, íntimamente ligado al proceso de CI, también debe proporcionarse a los padres de los niños que participan en el cribado neonatal genético, tanto antes de este, como en el momento de la entrega de los resultados [9, 7, 14, 15, 21, 32, 33].

En cuanto a estos, se debería anticipar qué tipo de resultados se podrían obtener [34], siendo esperable que aproximadamente el 5% de los recién nacidos puedan tener una variante de riesgo reportable para una enfermedad monogénica y cerca del 90% ser portadores de alguna enfermedad recesiva [7]. También, habría que enfocar el tipo de genes y enfermedades a estudiar y las variantes a reportar a aquellas enfermedades/genes *intervenibles*, de carácter grave y de causalidad clara, minimizando el impacto de hallazgos secundarios no englobados en las categorías anteriores, así como el estado de portador asintomático de enfermedades recesivas. Un estudio reciente da algunas indicaciones sobre cómo ayudar a la categorización de parejas de gen/enfermedad, de acuerdo con su grado de posible intervención, gravedad y certeza en la causalidad o penetrancia [35], y en la página web de ClinGen se actualiza la información, estratificada de acuerdo con el grado en estas categorías [36]. Asimismo, es recomendable informar acerca de las medidas de intervención en sí mismas, ya que su aceptabilidad o tolerabilidad podrían no verse por los padres, o no serlo para los propios niños, como proporcionales al daño potencial de la enfermedad [37].

También sería necesario implementar las medidas de seguimiento médico de los casos diagnosticados, tal y como establecen las recomendaciones [30] y la cartera de servicios del SNS [15] y habrá que establecer un sistema para revisar temporalmente los datos dudosos, así como el procedimiento para que los menores puedan consultar y ser informados de sus propios datos al alcanzar la madurez [9].

Otros aspectos a considerar son los relacionados con los medios necesarios para incluir la información en la historia clínica y manejar estos datos a largo plazo para el bien de la salud del paciente. En este sentido, el proyecto BabySeq [7] contempla la inclusión del estudio de algunas variantes farmacogenéticas que podrían ser de interés para el paciente a lo largo de su vida.

Por último, un reciente estudio [38] analiza el impacto logístico y económico de la implementación de medidas clínicas para el caso de intervenciones derivadas de hallazgos secundarios en secuenciación exómica, estimándose que en un 3,7% se encontrarán secundariamente variantes patogénicas causales y en un 3,8% variantes en estado de portador, de un total de 244 genes/enfermedades *intervenibles*, estableciéndose también la necesidad de tiempo adicional para el proceso de asesoramiento genético, en todos esos casos.

## RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES

Diversos autores han emitido recomendaciones sobre los factores a tener en cuenta a la hora de implementar un cribado genómico [39], y concretamente el neonatal [1, 7].

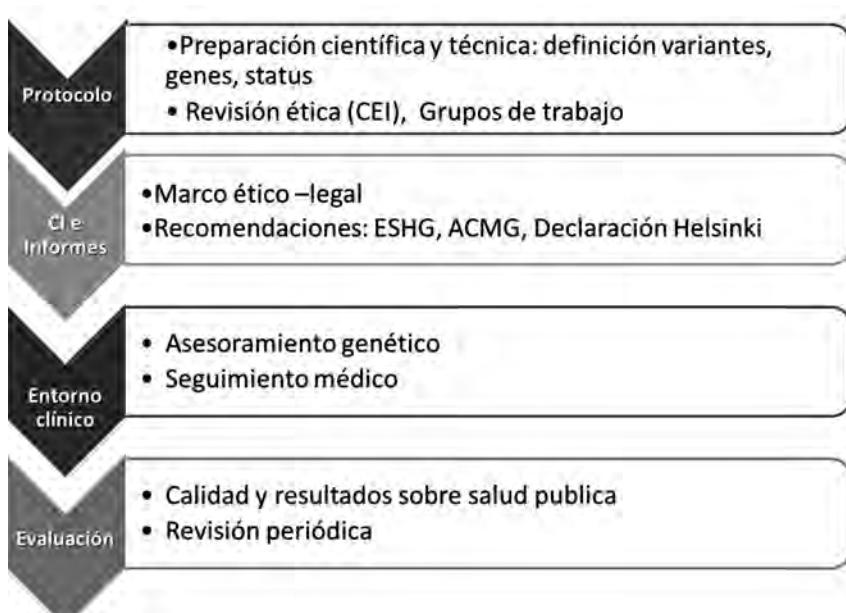
En la tabla 5 se resumen los puntos más relevantes, remarcándose los que tienen un impacto ético: el CI, los criterios para informar, el informe y AG, y el acceso a los datos de los clínicos y familiares, así como del menor cuando alcance la mayoría de edad o madurez [9].

