



T. Pampols (Presidenta)
J.M. García Sagredo
A. Pérez Aytés
A. Díaz de Bustamante (Secretaria)

Marzo 2020

CONSULTA ACERCA DE LA SECUENCIACIÓN DEL EXOMA CON FINES DIAGNÓSTICOS EN MENORES

Una vez valorada la situación por la **Comisión de ética de la AEGH**, teniendo en cuenta documentos internacionales relevantes y la legislación española, respondemos a las preguntas formuladas incluyendo apoyo bibliográfico.

Se plantean tres cuestiones concretas acerca de:

- 1. Revelación de hallazgos incidentales y hallazgos secundarios en la secuenciación del exoma en menores**
- 2. Comunicación de variantes patogénicas en heterocigosis de enfermedades recesivas en menores**
- 3. Confirmación previa de paternidad para la confirmación de VUS en estudios prenatales o en menores**

1. Revelación de hallazgos incidentales y hallazgos secundarios en la secuenciación del exoma en menores

Al secuenciar el exoma se aplica la recomendación del ACMG de, independientemente de la indicación diagnóstica y de la edad, estudiar una lista adicional de genes considerados accionables. Se pide consentimiento informado.

Se emplearán las definiciones siguientes:

Hallazgos incidentales (también llamados inesperados o no solicitados): Hallazgos adicionales que pueden tener o no implicaciones potenciales para la salud y significado clínico, pero no están relacionados con los síntomas de la enfermedad por los que se solicitó la prueba.

Hallazgos secundarios: Hallazgos intencionadamente buscados y secundarios al objetivo que motivó la secuenciación del exoma o del genoma.

1.1) El panel del ACMG o cribado oportunista.

En primer lugar y aunque no se nos pregunta acerca de la aplicación de las recomendaciones del ACMG queremos comentar al respecto que desde su primer documento (1) han sido científica y éticamente controvertidas (2).

El propio ACMG (1) reconocía que los datos sobre su utilidad clínica eran insuficientes para apoyar completamente sus recomendaciones. En sucesivas revisiones han modificado la nomenclatura y cambiado el término hallazgos incidentales por el de “hallazgos secundarios” que es más correcto ya que son hallazgos intencionadamente buscados y secundarios al objetivo que motivó la secuenciación del exoma o del genoma. Se han definido mejor los criterios de accionabilidad, se han añadido y/o quitado genes y se ha creado un grupo de trabajo “Secondary findings maintenance working group” que va actualizando la lista (3) (4). Remarcan así mismo la necesidad del consentimiento para estudiar estos genes no relacionados con la indicación diagnóstica que motivó la secuenciación y que el seguimiento de las recomendaciones del ACMG es voluntario.

En el Congreso de la ESHG de 2014 se discutió ampliamente el tema y no se alcanzó un consenso para recomendar este panel adicional (en el documento se habla todavía inespecíficamente de hallazgos “incidentales”) (5). En las líneas guía de la ESHG y Eurogenetest de 2016 sobre las NGS con propósitos de diagnóstico (6) (7) no se incluye ningún panel secundario, sino que se aconseja usar filtros para reducir en lo posible los hallazgos incidentales en la secuenciación relacionada con la indicación diagnóstica. El Canadian College of Medical Geneticists (8) aconseja también intentar limitar los hallazgos incidentales y no apoya la búsqueda de genes asociados a enfermedades diferentes de las correspondientes al cuadro clínico del paciente. Las recomendaciones de los belgas aconsejan asimismo limitar en lo posible los hallazgos incidentales (9).

El estudio de genes asociados a enfermedades no relacionadas con el objetivo clínico que motivó la secuenciación constituye lo que se denomina un “cribado oportunista” El ACMG ha instituido un cribado oportunista sin una demostración empírica de su valor positivo predictivo ni de los beneficios netos que lo apoyen. No hay ninguna demostración de que la búsqueda de estos resultados secundarios beneficie adecuadamente a la población para justificarlo como una práctica rutinaria. El propio ACMG reconoce (4) que no se ha establecido la utilidad neta de esta aproximación que requiere un esfuerzo adicional y tiene costos asociados incluyendo los de las pruebas confirmatorias de los resultados positivos. La epidemiología demuestra que cuando se buscan enfermedades en población sana o en pacientes sin el cuadro clínico asociado, el valor predictivo positivo desciende porque en la fórmula de cálculo interviene la prevalencia y ésta es más baja en dicho grupo, con lo que aumenta la probabilidad de falsos positivos y deben extremarse las medidas para confirmarlos. Como cribado oportunista carece además de garantías de un entorno de salud pública.

