

**Diagnóstico genético del síndrome de Rett:  
Primer paso para una terapia farmacológica.  
Estudio en los genes implicados y correlación  
fenotipo-genotipo.**

**Fundació Sant Joan de Déu  
Hospital Sant Joan de Déu Barcelona**

**2009**

## ÍNDICE

|  | Página |
|--|--------|
| 1. Descripción del proyecto .....                      | 1      |
| 2. Datos del centro solicitante .....                  | 1      |
| 3. Datos del equipo investigador Sant Joan de Déu..... | 1      |
| 4. Estado actual del tema.....                         | 2      |
| 5. Relevancia social y beneficios científicos.....     | 5      |
| 6. Hipótesis de trabajo .....                          | 6      |
| 7. Objetivo principal .....                            | 6      |
| 8. Objetivos secundarios.....                          | 6      |
| 9. Metodología .....                                   | 7      |
| 10. Plan de trabajo detallado .....                    | 9      |
| 11. Presupuesto detallado .....                        | 11     |
| 12. Presupuesto general.....                           | 12     |
| 13. Resultados esperados .....                         | 12     |
| 14. Impacto potencial esperado .....                   | 13     |
| 15. Historial científico del grupo .....               | 14     |
| 16. Bibliografía sobre el tema .....                   | 24     |

## 1. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

|                         |   |
|-------------------------|---|
| <b>Título:</b>          | Diagnóstico genético del síndrome de Rett: Primer paso para una terapia farmacológica. Estudio en los genes implicados y correlación fenotipo-genotipo. |
| <b>Área:</b>            | Clínica y Genética  |
| <b>Palabras Claves:</b> | Síndrome de Rett, mutaciones puntuales, deleciones, RNA   |

## 2. DATOS DEL CENTRO SOLICITANTE

|  |                         |                         |
|--|-------------------------|-------------------------|
| <b>Nombre o razón social:</b> Fundació Sant Joan de Déu<br>(En colaboración con Hospital Sant Joan de Déu Barcelona) |                         |                         |
| <b>C.I.F:</b> G-62978689   |                         |                         |
| <b>Representante legal:</b> Dr. Josep M. Haro  |                         |                         |
| <b>Representante a efectos de comunicación:</b> Mercè Tura   |                         |                         |
| <b>Domicilio:</b> C/ Santa Rosa 39-57. Cuarta Planta<br>Edificio Docente Sant Joan de Déu                            |                         |                         |
| <b>Ciudad:</b> Esplugues de Llobregat  | <b>C. Postal:</b> 08950 |                         |
| <b>Provincia:</b> Barcelona  |                         |                         |
| Teléfono: 93 600 97 51   | Fax: 93 600 97 71       | E-Mail: jmharo@fsjd.org |

## 3. DATOS DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN DE SANT JOAN DE DÉU

| EQUIPO DE INVESTIGADORES HSJD |              |  |
|-------------------------------|--------------|--|
| Investigador Principal        | J. Armstrong | Doctora Genética Molecular             |
| Investigador/a                | M. Pineda    | Doctora adjunta servicio de Neurología |
| Ayudante investigador/a       | A determinar | Licenciado/a en Biología               |
| Ayudante investigador/a       | A. Roche     | Licenciada en Medicina                 |
| Técnico                       | E. Gerotina  | Técnico Superior Especialista          |
| EQUIPO DE APOYO FSJD          |              |  |
| Dr. Josep Maria Haro          |              | Director Fundación San Juan de Dios    |
| Mercè Tura                    |              | Área de Marketing                      |
| Laia Lagunas                  |              | Gestión de la Investigación            |

## 4. ESTADO ACTUAL DEL TEMA

El proyecto para el cual se solicita ayuda forma parte de un proyecto de investigación más amplio, iniciado el 1999 titulado “Estudio de las bases genéticas del síndrome de Rett”, y continuado en el 2008 con el estudio titulado “Estudios de correlación fenotipo-genotipo en el síndrome de Rett. Estudio de deleciones del gen *MECP2* y de otros genes”. En la actualidad se ha puesto de manifiesto la heterogeneidad genética del s. de Rett y la necesidad de determinar, a nivel molecular, qué genes se encuentran mutados y el tipo de mutación para abordar una terapia génica, proteica o farmacológica.

### ASPECTOS CLÍNICOS DEL SÍNDROME DE RETT

El síndrome de Rett (RTT;[OMIM 312750]) es una grave enfermedad del neurodesarrollo, que afecta principalmente a niñas. Constituye la segunda causa de retraso mental profundo más frecuente en mujeres después del síndrome de Down, con una incidencia de 1:10 000 de recién nacidas. En España se considera que hay 2500 niñas afectadas y en Cataluña 350.

La enfermedad, en su **forma clásica**, afecta sólo a niñas y se caracteriza por un periodo de desarrollo aparentemente normal durante los primeros 6-18 meses de vida, seguido por una regresión de las funciones adquiridas a nivel motor, con pérdida del lenguaje, conducta autista, apraxia de la marcha, espasticidad progresiva, epilepsia, detención del crecimiento del perímetro craneal y la presencia de estereotipias manuales. Secundariamente se instaura un retraso pondoestatural con un grado variable de malnutrición y un cuadro clínico que se agrava por crisis epilépticas severas, de hiperventilación y apneas. A medida que la paciente llega a la edad adulta, las malformaciones esqueléticas tienden a agudizarse, aumentando la rigidez y los trastornos tróficos. La esperanza de vida de las pacientes se estima del 70% a los 35 años.

El diagnóstico del RTT se realiza mediante criterios clínicos, definidos por *The Rett Syndrome Diagnostic Criteria Work Group*, realizado en Baden-Baden (2001), los cuales incluyen criterios necesarios, criterios de soporte y de exclusión. El diagnóstico clínico se ve dificultado por la presencia de **formas atípicas** con una gran variabilidad en el grado de severidad y de progresión de la enfermedad (constituyen el 20% de los casos RTT). Las formas atípicas son:

- Forma congénita: inicio neonatal, con presentación clínica semejante a la forma clásica.
- Variante con epilepsia precoz: inicio de las crisis epilépticas antes de los 3 meses de edad, con una presentación dominada por convulsiones.
- Variante con regresión tardía: inicio alrededor de los 4 años, no adquiere el cuadro típico hasta los 10 años.
- Variante con lenguaje conservado: las pacientes conservan un cierto lenguaje propositivo.

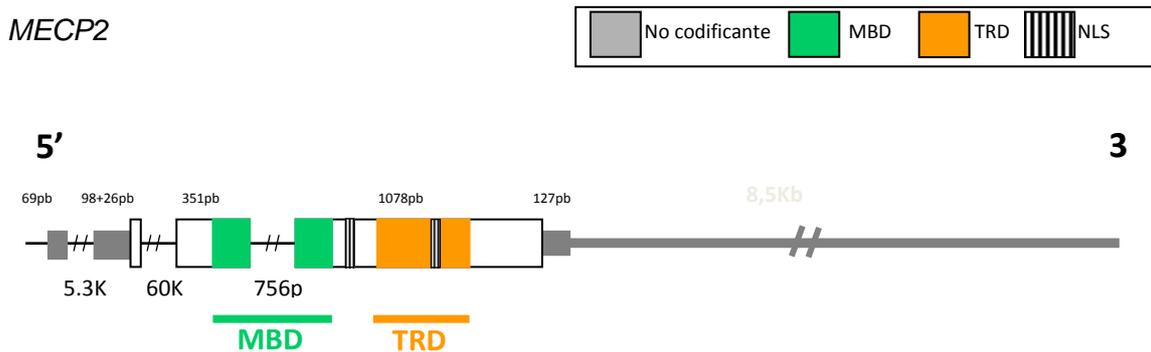
### ASPECTOS GENÉTICOS DEL SÍNDROME DE RETT

El gen *MECP2* responsable del RTT fue identificado a finales de 1999 en Xq28 (Amir et al, 1999), y actualmente sabemos que el RTT es una enfermedad

dominante ligada al cromosoma X, causada en un elevado porcentaje de casos por mutaciones *de novo* en la región codificante del gen *MECP2*.