Tabla 5. Factores a considerar para implementar el cribado genómico neonatal  
(\*los de mayor relevancia ética).

| Diseño adecuado del estudio   | Establecimientos de recursos técnicos y humanos  | Aspectos clínicos   | Revisión temporal  |
|---|--|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Selección de los pacientes</li><li>• Consentimiento informado*</li><li>• Establecimientos de criterios para informar*: <ul style="list-style-type: none"><li>– Tipo de variantes</li><li>– Genotipos y Estatus (afecto, predictivo, portador)</li><li>– Definición de patologías/genes (graves, <i>intervenibles</i>, inicio edad infantil)</li></ul></li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Calidad de proceso de análisis e interpretación (centros y profesionales):</li><li>• Confirmación de los resultados</li><li>• Plazos para informar</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Informe y aesoramiento genéticos*</li><li>• Seguimiento Clínico y acceso a los datos por clínicos y familiares*</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Acceso de datos en la edad madura del menor*</li><li>• Nuevos genes, nuevas enfermedades (según su posibilidad de ser intervenibles)</li></ul> |

Para concluir, actualmente es factible y en cierto modo recomendable incluir las técnicas de NGS en el cribado neonatal ya que pueden proporcionar una información de mayor calidad y beneficiar a la salud de los participantes al poder intervenir precoz y eficazmente sobre ciertas enfermedades. Para ello se requiere cumplir con ciertas premisas éticas (figura 1) que afectan tanto al diseño y protocolo del estudio, como al CI, los procesos clínicos y al seguimiento y evaluación de los resultados.

**Figura 1. Requisitos éticos necesarios para la implementación del cribado genómico neonatal.**



### *Referencias*

1. Yang, L.; Chen, J. y Shen, B. Newborn Screening in the Era of Precision Medicine. In: Shen, B. (eds.) Translational Informatics in Smart Healthcare. Advances in Experimental Medicine and Biology 2017; vol. 1005. Springer, Singapore.
2. Kennedy, S. Newborn screening. Saving lives the molecular way. Bitesize Bio. 2007. Disponible en: <https://bitesizebio.com/226/newborn-screening-saving-lives-the-molecular-way/> Acceso 28 diciembre 2019.
3. Vergano, D. Baby gene map could cut diagnosis to days. USA Today. 2012. Disponible en:  
<https://eu.usatoday.com/story/news/nation/2012/10/03/neonatal-genome-sequencing-speed-advances/1610163/> Acceso 28 diciembre 2019.
4. Newborn Sequencing in Genomic Medicine and Public Health (NSIGHT). Disponible en: <https://www.genome.gov/Funded-Programs-Projects/>

Newborn-Sequencing-in-Genomic-Medicine-and-Public-Health-NSIGHT. Acceso 28 diciembre 2019.

5. Holm, I.A.; McGuire, A.; Pereira, S.; Rehm, H.; Green, R.C. y Beggs, A.H. et al. Returning a Genomic Result for an Adult-Onset Condition to the Parents of a Newborn: Insights From the BabySeq Project. *Pediatrics*. 2019 Jan; 143(Suppl 1):S37-S43. doi: 10.1542/peds.2018-1099H.
6. Berg, J.S.; Agrawal, P.B.; Bailey, D.B. Jr.; Beggs, A.H.; Brenner, S.E, y Brower, A.M., et al. Newborn Sequencing in genomic medicine and public health. *Pediatrics* 2017;139 (2). pii: e20162252.
7. Holm, I.A.; Agrawal, P.B.; Ceyhan-Birsoy, O.; Christensen, K.D.; Fayer, S. y Frankel, L.A. et al, y BabySeq Project Team. The BabySeq project: implementing genomic sequencing in newborns. *BMC Pediatr*. 2018; 18: 225. Published online 2018 Jul 9. doi: 10.1186/s12887-018-1200-1.
8. Lee, H. ; Lim, J. ; Shin, J.E.; Eun, H.S. ; Park, M.S. y Park, K.I. et al. Implementation of a Targeted Next-Generation Sequencing Panel for Constitutional Newborn Screening in High-Risk Neonates. *Yonsei Med J*. 2019 Nov 1; 60(11): 1061-1066. Published online 2019 Oct 17. doi: 10.3349/ymj.2019.60.11.1061.
9. Goldenberg, A.J.; Lloyd-Puryear, M.; Brosco, J.P.; Therrell, B.; Bush, L. y Berry, S. et al &; Bioethics and Legal Workgroup of the Newborn Screening Translational Research Network. Including ELSI research questions in newborn screening pilot studies. *Genet Med*. 2019 Mar; 21(3):525-533. doi: 10.1038/s41436-018-0101-x. Epub 2018 Aug 13.
10. Lloyd-Puryear, M.; Brower, A.; Berry, S.A.; Brosco, J.P.; Bowdish, B. y Watson, M.S. Foundation of the Newborn Screening Translational Research Network and its tools for research. *Genet Med*. 2019 Jun; 21(6):1271-1279. doi: 10.1038/s41436-018-0334-8. Epub 2018 Nov 5.
11. Additional Protocol to the Convention on Human Rights and Biomedicine, concerning Genetic Testing for Health Purposes, Council of Europe, 2008. Council of Europe. Details of Treaty No. 203. Disponible en: <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/203>

Acceso 28 diciembre 2019.