Vale la pena tener en cuenta asimismo que la ASHG, en el caso de la aplicación de las NGS, considera más adecuadas las estrategias dirigidas o selectivas de acuerdo con el problema clínico a resolver que las enfocadas a la adquisición de datos menos discriminativos (10).

Para un análisis crítico de los sucesivos documentos de la ACMG ver la referencia (11), es muy relevante el análisis de los estándares éticos y concluye que el panel adicional o cribado oportunista requiere un consentimiento robusto y por separado del consentimiento para la NGS con motivo diagnóstico, y con posibilidad de decidir sobre qué resultados de genes se quiere conocer en función de los beneficios y riesgos ya que la accionabilidad y penetrancia pueden ser muy distintos, esta última es además difícil de establecer en grupos minoritarios. El consentimiento debe tomarse con asesoramiento genético pre-test.

La necesidad de un CI separado se recoge asimismo en (12), y si bien en esta publicación se habla de cribado oportunista de manera secundaria, es muy claro al respecto.

1.2) Estudios en menores

Vamos a considerar dos situaciones: a) La secuenciación del exoma con finalidades diagnósticas y los hallazgos incidentales y b) Los hallazgos secundarios resultantes de la aplicación del cribado oportunista del ACMG.

a) Secuenciación del exoma o del genoma con finalidades diagnósticas.

Hay un consenso importante en que solo se deben realizar pruebas genéticas en menores si le representan un beneficio claro: Diagnóstico diferencial en el menor con síntomas clínicos y diagnóstico en el menor asintomático de enfermedades tratables o para las que sea posible una intervención en la infancia.

Se rechaza en cambio: La realización de pruebas predictivas en menores asintomáticos para diagnosticar trastornos no prevenibles o tratables de inicio en la edad adulta y la averiguación del estado heterocigoto, porque la información no es clínicamente relevante para el niño y puede crear ansiedad sin ningún potencial de intervención, se vulnera además su autonomía para decidir cuando sea mayor de edad de someterse a una prueba genética y su derecho a no saber. La prueba genética debe practicarse en el buen interés del niño, entendiendo como tal su bienestar.

En este contexto diagnóstico obviamente se deben revelar los resultados primarios pertinentes para el diagnóstico y tratamiento.

En cuanto a los hallazgos incidentales, es decir hallazgos adicionales que pueden tener o no implicaciones potenciales para la salud y significado clínico, pero no están relacionados con los síntomas de la enfermedad por los que se solicitó la prueba, en primer lugar hay que verificar su validez científica, es decir si existe evidencia estadística robusta de la relación entre características genómicas y un fenotipo concreto (variantes patogénicas o probablemente patogénicas). Si la evidencia de la relación estadística es

insuficiente se consideran VUS. En general se recomienda no comunicarlas (a menos que pueda verificarse su significado) pero si anotarlas (7) (13).

Si el hallazgo incidental es científicamente significativo hay que considerar si también es clínicamente significativo y su accionabilidad, hay que utilizar el criterio clínico y tener en cuenta el alcance del consentimiento informado.

Hay un consenso internacional en que se deben reportar los hallazgos incidentales que revelan riesgo para una condición altamente penetrante medicamente accionable y en que no debe comunicarse el riesgo para condiciones de inicio en la edad adulta a menos que los padres lo pidan o la revelación de la información pueda prevenir daño importante para la salud de uno de los progenitores o de un miembro de la familia, determinándolo caso por caso.

Este punto obliga a reuniones/comunicación fluida entre el analista genómico o genetista de laboratorio que firma el estudio y el clínico responsable del paciente y que solicitó la prueba.

No deben revelarse en cambio los resultados que no pueden ser interpretados a nivel individual sin riesgo de inducir a error, los resultados con valor limitado para el participante, los resultados sin validez clínica establecida para una condición sensible o amenazante para la vida y los que planteen dudas respecto a su validez analítica por falta de un sistema de garantía de calidad (14).