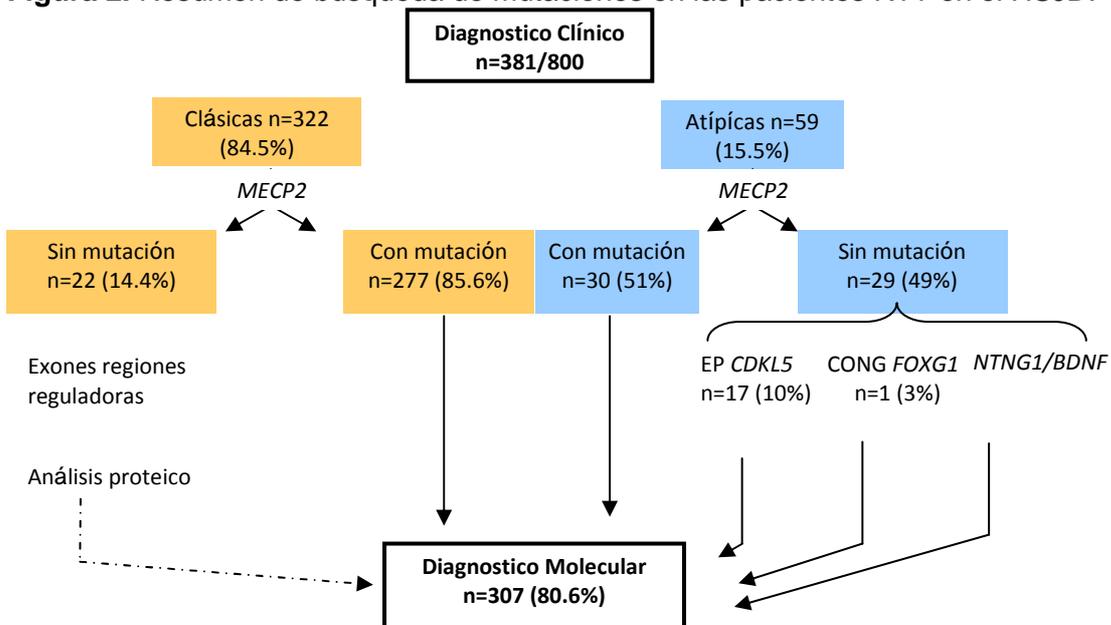
*MECP2* codifica la proteína methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP2). La proteína contiene dos dominios funcionales: el dominio de unión al DNA y el dominio catalítico (Figura1). MeCP2 se une selectivamente a dinucleótidos CpG metilados y forma un complejo inhibitor mediante la unión a Sin3A y HDCA, capaz de modificar la estructura de la cromatina e inhibir la expresión de otros genes.

**Figura 1.** Esquema de los genes *MECP2*, *CDKL5* y *FOXG1*



El 80% de pacientes presentan mutación en el gen *MECP2* y una gran mayoría, presentan la forma clásica de la enfermedad. Recientemente, se han descrito varios genes que están mutados en pacientes con formas atípicas del RTT: los genes *CDKL5* y *NTNG1* se encuentran mutados mayoritariamente en pacientes con epilepsia precoz o rebelde y tardía, respectivamente; en cambio el gen *FOXG1* se encuentra mutado en pacientes con la variante congénita.

**Figura 2.** Resumen de búsqueda de mutaciones en las pacientes RTT en el HSJD.



## TERAPIAS EN EL SÍNDROME DE RETT

En febrero de 2007, salió publicado un artículo revelador en el RTT: ratones transgénicos *KO* para *mecp2*, revertían el fenotipo al activarse selectivamente el gen *mecp2* delecionado (Guy, et al. 2007). Este descubrimiento puso de manifiesto que si se reestablecía la función de MeCP2, se podía recuperar el fenotipo perdido, la normalidad quedaría aparentemente reestablecida. Desde entonces, varios grupos de investigación han intentado, primero, confirmar estos resultados, y segundo iniciar ensayos de terapia génica, proteica o farmacológica para encontrar la manera de suplementar-substituir la falta de MeCP2 funcional en las pacientes RTT.

En los últimos congresos sobre el RTT celebrados el año pasado en Paris (6th World Congress on Rett Syndrome, Octubre 2008) y en Milán el pasado junio (1st European Congress on RTT, Junio 2009) empezaron a dar las claves de estas posibles terapias. Las terapias génicas o proteicas tienen un periodo de actuación a largo plazo (20 años) ya que es imprescindible el conocimiento de la función molecular y celular de MeCP2 para su puesta a punto. La terapia farmacológica, no es la solución al problema, pero permitiría una mejoría en la calidad de vida de las pacientes con un plazo de actuación más corto. En cualquier caso, es imprescindible un diagnóstico clínico certero y una comprobación molecular de la enfermedad para poder iniciar cualquiera de estos tratamientos.

## DIAGNOSTICO MOLECULAR DEL SÍNDROME DE RETT

En el Hospital Sant Joan de Déu (HSJD) se ofrece diagnóstico molecular desde que se descubrió el gen *MECP2* como responsable del RTT (Tabla1). Desde entonces, se han puesto a punto y optimizado técnicas y metodologías para poder detectar el mayor número de mutaciones en las pacientes RTT, siendo una herramienta diagnóstica de apoyo al diagnóstico clínico, y abriendo las puertas al consejo genético familiar y al diagnóstico prenatal. Aun y así, no se detectan el 100% de los casos con RTT: el 80% de las pacientes RTT diagnosticadas clínicamente en nuestro hospital consiguen un diagnóstico molecular, abarcando el abanico de los distintos genes responsables del RTT (*CDKL5*, *NTNG1*, *FOXP1* y *BDNF*). El 20% restante, teniendo un diagnóstico clínico de RTT, no puede detectarse a nivel molecular la mutación causante de la enfermedad, y en caso de encontrarse una terapia a la enfermedad, no podrían beneficiarse de ella.

**Tabla 1.** Mutaciones más frecuentes en el gen *MECP2* en pacientes RTT españolas.

| Mutación <i>MECP2</i>   | N (%)     |
|-------------------------|-----------|
| c.502C>T (p. R168X)     | 29 (11.9) |
| c.763C>T (p. R255X)     | 27 (11)   |
| c.473C>T (p. T158M)     | 24 (9.8)  |
| c.808C>T (p. R270X)     | 20 (8.2)  |
| c.916C>T (p. R306C)     | 14 (5.7)  |
| c.880C>T (p. R294X)     | 13 (5.4)  |
| c.397C>T (p. R133C)     | 10 (4.1)  |
| c.806delG (p G269fs)    | 10 (4.1)  |
| c.316C>T (p. R106W)     | 06 (2.6)  |
| C-ter del               | 20 (8.2)  |
| Grandes reordenamientos | 19 (7.8)  |

## 5. RELEVANCIA SOCIAL Y BENEFICIOS CIENTÍFICOS

- El conocimiento de las causas genéticas del RTT permitirán una confirmación diagnóstica, así como el poder dar a las familias un consejo genético familiar (prevención).
- Conocer con exactitud la anomalía genética y poder realizar la correlación genotipo-fenotipo de estas pacientes, nos ayudará a dar un pronóstico evolutivo y de gravedad de la enfermedad a los padres.
- El estudio de los factores que agravan la evolución neurológica de estas pacientes (epilepsia, escoliosis, trastornos respiratorios etc.) permitirá su posible corrección y la mejoría de su calidad de vida.
- Los hallazgos del estudio permitirán estudiar en profundidad las necesidades específicas y esenciales de cada paciente según la anomalía genética encontrada, y aplicar una terapia a la enfermedad en un futuro muy próximo.

## 6. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Determinar la patogenicidad de las mutaciones y polimorfismos detectados en los genes *MECP2*, *CDKL5*, *FOXG1*, *NTNG1* i *BDNF* responsables del RTT en todas las pacientes diagnosticadas clínicamente como RTT y poder determinar la expresión clínica en las pacientes (correlación genotipo-fenotipo).

## 7. OBJETIVO PRINCIPAL

- Estudiar el genotipo de los pacientes con RTT en las que no se ha encontrado una mutación puntual en los exones 3 y 4, ni grandes reordenamiento génicos del gen *MECP2*. Búsqueda de mutaciones en los genes *CDKL5* y *FOXG1* en las formas atípicas del RTT, variante con epilepsia precoz y forma congénita respectivamente
- Estudiar el fenotipo de las pacientes con los ítems recogidos en la base datos utilizados específicamente para el RTT; definir su forma clínica (clásica o variante) y determinar la severidad clínica aplicando nuestro *check-list* de discapacidad
- Correlacionar el fenotipo con el genotipo con el fin de poder ofrecer un pronóstico clínico y un consejo familiar y prenatal

## 8. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Estudiar el genotipo de los pacientes con RTT en las que no se ha encontrado una mutación puntual en los exones 3 y 4, ni grandes reordenamiento génicos del gen *MECP2*. Según la clínica que presente la paciente, la búsqueda de mutaciones se centrará en uno u otro gen:
  - forma clásica: búsqueda de mutaciones en las regiones no codificantes (exones 1 y 2) del gen *MECP2*, a nivel de DNA y RNA para descartar los fenómenos de *exon skipping* e *intron inclusión*. Confirmación de los resultados por estudios funcionales
  - forma congénita: búsqueda de mutaciones en el gen *FOXG1*
  - variante con epilepsia precoz: búsqueda de mutaciones en el gen *CDKL5/NTNG1*
  - las demás formas atípicas: búsqueda de mutaciones en los genes que se vayan describiendo como responsables del RTT.
- Determinar el genotipo del polimorfismo V66M del gen *BDNF* en todas las pacientes RTT. Este polimorfismo parece tener un papel importante en la aparición de crisis epilépticas en RTT, y así se puede llegar a un pronóstico en la aparición de epilepsia y la gravedad de la misma.
- Comprobación de todas las mutaciones no descritas y polimorfismos encontrados en nuestra serie mediante distintos ensayos de expresión proteica.