12. Sénecal, K.; Thys, K.; Vearns, D.F.; Van Assche, K.; Knoppers, B.M. y Borry, P. Legal approaches regarding health-care decisions involving minors: implications for next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet.* 2016 Nov; 24(11):1559-1564. doi: 10.1038/ejhg.2016.61. Epub 2016 Jun 15. Erratum in: *Eur J Hum Genet.* 2017 May;25(5):658.
13. Shabani, M. y Borry, P. Rules for processing genetic data for research purposes in view of the new EU General Data Protection Regulation. *European Journal of Human Genetics* volume 26, pages 149-156(2018).
14. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. LIB. BOE núm. 159, de 4 de julio de 2007, páginas 28826 a 28848. Sección: I. Disposiciones generales BOE-A-2007-12945.<https://www.boe.es/eli/es/l/2007/07/03/14> Acceso 28 diciembre 2019.
15. *Orden SSI/2065/2014, de 31 de octubre:* por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre, por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización. BOE núm. 269, de 6 de noviembre de 2014, páginas 91369 a 91382. Sección: I. Disposiciones generales BOE-A-2014-11444. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/o/2014/10/31/ssi2065>. Acceso 28 diciembre 2019.
16. *Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.* BOE núm. 294, de 6 de diciembre de 2018, páginas 119788 a 119857. Sección: I. Disposiciones generales. BOE-A-2018-16673 Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/lo/2018/12/05/3>. Acceso 28 diciembre 2019.
17. Comité de ética del CSIC. Disponible en <https://www.csic.es/es/el-csic-etica/etica-en-la-investigacion> Acceso 28 diciembre 2019.
18. Dal-Ré, R. Investigación en seres humanos. Principios de una investigación clínica ética. Ponencia al VIII Congreso Anual CIBERER. El Escorial, 2015.
19. El informe Belmont. Principios y guías éticos para la protección de los sujetos humanos de investigación. Comisión nacional para la protección de los sujetos humanos de investigación biomédica y del comportamiento U.S.A. Abril 18 de 1979. Disponible en:

<https://web.archive.org/web/20150723084301/http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/ccis/files/2012/08/INFORMEBELMONT.pdf>. Acceso 28 diciembre 2019.

20. Consejo de Europa. Convenio relativo a los derechos humanos y la biomedicina, hecho en Oviedo el 4 de abril de 1997. Instrumento de Ratificación del Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina. BOE núm. 251, de 20 de octubre de 1999, páginas 36825 a 36830.
21. Declaración de Reikiavik de la AMM sobre consideraciones éticas para el uso de la genética en la salud. Adoptada por la 56 Asamblea General de la AMM, Santiago, Chile, octubre 2005, Enmendada por la 60 Asamblea General de la AMM, Nueva Delhi, India, octubre 2009, y por la 70<sup>a</sup> Asamblea General de la AMM, Tbilisi, Georgia, Octubre 2019.
22. Richards, S.; Aziz, N.; Bale, S.; Bick, D.; Das, S. y Gastier-Foster, J. et al & ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015 May; 17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30. Epub 2015 Mar 5.
23. Dondorp, W.J. de; Wert, G.M. y Niermeijer, M.F. Genomic sequencing in newborn screening programs. *JAMA.* 2012 May 23; 307(20):2146; author reply 2147. doi: 10.1001/jama.2012.3621.
24. Pereira, S.; Robinson, J.O.; Gutierrez, A.M.; Petersen, D.K.; Hsu, R.L. y Lee, C.H. et al & BabySeq Project Group. Perceived Benefits, Risks, and Utility of Newborn Genomic Sequencing in the BabySeq Project. *Pediatrics.* 2019 Jan; 143 (Suppl 1): S6–S13. doi: 10.1542/peds.2018-1099C.
25. Ceyhan-Birsoy, O.; Murry, J.B.; Machini, K.; Lebo, M.S.; Yu, T.W. y Fayer, S. et al, y BabySeq Project Team. Interpretation of Genomic Sequencing Results in Healthy and Ill Newborns: Results from the BabySeq Project. *Am J Hum Genet.* 2019 Jan 3; 104(1):76-93. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.11.016.
26. Czibere, L. ; Burggraf, S. ; Fleige, T. ; Glück, B. ; Keitel, L.M. y Landt, O. et al. High-throughput genetic newborn screening for spinal muscular atrophy by rapid nucleic acid extraction from dried blood spots and 384-well