Es muy relevante la información que se da en el consentimiento informado acerca de los hallazgos incidentales y las preguntas sobre lo que se desea conocer y lo que no se desea conocer.

Debe explicarse a los padres que se comunicarán aquellos hallazgos incidentales que sean predictivos de riesgo o daños evitables y por lo tanto medicamente importantes para el futuro del niño, incluyendo las enfermedades de aparición en la edad adulta para las que un tratamiento precoz pueda representar beneficios.

En cuanto a los resultados de enfermedades de aparición en la edad adulta no prevenibles ni tratables, una buena política es advertir a los padres que hay un consenso entre los estamentos pediátricos en no comunicarlos.

No es motivo de la consulta el CI, pero apuntamos unas sugerencias respecto a los hallazgos incidentales o inesperados (15) (16) (17):

Hoja de Información:

Hallazgos incidentales: Representan resultados que no están relacionados con los síntomas de la enfermedad y por los cuáles la prueba fue solicitada.

Estos hallazgos pueden indicar una predisposición genética a desarrollar una enfermedad seria en el futuro. Algunas de estas enfermedades podrían manifestarse más tarde a lo largo de la vida y su conocimiento puede en algunas ocasiones prevenir su aparición y desarrollo. En otras ocasiones, el conocimiento de esta información no permitirá prevenir su desarrollo. Usted deberá indicar en la Hoja de Consentimiento Informado si desea o no ser informado sobre la existencia de estos hallazgos inesperados.

Consentimiento informado (preguntas)

Deseo ser informado sobre hallazgos genéticos incidentales no relacionados con la enfermedad que llevó a hacer el estudio, en el caso de que indiquen riesgo de otra enfermedad que sea prevenible o tratable

SI NO

Deseo ser informado sobre hallazgos genéticos incidentales no relacionados con la enfermedad para la que se autoriza el estudio, aunque sean indicativos de riesgo para enfermedades no prevenibles o tratables

SI NO

Deseo ser informado sobre hallazgos genéticos incidentales no relacionados con la enfermedad para la que se autoriza el estudio, indicativos de riesgo de aparición de enfermedades de inicio en la edad adulta prevenibles o tratables

SI NO

Deseo ser informado sobre hallazgos genéticos incidentales no relacionados con la enfermedad para la que se autoriza el estudio, de aparición en la edad adulta, si la revelación de la información pueda prevenir daño para la salud de uno de los progenitores o de un miembro de la familia.

SI NO

Deseo ser informado sobre el estado de portador con impacto sobre decisiones reproductivas

SI NO

b) Hallazgos secundarios resultantes de la aplicación del cribado oportunista del ACMG.

La aplicación del panel de genes recomendado a menores presenta problemas morales porque contiene algunos genes relacionados con enfermedades de aparición en la vida adulta.

Hay un consenso importante en que los estudios en población pediátrica deben evitar identificar enfermedades de aparición en la vida adulta y no debe ofrecerse a los padres el retorno de esta información, si se descubre, a menos que fuese inminentemente relevante para la salud inmediata del niño.

El argumento del ACMG para buscar y retornar este tipo de información es que identificando el riesgo para una enfermedad de aparición en la edad adulta, se beneficia indirectamente al niño porque dado que se trata de enfermedades en principio accionables, promueven la salud de los padres lo cual les capacita para cuidar mejor a su hijo y también por respeto a la autoridad parental. Argumentan asimismo que los beneficios potenciales superan los riesgos para el niño (18).

Sin embargo el foco primario de los proveedores de cuidados de salud es el bienestar del niño, otros enfoques significan tratar al niño como un medio para los fines de otros (los padres) y si queremos reducir la morbilidad y mortalidad de los adultos debemos hacer las pruebas a adultos.

Según este argumento el pediatra no debería ser neutro en cuanto a ofrecer pruebas predictivas a menores para enfermedades de inicio en la edad adulta. La neutralidad supone que hay un equilibrio entre beneficios y riesgos y que el ofrecimiento es moralmente neutro, lo cual no es cierto. Los estamentos pediátricos argumentan en contra de las pruebas predictivas en el niño para trastornos de aparición en la edad adulta para respetar los intereses del niño en cuanto a decidir someterse o no a una prueba genética cuando sea adulto y sostienen el deber de asesorar “directivamente” en contra de estas pruebas (19).