- Realizar estudios de inactivación del cromosoma X en los progenitores, para conocer el origen del cromosoma X portador de la mutación.

## 9. METODOLOGÍA

- Diseño. Estudio no experimental, transversal analítico y clínico de tres años de duración.
- Sujetos de estudio: pacientes que presentan los criterios diagnósticos necesarios y de soporte de RTT sin mutación molecular detectada. Se determinará la forma clínica de las pacientes para orientar los estudios moleculares
- Utilizar la base de datos creada para el RTT (FIS 99/0039-00). Se aplicará y actualizará en todas aquellas pacientes en las que hasta la actualidad no se ha encontrado una mutación patogénica en los estudios genéticos realizados
- Diseñar una base de datos específica para la variante de epilepsia precoz con ítems sobre el tipo de crisis, EEG, edad y respuesta a fármacos antiepilépticos. Así aplicar el *check list* de gravedad clínica (reconocido a nivel internacional) para correlacionarlo la mutación encontrada.
- Estudios moleculares:
  1. Se analizarán los exones 1 y 2 del gen *MECP2* por secuenciación directa el DNA de las pacientes diagnosticadas con la forma clásica. Se confirmará el resultado del cambio encontrado por RNA, y en caso necesario, se estudiará si el cambio afecta la unión de proteínas al DNA que regulen la expresión de *MECP2* y expliquen la patogenicidad del cambio encontrado en ésta región no codificante. Puesta a punto de técnicas proteicas necesarias para caracterizar las posibles proteínas unidas a DNA en esta región.
  2. Se analizará la región codificante y no codificante del gen *CDKL5* por secuenciación directa del DNA de las pacientes diagnosticadas con la variante con epilepsia precoz o rebelde al tratamiento. Se confirmará el resultado del cambio encontrado consultando las bases de datos generales o, en su defecto, confirmando el resultado en RNA para los cambios detectados en región no codificante, realizando estudios de mutagénesis dirigida en cultivos celulares y/o ensayos de actividad enzimática de la luciferasa.
  3. Se analizará la región codificante y no codificante del gen *FOXP1* por secuenciación directa del DNA de las pacientes diagnosticadas con la forma congénita. Se confirmará el resultado del cambio encontrado consultando las bases de datos o, en su defecto, confirmando el resultado en RNA para los cambios detectados en región no codificante, realizando estudios de mutagénesis dirigida en cultivos celulares y/o ensayos de actividad enzimática de la luciferasa.
  4. Se determinará el genotipo del polimorfismo V66M del en BDNF en todas las pacientes RTT, utilizando qPCR con sondas específicas y el AB7500 Real Time PCR System.

5. Aunque la mayoría de los casos las mutaciones son *de novo*, se analizarán los progenitores de las pacientes con mutación identificada y 100 individuos control de todos los casos.

6. Se determinará el patrón de inactivación del cromosoma X de todos los casos posibles, utilizando *primers* marcados con FAM, electroforesis por ABI3130 y análisis de fragmentos en GeneMapper.

7. En caso de que aparezcan genes nuevos responsables del RTT, poner a punto la técnica para detectar el espectro de mutaciones de dichos genes en nuestra serie de pacientes.

- Las variables clínicas y genéticas se recogerán en bases de datos (Microsoft Acces). Se tabularán variables cuantitativas y categóricas. Los estudios estadísticos se realizarán con el programa estadístico SPSS 11.0, aplicando básicamente pruebas para estudio de distribución de datos (Kolmogorov-Smirnov), de comparación de datos cuantitativos (t de Student, U de Mann-whitney), de correlación simple (pruebas de Pearson y Spearman) y de regresión múltiple según los datos analizados.

- Dificultades y limitaciones de estudio: Quizás la principal limitación de este proyecto sea la imposibilidad de lograr encontrar una anomalía genética en todas las pacientes que se hallan en el banco de ADN con diagnóstico clínico de RTT.

## 10. PLAN DE TRABAJO DETALLADO

|  | 2010  | 2011  | 2012  |
|--|-------|-------|-------|
| Diagnostico y clasificación de los pacientes             | ----- |       |       |
| Obtención de muestras                                    | ----- |       |       |
| Montaje de técnicas genéticas                            | ----- |       |       |
| Análisis exones 1 y 2 del gen <i>MECP2</i>               | ----- |       |       |
| Análisis de mutaciones genes <i>CDKL5</i> y <i>FOXG1</i> | ----- |       |       |
| Estudio polimorfismo <i>BDNF</i>                         | ----- |       |       |
| Estudios de inactivación X                               |       | ----- |       |
| Estudios de otros genes                                  |       | ----- |       |
| Correlaciones fenotipo y genotipo                        |       | ----- |       |
| Resultados y publicación de los datos obtenidos          |       |       | ----- |

### Participantes y actividades

- Dra. Judith Armstrong Morón. Adjunto del servicio de Genética Molecular, supervisión de los estudios genéticos y coordinador del proyecto
- Dra. Mercè Pineda Marfà. Adjunto de neurología y supervisión de los estudios clínicos.
- Estudiante predoctoral. Licenciado en biología tiempo completo, se encargará de la obtención de muestras, montaje de técnicas genéticas y análisis del gen *MECP2* de pacientes RTT y estudios funcionales de las mutaciones encontradas. Actualización de las bases de datos genética.
- Estudiante predoctoral. Licenciado adscrito al Servicio de Neurología a tiempo completo. Esta persona se encargará de revisar y completar la base de datos clínicos a todas las pacientes enrolados en el estudio, y de aplicar además el *check list* de evaluación de la severidad y revisar las vídeo filmaciones.
- Edgar Gerotina. Técnico de Laboratorio, análisis de pacientes RTT en los genes *CDKL5* y *FOXG1*, determinación del polimorfismo V66M y patrón de inactivación del X.

### Colaboraciones Internacionales:

- IRSA (Internacional Rett Syndrome Association), Estados Unidos.  
El contacto es continuo con la IRSA, principal financiador de los proyectos de investigación del S. de Rett, y fuente de información de cualquier evento sobre el tema.
- L.Villard, Marsella. Francia  
Intercambio de información clínica y genética, posibilidad de creación conjunta de una base de datos europea de S. de Rett. Puesta a punto de terapia farmacológicas para mejorar su calidad de vida.
- H. Leonard, J. Christodolou, Australia  
Intercambio de Información clínica y genética, y actualización sobre la base de datos que existe a nivel internacional (<http://mecp2.chw.edu.au/>) en la que constan más de 300 pacientes españolas con su correspondiente datos clínicos y estudio genéticos realizados.

Bebbington A, Anderson A, Ravine D, Fyfe S, Pineda M, de Klerk N, Ben-Zeev B, Yatawara N, Percy A, Kaufmann WE, Leonard H. Investigating genotype-phenotype relationships in Rett syndrome using an international data set. *Neurology*. 2008 Mar 11;70(11):868-75.

Louise S, Fyfe S, Bebbington A, Bahi.Buisson N, Anderson A, Pineda M, Percy A, Ben-Zeev B, Wu X, Bao X, McLeod P, Armstrong J, Leonard H. InterRett, a model for international data collection in a rare genetic disorder. *Research in Autism Spectrum Disorders*. **En prensa**.

- A. Clark, Cardiff University, Glasgow, Escocia

Se han enviado muestras de pacientes Rett españolas para que estudien la inactivación del cromosoma X con técnicas que el Hospital Sant Joan de Déu no disponía.