- qPCR. *Eur J Hum Genet.* 2020 Jan; 28(1):23-30. doi: 10.1038/s41431-019-0476-4. Epub 2019 Jul 30.
27. Johnson, S.; Buessing, M.; O'Connell, T.; Pitluck, S, y Ciulla, T.A. Cost-effectiveness of Voretigene Neparvovec-rzyl vs Standard Care for RPE65-Mediated Inherited Retinal Disease. *JAMA Ophthalmol.* 2019 Jul 18. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2019.2512. [Epub ahead of print].
  28. Heijerman, H.G.M.; McKone, E.F.; Downey, D.G.; Van Braeckel, E.; Rowe, S.M. y Tullis, E. et al, y VX17-445-103 Trial Group. Efficacy and safety of the elexacaftor plus tezacaftor plus ivacaftor combination regimen in people with cystic fibrosis homozygous for the F508del mutation: a double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet.* 2019 Nov 23; 394(10212):1940-1948. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32597-8. Epub 2019 Oct 31.
  29. Ayuso, C.; Millán, J.M.; Mancheño, M. y Dal-Ré, R. Informed consent for whole-genome sequencing studies in the clinical setting. Proposed recommendations on essential content and process. *Eur J Hum Genet.* 2013 Oct; 21(10):1054-9. doi: 10.1038/ejhg.2012.297. Epub 2013 Jan 16.
  30. Matthijs, G.; Souche, E.; Alders, M.; Corveleyn, A.; Eck, S. y Feenstra, I. et al, y EuroGentest; European Society of Human Genetics. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet.* 2016 Jan; 24(1):2-5. doi: 10.1038/ejhg.2015.226. Epub 2015 Oct 28.
  31. Pàmpols Ros, T.; Terracini, B.; de Abajo Iglesias, F.J.; Feito Grande, L.; Martín-Arribas, M.C. y Fernández Soria, J.M. et al. Comité de Etica, Instituto de Investigación de Enfermedades Raras. Recomendaciones sobre los aspectos éticos de los programas de cribado de población para enfermedades raras. *Rev Esp Salud Pública* 2010; 84: 121-136 N.º 2 - Marzo-Abril 2010.
  32. Ross, L.F.; Saal, H.M. y David, K.L. et al. Technical report: ethical and policy issues in genetic testing and screening of children. *Genetics in Medicine.* 2013; 15(3):234-245.
  33. Wang, M.H. y Weng, H. Genetic Test, Risk Prediction, and Counseling. Chapter 2. In: Shen B. (eds.) *Translational Informatics in Smart Healthcare. Advances in Experimental Medicine and Biology* 2017; vol. 1005. Springer, Singapore.

34. Elliott, A.M. y Friedman, J.M. The importance of genetic counselling in genome-wide sequencing. *Nat Rev Genet.* 2018 Dec; 19(12):735-736. doi: 10.1038/s41576-018-0057-3.
35. Hunter, J.E.; Irving, S.A.; Biesecker, L.G.; Buchanan, A.; Jensen, B. y Lee, K. et al. A standardized, evidence-based protocol to assess clinical actionability of genetic disorders associated with genomic variation. *Genet Med.* 2016; 18:1258-1268.
36. ClinGen actionability. Disponible en: <https://actionability.clinicalgenome.org/ac/Pediatric/ui/summ>. Acceso el 26 diciembre 2019.
37. Paquin, R.S. ; Mittendorf, K.F.; Lewis, M.A. ; Hunter, J.E. ; Lee, K. y Berg, J.S. et al. Expert and lay perspectives on burden, risk, tolerability, and acceptability of clinical interventions for genetic disorders. *Genet Med.* 2019 Nov;21(11):2561-2568. doi: 10.1038/s41436-019-0524-z. Epub 2019 Apr 26.
38. Thauvin-Robinet, C.; Thevenon, J.; Nambot, S.; Delanne, J.; Kuentz, P. y Bruel, A.L. et al. Secondary actionable findings identified by exome sequencing: expected impact on the organisation of care from the study of 700 consecutive tests. *Eur J Hum Genet.* 2019 Aug;27(8):1197-1214. doi: 10.1038/s41431-019-0384-7. Epub 2019 Apr 24.
39. Murray, M.F.; Evans, J.P. y Angrist, M. et al. Discussion paper: a proposed approach for implementing genomics-based screening programs for healthy adults. Published December 3, 2018. Accessed November 19, 2019.