En el niño enfermo el objetivo es proporcionar información que lleve a la elaboración de decisiones inmediatas e informar de los cambios en la secuencia que expliquen el fenotipo, por ello hay autores que no evalúan el panel del ACMG a menos que alguno de los genes incluidos estuviese relacionado directamente con la presentación clínica (20) (21).

Sin embargo también es cierto que la detección incidental durante a) la secuenciación del exoma o genoma, o b) o mediante el cribado oportunista del ACMG, de una enfermedad de aparición en la edad adulta, o la detección del estado de portador de una enfermedad mendeliana, es una información sanitaria importante para la familia, que se ha obtenido durante un proceso asistencial y ocultarla también vulnera el derecho a saber (Ley 14/2007 de Investigación biomédica) y el derecho a conocer la información (Ley 41/2002 de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica). Por otra parte tampoco hay suficientes datos empíricos que sugieran que la probabilidad de dañar al niño es lo suficientemente alta para privar a los padres de esta información que potencialmente podría mejorar la vida y la capacidad de los padres de cuidar a su hijo tomando medidas en base a esta información. Ocultar el estado heterocigoto de su hijo a los padres es también una posición paternalista que presupone una incapacidad para manejar esta información.

Por lo tanto la posición de ofrecer información anticipadamente a los padres en el entorno del asesoramiento genético, preguntar qué información desean conocer (respeto al derecho a no saber) y comunicar los resultados teniendo en cuenta la voluntad expresada en el consentimiento informado sería una posición coherente con la Ley 41/2002 (Capítulo 2. Artículo 4) y también con la Ley 14/2007 de Investigación biomédica (Artículo 4, punto 5), vale la pena destacar que en este punto se contempla que en el caso de que la información obtenida, según criterio de médico responsable, fuese necesario revelarla para evitar un grave perjuicio para la salud del paciente o la

familia, se informará a un familiar próximo o a un representante previa consulta al comité de ética asistencial independientemente de sus deseos individuales.

En conclusión debe ofrecerse a los padres una cuidadosa discusión sobre riesgos y beneficios de recibir la información y dar la opción de recibir o declinar estos hallazgos y se debe implicar al menor en la decisión en la medida en que el niño sea capaz de participar. En España según la doctrina del menor maduro (12-15 años) debe firmar su asentimiento junto con el consentimiento de los padres /tutor. Los 16 años son ya la mayoría de edad sanitaria. En el caso de que el menor no desee conocer información sobre enfermedades de aparición en la edad adulta y los padres si, se pueden ofrecer pruebas genéticas a los padres. En cuanto al consentimiento de los padres si la patria potestad es compartida deben firmar los dos, si solo firma uno debe poner por escrito que el otro progenitor/a ha sido informado/a y está de acuerdo.

Si se aplica este cribado oportunista del ACMG debe redactarse una hoja de información y un consentimiento informado específicos adecuado y separado del consentimiento para la prueba con finalidades diagnósticas en función del cuadro clínico.

Es importante que si se decide aplicarlo se analicen los costos, resultados, falsos positivos, posible sobrediagnóstico, efectividad e implicaciones psicológicas y se reporte a la comunidad científica.

2. Comunicación de variantes patogénicas en heterocigosis de enfermedades recesivas en menores

Sí, siempre y cuando se haya anticipado información sobre la posibilidad de este hallazgo y se haya pedido consentimiento para revelar los resultados. Ver también argumentación en la pregunta anterior. En la hoja de información se habrá indicado claramente la extensión de la prueba realizada: panel de genes de interés, exoma, genoma, etc. En el transcurso del asesoramiento genético se comentará cómo y cuándo será oportuno comunicar la información al menor y se ofrecerá ayuda para ello.

3. Confirmación previa de paternidad para la confirmación de VUS en estudios prenatales o en menores

Cabe la posibilidad de necesitar el estudio por Sanger de segregación en progenitores, de una variante detectada en el menor o prenatalmente por NGS. Que aparezca la variante en uno de los progenitores, sano, nos puede ayudar a reclasificar la variante como benigna. Pero NO detectarla en ninguno, y considerarla “de novo” nos la puede clasificar en probablemente patogénica, con decisiones importantes. Aquí es donde es fundamental estar seguros de la paternidad, y es el motivo de la cuestión planteada.