- M. D' Esposito, Nápoles Italia

Intercambio de técnicas, información clínica y muestras de pacientes en la que ha salido publicado un estudio:

Della Ragione F, Tiunova A, Vacca M, Strazzullo M, González E, Armstrong J, Valero R, Campanile C, Pineda M, Hulten M, Monros E, D'Esposito M, Prokhortchouk E (2006) The X-linked methyl binding protein gene Kaiso is highly expressed in brain but is not mutated in Rett syndrome patients. *Gene*.373:83-9

- A. Ranieri, Siena Italia

Intercambio de técnicas y muestras de pacientes, que han permitido encontrar el gen FOXP1 como el responsable de la forma congénita de RTT. Se ha publicado un artículo conjunto:

Mencarelli MA, Spanol-Rosseto A, Artuso R, Rondinella D, Bahi-Buisson N, Nectoux J, Rubinsztaj R, Bienvenu T, Moncla A, Chabrol B, Villard L, Krumina Z, Armstrong J, Roche A, Pineda M, Gak E, Mari F, Ariani F, Renieri A. New mutations in *FOXP1* in Rett syndrome patients. *J Med Genet*. 2009 Jul 2. [Epub ahead of print]

- M.Esteller, CNIO, Madrid

Intercambio de técnicas, Información clínica y muestra de pacientes en la que ha salido publicado un estudio:

Ballestar E, Ropero S, Alaminos M, Armstrong J, Setien F, Agrelo R, Fraga MF, Herranz M, Avila S, Pineda M, Monros E, Esteller M. (2005) The impact of MECP2 mutations in the expression patterns of Rett Syndrome patients. *Hum Genet*. 116(1-2): 91-104

### **Lugar de realización del proyecto.**

Hospital Sant Joan de Déu (Esplugues de Llobregat, Barcelona).

Participarán los siguientes servicios:

Genética molecular.

Neuropediatría.

Respecto a los investigadores implicados en el proyecto, tanto el personal clínico como el de laboratorio poseen la experiencia y formación suficientes para realizar este proyecto.

## 11. PRESUPUESTO DETALLADO

### JUSTIFICACIÓN

#### 1. PERSONAL

- Contratación de un licenciado adscrito al Laboratorio de Genética Molecular a tiempo completo. Esta persona realizará la obtención de muestras, montaje de técnicas genéticas y análisis del gen *MECP2* de pacientes RTT y estudios funcionales de las mutaciones encontradas de las muestras extracción de ADN y los estudios genéticos.

Estos procedimientos son costosos en términos de tiempo, y requieren un buen entrenamiento, en especial los procedimientos de secuenciación de los exones en regiones no codificantes del gen *MECP2* y el cultivos celulares para realizar los ensayos funcionales.

- Contratación licenciado adscrito al Servicio de Neuropediatría a tiempo completo. Esta persona se encargará de revisar y completar la base de datos clínicos a todas las pacientes enrolados en el estudio, y de aplicar además el *check list* de evaluación de la severidad y revisar los vídeos y filmaciones, para detallar sus signos clínicos.

Asimismo, organizará la solicitud de análisis en las pacientes nuevas que aparezcan en estos tres años, así como clasificar clínicamente a las pacientes RTT y poder orientar los estudios genéticos.

#### 2. EQUIPAMIENTO

El laboratorio del Hospital Sant Joan de Déu dispone del equipamiento necesario para la realización de los distintos objetivos indicados en el proyecto, (secuenciador automático 3130 Genetic Analyzer, 7500 Real Time PCR ambos Applied Biosystems (4 capilares), acceso a cámaras de cultivos celulares. Se necesitará una termociclador GeneAmp PCR System 9700 y un ordenador PC para centralizar datos y resultados del estudio.

#### 3. FUNGIBLE.

El material fungible que se solicita es el imprescindible para poder estudiar a las pacientes RTT sin mutación en el gen *MECP2* existentes en el banco de ADN y los casos que aparezcan en el transcurso de la realización del proyecto (estimación y cálculo para 150 pacientes):

- material para la extracción de DNA/RNA: 5.000 euros
- material para la análisis de mutaciones por secuenciación, PCR, Primers, POP-7, Kit purificación: 17.000 euros
- material para mutagénesis dirigida, cultivos celulares, expresión proteicas...: 25.000 euros
- material para el genotipado polimorfismo/inactivación X, qPCR: 15.000 euros
- material de laboratorio en general: 8.000 euros

#### 4. VIAJES Y DIETAS

Se solicita un total de 10.000€ en tres años para participar en distintos congresos nacionales e internacionales relacionados con genética molecular y diagnóstico clínico.

## 5. OTROS GASTOS

Se solicita también 2.500 €, en su mayoría para la última anualidad para poder realizar los estudios estadísticos, y para otros gastos asociados a la publicación de resultados (traducciones, edición de documentos...).

## 12. PRESUPUESTO GENERAL

|                             | AÑO 1            | AÑO 2           | AÑO 3           | TOTAL            |
|-----------------------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| <b>PERSONAL</b>             | 56.000 €         | 56.000 €        | 56.000 €        | <b>168.000 €</b> |
| <b>EQUIPAMIENTO</b>         | 9.800 €          | 0 €             | 0 €             | <b>9.800 €</b>   |
| <b>VIAJES Y DIETAS</b>      | 3.000 €          | 3.000 €         | 4.000 €         | <b>10.000 €</b>  |
| <b>FUNGIBLE</b>             | 35.000 €         | 25.000 €        | 20.000 €        | <b>80.000 €</b>  |
| <b>OTROS GASTOS</b>         | 250 €            | 250 €           | 2.000 €         | <b>2.500 €</b>   |
| <b>COSTE INDIRECTOS 15%</b> | 15.607 €         | 12.637 €        | 12.300 €        | <b>40.425 €</b>  |
| <b>TOTAL</b>                | <b>119.657 €</b> | <b>96.887 €</b> | <b>94.300 €</b> | <b>309.925 €</b> |

## 13. RESULTADOS ESPERADOS

- En etapas precoces de la enfermedad la gran variabilidad de síntomas, el grado de progresión y las diversas formas clínicas hace difícil el diagnóstico ya que algunos síntomas no aparecen hasta pasados unos años de evolución de la enfermedad. La posibilidad de ampliar las técnicas genéticas y los genes a estudiar nos ayudarán a dar un diagnóstico en ciertos pacientes hasta ahora no diagnosticados, determinar la severidad de la enfermedad y poder ofrecer un consejo genético familiar y prenatal.

- En la actualidad, se están desarrollando y probando distintas terapias para el RTT. Si bien es verdad que no existe ninguna terapia curativa, se ha visto que el tipo de mutación y el gen afectado van a ser decisivos en el tipo de terapia a utilizar en cada caso. Poder ofrecer un diagnóstico molecular que apoye el diagnóstico clínico nos ayudará en la predicción de evolución de la enfermedad. Por ahora, el tratamiento se halla centrado en mejorar la calidad de vida de estas pacientes.

## 14. IMPACTO POTENCIAL ESPERADO

- El hallazgo de marcadores genéticos puede proporcionar estrategias para el mejor control de la evolución de la enfermedad así como permitir evaluar el efecto de los tratamientos paliativos y su relación con la evolución clínica asociada al mal pronóstico de la enfermedad.
- Aunque las bases patológicas y fisiológicas del RTT se desconocen, los estudios futuros de investigación se centraran en la identificación y caracterización de las vías moleculares controladas por el *MECP2* durante el neurodesarrollo, con el fin de encontrar dianas terapéuticas específicas para poder enlentecer o detener la progresión de esta enfermedad.

## 15. HISTORIAL CIENTÍFICO DEL GRUPO

### 16.1 PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Diagnóstico y seguimiento del metabolismo energético en la Infancia.

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS 95-98/ 0040-00  
DURACIÓN 3 años FROM: 1/1/1995 TO: 31/12/1997  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: M. Pineda

---

TÍTULO DEL PROYECTO Estudio del sistema antioxidante en pacientes pediátricos afectos de convulsiones aisladas o múltiples.

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS 96/1270  
DURACIÓN 3 años FROM: 1/1/1996 TO: 31/12/1998  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: C Sierra

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Screening, prevention, diagnosis and pathogenesis of neuronal ceroid-lipofuscinoses diseases

ENTIDAD FINANCIADORA: Biomed II. European concerted action. ct95-0563  
DURACIÓN 3 años FROM: 1/1/1996 TO: 31/12/1999  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: H. Goebel

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Screening prevention, treatment and pathogenesis of congenital peroxisomal diseases

ENTIDAD FINANCIADORA: Biomed II. European concerted action. ct96-1621  
DURACIÓN 3 años FROM: 1/1/1997 TO: 31/12/1999  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: F. Roels

---

TÍTOL DEL PROJECTE: Estudio de la afectación multisistémica de las enfermedades mitocondriales y del metabolismo energético en la infancia

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS 98/0049-00  
DURACIÓN 3 años FROM: 1/1/1998 TO: 31/12/2000  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: M. Pineda

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Estudio genético en el Síndrome de Rett

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS 99/ 0039-00  
DURACIÓN 3 años FROM: 1/1/1999 TO: 31/12/2001  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: E. Monros

---

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Estudio Genético y su relación con el fenotipo en la enfermedad de Niemann-Pick tipo C.

ENTIDAD FINANCIADORA: Fundación Niemann-Pick de España  
DURACIÓN 4 años FROM: 1/10/2001 TO: 31/10/2005  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: M. Pineda

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Estudio y clasificación de pacientes dentro del espectro autista e implicaciones del gen Mecp2 (xq28) y de los genes funcionales candidatos de las regiones 15q11-q13 en el autismo asociado al retraso mental.

ENTIDAD FINANCIADORA: Marató TV3. 2002  
DURACIÓN 3 años FROM: 1/1/2002 TO: 31/12/2005  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: E. Monros

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Red de enfermedades metabólicas hereditarias (Redemeth).

ENTIDAD FINANCIADORA: Redes temáticas de investigación cooperativa. G03/054  
DURACIÓN 3 años FROM: 01/01/2003 TO: 31/12/2005  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: J. Campistol

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Instituto de investigación de enfermedades raras de base genética. (Inergen)

ENTIDAD FINANCIADORA: Redes temáticas de investigación cooperativa.  
C03/054 DURACIÓN 3 años FROM: 01/01/2003 TO: 31/12/2005  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: R. Artuch (substitución E. Monros)

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Biología, Clínica y terapia de las Ataxias cerebelosas

ENTIDAD FINANCIADORA: Redes temáticas de investigación cooperativa. G03/056  
DURACIÓN 4 años FROM: 01/01/2003 TO: 31/12/2005  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: M. Pineda

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Implicación del daño oxidativo en la fisiopatogenia de la ataxia de Friedreich y su relación con la progresión clínica de la enfermedad

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS PI031003  
DURACIÓN 3 años FROM: 28/11/2003 TO: 27/11/2006  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: M. Pineda

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Estudio clínico, bioquímico y molecular de las encefalomiopatías mitocondriales causadas por deficiencias primarias de coenzima Q10

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS PI040567  
DURACIÓN 3 años FROM: 28/12/2004 TO: 27/11/2007  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: R. Artuch

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Accion coordinada DE I+D+I en el campo de las enfermedades neuromusculares en el Estado Español (nodo Hospital de Bellvitge)

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS  
DURACIÓN 4 años  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: M. Olivé

FROM: 1/01/2006

TO: 31/12/2007

---

TÍTULO DEL PROYECTO: Enfermedad de Niemann-Pick tipo C. Evaluación clínica de pacientes con administración del inhibidor de substrato N-butyldeoxynojirimycin (OGT918)

ENTIDAD FINANCIADORA: Fundación Niemann-Pick de España y Actelion  
DURACIÓN 1 año  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: M. Pineda

FROM: 01/01/2006

TO: 01/01/2007

---

## 16.2 BIBLIOGRAFÍA

- M. Pineda  
Síndrome de Rett.  
Punts de Vista. 1994, 03. Federació Catalana pro persones amb Disminució Psíquica.  
Edita APPS.
- M. Pineda, M. A. Vilaseca, A. Vernet, J. Campistol, A. Mas, C. Fabrega.  
The Allopurinol Test in patients with Rett syndrome.  
J.Inher. Metabol. Dis. 1993 ;16 (3) : 577-580.
- M. Pineda, M. Espada, E. Cobo.  
Estudio epidemiológico provisional del Síndrome de Rett en la población Española.  
Riv Pediat Siciliana.1995; 50, 201-205.
- M. Pineda, A. Aracil, M. Espada, E. Cobo, A. Vernet, et al.  
Síndrome de Rett en la población española. Rev. Esp. Neurol. 1999; 28 (161) 145-149
- J. Armstrong, M. Pineda, E. Monros.  
Mutation analysis of 16S rRNA in patients with Rett Syndrome..Pediatr Neurol. 2000;  
23 (1): 85-87
- M. Pineda, J. Armstrong, E. Monros.  
Síndrome de Rett. Hallazgo del gen MECP2 como marcador genético.  
Archivos de Pediatría.2000; 51: 83-85.
- M. Pineda, E. Monros.  
Trabajos sobre el Síndrome de Rett en un Hospital de Barcelona.  
Boletín de la Confederación Autismo España. 2000; 8:5. Edita Servimedia.
- C. Sierra, MA. Vilaseca, N. Brandi, R. Artuch, A. Mira, M. Nieto, M. Pineda.  
Oxidative stress in Rett syndrome. Brain Dev 2001; 23; suppl 1; S 236-239
- E. Monros, J. Armstrong, E. Aibar, P. Poo, I. Canos, M. Pineda.  
Spectrum mutations, X Chromosome inactivation analysis and clinical correlations in a series of Spanish Rett syndrome patients. Brain Dev 2001; 23 (suppl 1); S-251-253
- J. Armstrong, P. Poo, M. Pineda, E. Aibar, E. Gean, V. Catala, E. Monros

Somatic mosaicism for a MECP2 mutation in a boy with a classical Rett syndrome and normal karyotype. *Annals Neurol* 2001; Nov 50 (5): 692

- J. Armstrong, E. Monros, C. Casas, M. Pineda.

Prenatal diagnosis in Spanish Rett syndrome patients. *J. Fetal Diagnosis and Therapy*, 2002; 17:200-204.

- M. Pineda.

Síndrome de Rett y Autismo.

Cuadernos de Paidopsiquiatría XI. Editorial Laertes S.A. 2003 pag. 188-194

- E. Ballestar, S. Roperó, M. Alaminos, J. Armstrong, F. Setien, R. Agrelo, M. F. Fraga, M. Herranz, S. Avila, M. Pineda, E. Monros, M. Esteller.

The impact of MECP2 mutations in the expression patterns of RETT syndrome patients. *Hum Genet.* Jan; 2004; 116(1-2):91-104. Epub 2004 Nov 11.

- Ormazabal A, Artuch R, Vilaseca MA, Aracil A, Pineda M.

Cerebrospinal fluid concentrations of folate, biogenic amines and pterins in Rett syndrome: treatment with folinic acid. *Neuropediatrics*. 2005; 36(6):380-5.

- J. Armstrong, A Aracil, M. Pineda

Síndrome de Rett del diagnóstico clínico al estudio molecular.

*Neurol* ;2005,suppl 1(3): 38-43

.- F Della Ragione, A Tiunova, M Vacca, M Strazzullo, E González, J. Armstrong, R Valero, Ciro Campanile, M. Pineda, M Hulten, E Monros, M D'Esposito, E Prokhortchouk The X-linked methyl binding protein gene Kaiso is highly expressed in brain but is not mutated in Rett syndrome patients *Gene*. 2006, 24;373:83-9.

- Bebbington A, Anderson A, Ravine D, Fyfe S, Pineda M, de Klerk N, Ben-Zeev B, Yatawara N, Percy A, Kaufmann WE, Leonard H. Investigating genotype-phenotype relationships in Rett syndrome using an international data set. *Neurology*. 2008 Mar 1;70(11):868-75.

- Louise S, Fyfe S, Bebbington A, Bahi-Buisson N, Anderson A, Pineda M, Percy A, Ben-Zeev B, Wu X, Bao X, McLeod P, Armstrong J, Leonard H. InterRett, a model for international data collection in a rare genetic disorder. *Research in Autism Spectrum Disorders*. **En prensa**.

- Mencarelli MA, Spanol-Rosseto A, Artuso R, Rondinella D, Bahi-Buisson N, Nectoux J, Rubinsztaj R, Bienvu T, Moncla A, Chabrol B, Villard L, Krumina Z, Armstrong J, Roche A, Pineda M, Gak E, Mari F, Ariani F, Renieri A. New mutations in *FOXP1* in Rett syndrome patients. *Neurology*. **En prensa**.

- Roche A, Santmartí FX, Armstrong J, Pérez-Poyatos M, Aracil A, Pineda M. Epilepsy in rett syndrome: new treatment insights. **En preparación**

- Pineda M, Roche A, Aracil A, Naudó M, Martorell L, Armstrong J. Rett syndrome in Spain, genotype-phenotype correlations of the most frequent mutations. **En preparación**

### 16.3 CONFERENCIAS Y PARTICIPACIONES EN CONGRESOS

TITULO: Síndrome de Rett. Estudio Clínico y Analítico de 8 casos.

AUTORES: M. Pineda, A. Ballester, F. Raurich, I. Ferrer, E. Fernandez-Alvarez.