Pedir primero una confirmación de paternidad en los estudios prenatales presupone una duda que puede impactar psicológicamente en la unidad familiar, dado que si en este caso se trata además de una gestación en curso la situación puede ser todavía más delicada. La probabilidad de que la paternidad concuerde es además muchísimo más elevada que una discordancia, por lo tanto, en función de los resultados, y si fuese realmente necesario asegurar la paternidad, podría plantearse con la debida prudencia hablando primero por ejemplo con la madre en la consulta de consejo genético. El mismo razonamiento aplicaría a los estudios en menores.

Cuando una prueba genética puede revelar una paternidad discordante el asesor genético debe anticipar las consecuencias y los posibles cursos de acción, teniendo en cuenta que los dos principios básicos en la interacción entre el profesional y el paciente son el respeto por la persona y la integridad de la familia (22).

Idealmente el consejero genético debería prevenir la situación en una consulta previa informando a solas a la mujer de que la prueba genética puede desvelar una no-paternidad (23). Si una prueba genética puede revelar incidentalmente una no paternidad este hecho debe ser incluido en la descripción de riesgos en el consentimiento informado (22) remarcando que las personas tienen derecho a elegir no conocer esta información.

Por otra parte, los resultados no médicos sin relevancia directa para la salud en un sentido amplio como la no paternidad biológica, pueden ser omitidos si fuera necesario proteger a la parte más vulnerable. El consejero genético debe tener en cuenta el bienestar de la familia, y tener presente que, en algunas circunstancias o sociedades, la mujer se puede encontrar en una situación de vulnerabilidad y ser objeto de abusos físicos, sociales, psicológicos y económicos.

En el caso de que la revelación pudiera proporcionar información relevante para futuros embarazos, sería suficiente informar a la madre y que ésta decida cómo utilizar esta información. Si la madre llega a la conclusión de que su entorno social y psicológico le permite revelarlo sin que ella o el niño sufran daños (consecuencias físicas, psicológicas, sociales, económicas), el consejero genético la apoyará, resaltando los beneficios potenciales de la revelación y la ayudará en el proceso.

Esta posición de revelar la no-paternidad únicamente a la madre es la adoptada por la gran mayoría de consejeros genéticos en todos los países, invocando la confidencialidad de la madre y la protección de la familia (23) (24) (25). Es también la defendida por el Committee on Assessing Genetic Risks, del Institute Of Medicine con el argumento de la no-disrupción de la familia (26) y por la OMS para evitar daños a la madre y al niño (22) Sin embargo, ambas aceptan que puede haber circunstancias que requieran informar a la pareja. Ya en 1983, el informe de la President's Commission for the Study of Ethical Problems in Biomedical and Behavioural Research (27) sostenía que debe informarse a ambos miembros de la pareja de la falsa-paternidad. Hay, así mismo, autores que argumentan que informar únicamente a la madre no es ético, en tanto que la pareja y los hijos también son pacientes del consejero genético y que ocultarles información importante acerca de su historial genético es contrario a los principios éticos y obligaciones del consejero genético(28).

En el caso que se consulta no es la prueba genética en sí misma la que revelaría una paternidad discordante sino que se propone una prueba genética adicional de paternidad. Pero las

reflexiones anteriores aplicarían igualmente al planteamiento de la prueba y revelación de los resultados de la misma, con especial atención a la protección de la integridad familiar y de la parte vulnerable (principio de no maleficencia).