LOCALIDAD: Comunicación al II Congreso Nacional de Neuropediatría.

15 de Junio de 1986. Santander.

TITULO: Síndrome de Rett y acumulo de Lipofuscinas.

AUTORES: M. Pineda, I. Ferrer, V. Cusi.

LOCALIDAD: III Congreso Nacional de Neuropediatría.

18 al 20 de Octubre de 1990. Sevilla.

TITULO: Valor de los Criterios Diagnósticos en el Síndrome de Rett.

AUTORES: R. Gasió, M. Pineda, J. campistol, J. Colomer, P. Poo, A. Vernet, E. Fernández-Alvarez.

LOCALIDAD: III Congreso Nacional de Neuropediatría.

18 al 20 de Octubre de 1990. Sevilla.

TITULO: Síndrome de Rett.

AUTORES: M. Pineda,

LOCALIDAD: Taller de trabajo. III Congreso Nacional de Neuropediatría.

18 al 20 de Octubre de 1990. Sevilla.

TITULO: Síndrome de Rett, y Tratamientos Dietéticos.

AUTORES: M. Pineda. Ponencias por Invitación Personal.

LOCALIDAD: II Jornadas del Síndrome de Rett.

25-26 Octubre de 1991. Sevilla.

TITULO: Utilidad del Test de Sobrecarga de Alopurinol en la Detección de Portadoras de Deficiencia de Ornitina Carbamil Transferasa.

AUTORES: M. A. Vilaseca, M. Pineda, F. Ramon.

LOCALIDAD: X Congreso de la Sociedad Española de Química Clínica.

2 Noviembre de 1991. Toledo.

TITULO: Síndrome de Rett.

AUTORES: M. Pineda. Ponencia por Invitación Personal.

LOCALIDAD: IV Jornada de Actualización en Neurología y Psiquiatría Infanto-Juvenil.

Universidad de Barcelona. Hospital Clínic i Provincial.

27 de Mayo de 1992. Barcelona.

TITULO: Test del Allopurinol: Valores de referencia y aplicación del Test al estudio de Portadoras de deficiencia de Ornitina Carbamiltransferasa y a pacientes con Síndrome de Rett.

AUTORES: M A Vilaseca, M. Pineda, J. Campistol, A. Vernet, C. Fabrega, F. Ramon.

LOCALIDAD: XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Química Clínica.

28 de Septiembre a 1 de Octubre. 1992. Granada.

TITULO: Contribution to the Study of Urea cycle Study in Rett Syndrome.

AUTORES: M. Pineda, M.A. Vilaseca, P. Poo, A. Vernet, J. Campistol.

LOCALIDAD: Medical World Congress on Rett Syndrome.

7-10 de Octubre 1993. Amberes. Belgica.

\*Concesión del Premio al mejor trabajo científico presentado a este Congreso, concedido por la IRSA.

TITULO: Estudio Epidemiologico preliminar del S. Di Rett in Spagna.

AUTORES: M. Pineda

LOCALIDAD: Convegno Internazionale de Attualita sulla Sindrome de Rett.  
17 y 18 de Noviembre. 1995. Forte di Marmi. Italia.

TITULO: Epidemiology of Rett Syndrome in the Spanish population.

AUTORES: M. Pineda, M. Espada, E. Cobo.

LOCALIDAD: III World Congress on Rett syndrome.

30 agosto a 1 de septiembre 1996. Gothenbourg. Suecia.

TITULO: Estrés Oxidativo en el Síndrome de Rett.

AUTORES: D. Moyano, Artuch R, Vilaseca MA, Pineda M, Ramon F.

LOCALIDAD: XV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología molecular.

31 de octubre-2 de noviembre de 1996.Madrid

TITULO: Síndrome de Rett.

AUTOR: M. Pineda (Ponencia invitada y coordinadora de la sesión).

LOCALIDAD: II Jornadas de la Sociedad Española de Rehabilitación infantil. El niño discapacitado en la escuela.

20-22 Febrero de 1997. Valencia.

TITULO: Síndrome de Rett, formas clínicas típicas y atípicas.

AUTOR: M. Pineda (ponencia)

LOCALIDAD: Reunión Nacional de Autismo-España.

25-26 de Abril de 1997. Granada.

TITULO: S. de Rett, Estudio Epidemiológico.

AUTORES: M. Pineda. (Ponencia)

LOCALIDAD: V Congreso Español de Neurología Pediátrica. 23-26 de septiembre de 1998. Santiago de Compostela.

TITULO: Disminución de la capacidad antioxidante en el S. de Rett.

AUTORES: M. Pineda, C. Sierra, A. Aracil, M. Nieto, P. Poo, MA Vilaseca.

LOCALIDAD: V Congreso Español de Neurología Pediátrica.

23-26 de septiembre de 1998. Santiago de Compostela.

TITULO: S. de Rett y estudio de los enzimas Antioxidantes.

AUTORES: M. Pineda, A. Aracil.

LOCALIDAD: Asociación de padres con hijos afectados de S. de Angelman. Centre Civic de Horta. 21 de noviembre de 1998.Barcelona

TITULO: Paternal skewed X inactivation in sporadic Rett syndrome patients

AUTORES: E. Monros, J. Armstrong, M. Perez, E. Gean, I. Canos, M. Pineda.

LOCALIDAD: European Human Genetics Conference

27 -30 de Mayo 2000. Amsterdam.

TITULO: Espectro de mutaciones en el gen MECP2 en una serie de pacientes españolas con síndrome de Rett.

AUTORES: J. Armstrong, M. Pineda, E. Gean, M. Perez, P. Poo, J. Campistol, A. Vernet, E. Monros.

LOCALIDAD: XXVII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría.  
1-3 de junio del 2000. Gerona.

TITULO: Diagnóstico prenatal en el Síndrome de Rett.  
AUTORES: E. Monros, J. Armstrong, M. Perez, E. Gean, E. Aibar, F. martinez, M. Carrera, C. Casas, M. Pineda  
LOCALIDAD: Congreso de Diagnostico Prenatal . 2000. Sitges. Barcelona

TITULO: Espectro de mutaciones en la región codificante del gen MECP2 en una serie de pacientes Españolas con el Síndrome de Rett.  
AUTORES: J. Armstrong, E. Aibar, M. Pineda, E. Gean, M. Perez, P. Poo, J. Campistol, E. Monros.  
LOCALIDAD: Congreso de Diagnóstico Prenatal  
2000. Sitges. Barcelona

TITULO: El Síndrome de Rett y estudios genéticos del MECP2 (Ponencia)  
AUTORES: M. Pineda  
LOCALIDAD: Jornadas sobre el Autismo. "El Autismo en el Siglo XXI"  
27-28 Octubre del 2000 Universidad de Jaen.

TITULO: Oxidative stress on Rett syndrome  
AUTORES: M. Pineda, C. Sierra, I. Canos, N. Brandi, R. Artuch, A. Mira, M. Nieto, MA. Vilaseca.  
LOCALIDAD: World Congress on Rett syndrome.  
24-27de julio 2000. Karuizawa, Nagano. Japan.

TITULO: Spectrum mutations, X Chromosome inactivation analysis and clinical correlations in a series of Spanish Rett syndrome patients.  
AUTORES: E. Monros, J. Armstrong, E. Aibar, P. Poo, I. Canos, M. Pineda.  
LOCALIDAD: World Congress on Rett syndrome.  
24-27de julio, 2000. Karuizawa, Nagano. Japan.

TITULO: Autismo y cerebro.  
AUTORES: M. Pineda.  
LOCALIDAD: Jornadas Internacionales. V Encuentro sobre Autismo. Autismo y su proyección de futuro.  
26-28 de abril del 2001. Burgos.

TITULO: La variante a linguaggio conservato: un ponte tra Sindromi Autische e Syndrome di Rett.  
AUTORES: M. Pineda.  
LOCALIDAD: Austistic syndromes and rett syndrome. Causes and treatment.  
29-31de marzo del 2001. Siena. Italy.

TITULO: S de Rett, aspectes clínics.  
AUTORES: M. Pineda.  
LOCALIDAD: Curs de Doctorat. Línies de investigació en Pediatria i Obstetrícia i Ginecologia. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona  
7-11 de maig de 2001.

TITULO: Enfermedades Neurológicas estáticas y evolutivas: medidas médicas y terapéuticas.  
AUTORES: M. Pineda

LOCALIDAD: I Jornadas sobre enfermedades neurodegenerativas y síndromes minoritarios. Villajoyosa. A.H.E.D.Y.S.I.A. 2002. Alicante

TITULO: Severity score and correlation with the genotype in Rett syndrome  
AUTORES: M. Pineda, J. Armstrong, A. Aracil, C Garrido, E Gonzalez, E. Also, P. Poo, J. Campistol, A. Vernet, E. Monros.  
VII Congrès de Société Européenne de neurologie Pédiatrique 1-4 diciembre 2002. París

TITULO: Epidemiologia Genetica da síndrome de Rett em Espanha  
AUTOR: E Monrós J Armstrong, E González.  
LOCALIDAD: Simposio Síndrome de Rett e perturbações do espectro autista. 2002 Porto (Portugal)  
Sociedade Portuguesa de Neurologia Pediátrica

TITULO: Espectrum Autista y Síndrome de Rett.  
AUTOR: M. Pineda.  
LOCALIDAD: Jornadas de Psiquiatria de la Infancia y la Juventud. 9º curso de formación continuada. Espectrum Autista  
23-25 de enero 2003. Barcelona

TITULO Factores etiológicos de base orgánica en el Autismo  
AUTOR: M. Pineda.  
LOCALIDAD: Reunión Internacional de formación en Autismo .  
7 – 9 de mayo 2003. Alicante.

TITULO: Severity score and correlation with the genotype in Rett syndrome  
AUTOR: M. Pineda, J. Armstrong, A. Aracil, C. Garrido, E. Gonzalez, E. Also, P. Poo, J. Campistol, A. Vernet, E. Monros.  
LOCALIDAD: Congreso de la Société Europeenne de Neuropediatrie. 2003 Paris, France

TITULO: Cerebrospinal fluid concentrations of folate, biogenic amines and pterins in Rett syndrome: treatment with folinic acid.  
AUTOR: Ormazabal A, Artuch R, Vilaseca MA, Aracil A, Pineda M.  
LOCALIDAD: Congreso de Errores Congénitos del Metabolismo. 2005. Palma de Mallorca

TITULO: Genotype-phenotype correlations of Rett syndrome in Spain  
AUTOR: M. Pineda.  
LOCALIDAD: International Rett syndrome association. Clinical Trials in Rett syndrome. May 2006. San Francisco. USA

TITULO: Rett syndrome in Spain: genotype- phenotype correlations  
AUTOR: M. Pineda, A. Aracil, J. Armstrong, M. Naudó, L. Martorell  
LOCALIDAD: European academy of childhood disability. Octubre 2006. Barcelona  
Developmental Medecine and Child Neurology. Suppl. 107; 48: 16

TITULO: Bases Genéticas del Síndrome de Rett  
AUTOR: J Armstrong  
LOCALIDAD: II Congreso Nacional del Síndrome de Rett. 2006. Cerdanyola del Vallés (Barcelona)

TITULO: Workshop Epilepsy in Rett Syndrome: new treatment insights

AUTOR: M. Pineda

LOCALIDAD: 6<sup>th</sup> World Rett Congress. Octubre 2008. París

TITULO: Rett syndrome in Spain, genotype-phenotype correlations of the most frequent mutations.

AUTOR: A. Roche

LOCALIDAD: 6<sup>th</sup> World Rett Congress. Octubre 2008. París.

TITULO: Epilepsia en Síndrome de Rett, experiencia en el Hospital de Sant Joan de Déu de Barcelona.

AUTOR: A. Roche

LOCALIDAD: Reunión anual de Neuropediatría. Zaragoza. Septiembre 2008,

TITULO: Outcome target: what to measure?

AUTOR: M. Pineda

LOCALIDAD: Clinical Trials in Rett Syndrome, reunion de expertos de la IRSA. Chicago. Junio 2008.

#### 16.4 DOCENCIA

Profesora en el Curso de Autismo Infantil.

Tema: "Síndrome de Rett".

Organizado por CERAC. Centre Especialitzat en el tractament de l'Autisme i trastorns greus del desenvolupament. APAFACC. La Garriga  
5 al 12 de Mayo de 1987. Barcelona.

Ponencias en las Jornadas de Disminuidos Psíquicos.

Temas: "Estimulación Precoz y técnicas de tratamiento. Diagnósticos etiológicos".

Organizadas por la Asociación de Disminuidos Psíquicos y Ayuntamiento de Castelldefels.

Mayo de 1987. Castelldefels. Barcelona.

Invitación personal y Participación al I Congreso Internacional de Padres y Familiares de Personas con Retraso Mental, participando en las discusiones sobre Conductas y Terapéuticas a Seguir.

Mayo de 1978. Barcelona.

Curs de formació per monitors d'educació especial.

Síndrome de RETT. APAFACC. Centre d'Autistas de La Garriga.

15 maig 1994. Barcelona.

Curs de Postgrau de Trastorns Crònics en Psicopatologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

Tema: S. de Rett.

Facultat de Psicologia de Universitat Autònoma de Barcelona.

12 de gener de 1999. Campus de Bellaterra.

Master de Psicopatologia Clínica Infanto-juvenil. Facultat de psicopatologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

Tema: La Síndrome de Rett.

Gener 2000. Facultat de Psicologia. Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Màster de Psicopatologia Clínica Infanto-juvenil. Facultat de psicopatologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

Tema: La Síndrome de Rett.

14 de desembre del 2000. Facultat de Psicologia. Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Màster de Psicopatologia Clínica Infanto-juvenil. Facultat de psicopatologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

Tema: La Síndrome de Rett.

14 de desembre del 2001. Facultat de Psicologia. Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Màster de Psicopatologia Clínica Infanto-juvenil. Facultat de psicopatologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

Tema: La Síndrome de Rett. Clínica, avaluació i intervenció.

10 de desembre del 2002. Facultat de Psicologia. Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Investigacions en el autisme i la S. de Rett.

Curs de Doctorat. Càtedra de Pediatria, Facultat de medicina. Universitat de Barcelona. Hospital sant Joan de Déu. Barcelona

Maig. 2003

Màster de Psicopatologia Clínica Infanto-juvenil. Facultat de psicopatologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

Tema: La Síndrome de Rett. Clínica, avaluació i intervenció.

Desembre del 2003. Facultat de Psicologia. Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Curso de Postgrado de Neurogenética. Tema: Síndrome de Rett del diagnóstico clínico al estudio molecular

Noviembre 2005. Sociedad Española de Neurología, Palacio de congresos Joan Calres I, Barcelona.

#### PREMIS:

Obtención del Premio: The American Research for RETT Syndrome Foundation Special Award for the best Poster, concedido por la IRSA (International Rett syndrome Association) al trabajo: CONTRIBUTION TO THE STUDY OF UREA CYCLE FUNCTION IN RETT SYNDROME.

M. Pineda, M. A. Vilaseca, P. Poo, A. Vernet, J. Campistol, A. Mas, C. Fabrega.

Presentado al II Congreso Mundial de Síndrome de RETT. 10 Octubre 1994. Amberes. Bélgica.

Obtención del Premio al mejor trabajo de investigación concedido por el Comité de Investigaciones y Actividades Científicas convocado por el Hospital Universitari de Sant Joan de Déu: BASES GENÈTIQUES DE LA SINDROME DE RETT. E. Monros, J. Armstrong, E. Gean, M. Perez, J. Campistol, M. Pineda, P. Poo, A. Vernet.

Convocatòria de Premis de Recerca 2001. 8 de març de 2002.

## 16.5 MEDIOS DE COMUNICACIÓN

ONDA CERO RADIO. PROGRAMA DE "UN MUNDO SIN BARRERAS"

Periodista interlocutor: Roberto Martin

Tema: Síndrome de Rett en España. Mayo de 1996.

ONA CATALANA

Periodista interlocutor: Montse Prat

Tema: La enfermedad de Rett. 4-7-2001.