***La comisión de ética de la AEGH
Marzo 2020***

Bibliografía de apoyo

1. Green RC et al. American College of Medical Genetics. American College of Medical Genetics recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med* 2013; 15(7): 565-574
2. Holtzman NA. American College of Medical Genetics and Genomics recommendations on incidental findings are flawed scientifically and ethically. *Genetics in Medicine* 2013;15: 750-751
3. American College of Medical Genetics and Genomics policy statement: updated recommendations regarding analysis and reporting of secondary findings in clinical genome-scale sequencing. *Genet Med* 2015; 17(1):68-69
4. Kalia SS et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing 2016 update (ACMG SF v2.09: a policy statement of the American College of Genetics and Genomics. *Genet Med* 2017; 19(3): 249-255
5. Hehir-Kwa J Y et al. Towards an european consensus for reporting incidental findings during clinical NGS testing. *Eur J Hum Genet* 2015; 1-6
6. van El CG et al. Whole genome sequencing in health care. Recommendations of the European Society of Human Genetics. *Eur J Hum Genet* 2013; 21: 580-584
7. Matthisjs G et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet* 2016; 24: 2-5
8. The Clinical application of genome-wide sequencing for monogenic diseases in Canada: Position statement of the Canadian College of Medical Genetics. *J Med Genet* 2015; 103-114
9. The use of whole genome sequencing in clinical practice: challenges and organizational consideration for Belgium. KCE report 300, 2018
10. Botkin JR et al. ASHG position statement. Points to consider: Ethical, legal and psychosocial implications of genetic testing in children and adolescents. *The Am J Hum Genet* 2015; 97: 6-21
11. Wolf SM. The continuing Evolution of ethical standards for genomic sequencing in clinical care: Restoring patient Choice. *J law Med Ethics* 2017; 45(3): 333-340
12. PHG Foundation, managing incidental and pertinent findings from WGS in the 100.000 genomes project. April 2013

13. Holm IA et al. From sequence data to returnable results: ethical issues in variant calling and interpretation. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers* 2017; 21(3): 178-183
14. Clarke AJ. Managing the ethical challenges of next generation sequencing in genomic medicine. *Brit Med Bull* 2014; 111: 17-30
15. Bunnik BM et al. A tiered –layered-staged model for informed consent in personal genome testing. *Eur J Hum Genet* 2013; 21: 596-601
16. Ayuso C et al. Informed consent for whole genome sequencing studies in the clinical setting. Proposed recommendations on essential consent and process. *Eur J Hum Genet* 2013; 21: 1054-1059
17. Rigter T et al. Reflecting on earlier experiences with unsolicited findings: points to consider for next generation sequencing and informed consent in diagnosis. *Hum Mutat* 2013; 34(10): 1322-1328
18. Willfond B et al. Disclosing secondary findings from pediatric sequencing to families: considering the benefits to families. *J Law Med Ethics* 2015; 43(3): 552-558
19. Friedman Ross L, E W Clayton. Ethical issues in newborn sequencing research: the case study of BabySeq. *Pediatrics* 2019; 144(6).e20191031
20. Saunders CJ et al. Rapid whole-exome sequencing for genetic disease diagnosis in neonatal intensive care units. *Sci Transl Med* 2012; 4(154): 154ra135
21. Smith LD et al. Whole-exome sequencing in critically ill neonates suspected to have single-gene disorders. *Clod Sprin Harb Perspect Med.* 2015; 6(2): a023168
22. Wertz D, Fletcher JC, Mulvihill JJ. Medical geneticists confront ethical dilemmas: Cross-cultural comparisons among 19 nations. *Am J Hum Genet* 1990; 46: 1202
23. Lucast EK. Informed consent and the misattributed paternity problem in genetic counselling. *Bioethics* 2007; 21(1): 41-50
24. Pencarinha D, Bell NK, Edwards JG, Best RG. Ethical issues in genetic counselling: A comparison of M.S. Counselor and medical geneticist perspectives. *J Genet Couns* 1992; 1(1); 23
25. Wertz D, Fletcher JC, Mulvihill JJ. Medical geneticists confront ethical dilemmas: Cross-cultural comparisons among 19 nations. *Am J Hum Genet* 1990; 46: 1202
26. Andrews LB, Fullarton JE, Holtzman NA, Motulsky AG (eds.). Committee on Assessing Genetic Risks, Institute Of Medicine. *Assessing Genetic risks: Implications for Health and Social Policy.* National Academy Press, Washington DC, 1994.

27. President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioural Research. Screening and counselling for genetic conditions: the ethical, legal and social implications of genetic screening, counselling and education programs. Washington DC, 1983; pp.60-1.
28. Ross LF. Disclosing misattributed paternity. *Bioethics* 1996; 10(2): 114-30.