CATALUNYA RADIO

S. de Rett. Mayo del 2003

RADIO 4. EFECTES POSITIUS

RADIO NACIONAL ANDORRA

RADIO IGUALADA

RADIO ESTEL. "Projectes"

Entrevista Dra. Pineda. Març 2008

RADIO REUS. "Punt 6"

Abril 2008

## 16. BIBLIOGRAFIA SOBRE EL TEMA

- Amir RE, Fang P, Yu Z et al: Mutations in exon 1 of MECP2 are a rare cause of Rett syndrome. *J Med Genet* 2005; 42: e15.
- Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY: Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nature Genet* 1999; 23: 185– 188.
- Archer HL, Whatley SD, Evans JC et al: Gross rearrangements of the MECP2 gene are found in both classical and atypical Rett Syndrome. *J Med Genet* 2005, (published online 14<sup>th</sup> October 2005).
- Ariani F, Hayek G, Rondinella D, Artuso R, Mencarelli MA, Spanhol-Rosseto A, Pollazzon M, Buoni S, Spiga O, Ricciardi S, Meloni I, Longo I, Mari F, Broccoli V, Zappella M, Renieri A FOXP1 is responsible for the congenital variant of Rett syndrome. *Am J Hum Genet.* 2008 Jul;83(1):89-93.
- Bahi-Buisson N, Girard B, Gautier A, Nectoux J, Fichou Y, Saillour Y, Poirier K, Chelly J, Bienvenu T. Epileptic encephalopathy in a girl with an interstitial deletion of Xp22 comprising promoter and exon 1 of the CDKL5 gene. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2009 May 19.
- Bahi-Buisson N, Nectoux J, Rosas-Vargas H, Milh M, Boddaert N, Girard B, Cances C, Ville D, Afenjar A, Rio M, Héron D, N'guyen Morel MA, Arzimanoglu A, Philippe C, Jonveaux P, Chelly J, Bienvenu T. Key clinical features to identify girls with CDKL5 mutations. *Brain.* 2008 Oct;131(Pt 10):2647-61. Epub 2008 Sep 12.
- Belichenko NP, Belichenko PV, Mobley WC. Evidence for both neuronal cell autonomous and nonautonomous effects of methyl-CpG-binding protein 2 in the cerebral cortex of female mice with *Mecp2* mutation. *Neurobiol Dis.* 2009 Apr;34(1):71-7. Epub 2009 Jan 8.
- Ben-Shachar S, Chahrour M, Thaller C, Shaw CA, Zoghbi HY. Mouse models of MeCP2 disorders share gene expression changes in the cerebellum and hypothalamus. *Hum Mol Genet.* 2009 Jul 1;18(13):2431-42. Epub 2009 Apr 15.
- Ben-Zeev B, Yaron Y, Schanen NC et al: Rett syndrome: clinical manifestations in males with MECP2 mutations. *J Child Neurol* 2002; 17: 20– 24.
- Borg I, Freude K, Kubart S et al: Disruption of Netrin G1 by a balanced chromosome translocation in a girl with Rett syndrome. *Eur J Hum Genet* 2005; 13: 921– 927.
- Brendel C, Klahold E, Gärtner J, Huppke P Suppression of nonsense mutations in Rett Syndrome by aminoglycoside antibiotics. *Pediatr Res.* 2009 Jan 28. [Epub ahead of print]
- Christodoulou J, Grimm A, Maher T, Bennetts B: RettBASE: The IRSA MECP2 variation database-a new mutation database in evolution. *Human Mutat* 2003; 21: 466–472.
- Evans JC, Archer HL, Colley JP et al: Early onset seizures and Rett-like features associated with mutations in CDKL5. *Eur J Hum Genet* 2005; 13: 1113– 1120.
- Evans JC, Archer HL, Whatley SD, Kerr A, Clarke A, Butler R :Variation in exon 1 coding region and promoter of MECP2 in Rett syndrome and controls. *Eur J Hum Genet* 2004; 13: 124–26.
- Fichou Y, Nectoux J, Bahi-Buisson N, Rosas-Vargas H, Girard B, Chelly J, Bienvenu T The first missense mutation causing Rett syndrome specifically

- affecting the MeCP2\_e1 isoform..Neurogenetics. 2009 Apr;10(2):127-33. Epub 2008 Nov 26.
- Fyffe SL, Neul JL, Samaco RC, Chao HT, Ben-Shachar S, Moretti P, McGill BE, Goulding EH, Sullivan E, Tecott LH, Zoghbi HY. Neuron Deletion of Mecp2 in Sim1-expressing neurons reveals a critical role for MeCP2 in feeding behavior, aggression, and the response to stress.. 2008 Sep 25;59(6):947-58.
  - Guy J, Gan J, Selfridge J, Cobb S, Bird A. Reversal of neurological defects in a mouse model of Rett syndrome Science. 2007 Feb 23;315(5815):1143-1147.
  - Hagberg B, Hanefeld F, Percy A, Skjeldal O: An update on clinically applicable diagnostic criteria in Rett syndrome. Comments to Rett Syndrome Clinical Criteria Consensus Panel Satellite to European Paediatric Neurology Society Meeting, Baden Baden, Germany, 11 September 2001. Eur J Paediatr Neurol 2002; 6: 293– 297.
  - Harikrishnan KN, Chow MZ, Baker EK et al: Brahma links the SWI/SNF chromatin-remodeling complex with MeCP2-dependent transcriptional silencing. Nat Genet 2005; 37: 254– 264.
  - Huppke P, Ohlenbusch A, Brendel C, Laccone F, Gartner J: Mutation analysis of the HDAC 1, 2, 8 and CDKL5 genes in Rett syndrome patients without mutations in MECP2. Am J Med Genet A 2005; 137A: 136– 138.
  - Khajuria R, Sapra S, Ghosh M, Gupta N, Gulati S, Kalra V, Kabra M. Rapid detection of deletions in hotspot C-terminal segment region of MECP2 by routine PCR method: report of two classical Rett syndrome patients of Indian origin. Genet Test Mol Biomarkers. 2009 Apr;13(2):277-80.
  - Laccone F, Junemann I, Whatley S et al: Large deletions of the MECP2 gene detected by gene dosage analysis in patients with Rett syndrome. Hum Mutat 2004; 23: 234–244.
  - Larimore JL, Chappelle CA, Kudo S, Theibert A, Percy AK, Pozzo-Miller L. Bdnf overexpression in hippocampal neurons prevents dendritic atrophy caused by Rett-associated MECP2 mutations. Neurobiol Dis. 2009 May;34(2):199-211. Epub 2009 Jan 3.
  - Loat CS, Curran S, Lewis CM, Duvall J, Geschwind D, Bolton P, Craig IW Methyl-CpG-binding protein 2 polymorphisms and vulnerability to autism..Genes Brain Behav. 2008 Oct;7(7):754-60.
  - Mencarelli MA, Kleefstra T, Katzaki E, Papa FT, Cohen M, Pfundt R, Ariani F, Meloni I, Mari F, Renieri A. 14q12 Microdeletion syndrome and congenital variant of Rett syndrome. Eur J Med Genet. 2009 Mar-Jun;52(2-3):148-52.
  - Mnatzakanian GN, Lohi H, Munteanu I et al: A previously unidentified MECP2 open reading frame defines a new protein isoform relevant to Rett syndrome. Nature Genet 2004; 36:339– 341.
  - Nectoux J, Heron D, Tallot M, Chelly J, Bienvenu T. Maternal origin of a novel C-terminal truncation mutation in CDKL5 causing a severe atypical form of Rett syndrome. Clin Genet. 2006 Jul;70(1):29-33.
  - Papa FT, Mencarelli MA, Caselli R, Katzaki E, Sampieri K, Meloni I, Ariani F, Longo I, Maggio A, Balestri P, Grosso S, Farnetani MA, Berardi R, Mari F, Renieri A. A 3 Mb deletion in 14q12 causes severe mental retardation, mild facial dysmorphisms and Rett-like features. Am J Med Genet A. 2008 Aug 1;146A(15):1994-8.
  - Philippe C, Amsallem D, Francannet C, Lambert L, Saunier A, Verneau F, Jonveaux P. Phenotypic variability in Rett syndrome associated with FOXP1 mutations in females. J Med Genet. 2009 Jun 29.
  - Ravn K, Nielsen JB, Skjeldal OH, Kerr A, Hulten M, Schwartz M: Large genomic rearrangements in MECP2. Hum Mutat 2005; 25: 324.

- Ricceri L, De Filippis B, Laviola G. Behav Pharmacol. Mouse models of Rett syndrome: from behavioural phenotyping to preclinical evaluation of new therapeutic approaches. 2008 Sep;19(5-6):501-17. Review
- Saunders CJ, Minassian BE, Chow EW, Zhao W, Vincent JB. Novel exon 1 mutations in MECP2 implicate isoform MeCP2\_e1 in classical Rett syndrome. Am J Med Genet A. 2009 May;149A(5):1019-23.
- Scala E, Ariani F, Mari F et al: CDKL5/STK9 is mutated in Rett syndrome variant with infantile spasms. J Med Genet 2005; 42: 103– 107.
- Shi J, Shibayama A, Liu Q et al: Detection of heterozygous deletions and duplications in the MECP2 gene in Rett syndrome by robust dosage PCR (RD-PCR). Hum Mutat 2005; 25: 505.
- Tao J, Hu K, Chang Q, Wu H, Sherman NE, Martinowich K, Klose RJ, Schanen C, Jaenisch R, Wang W, Sun YE. Phosphorylation of MeCP2 at Serine 80 regulates its chromatin association and neurological function. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Mar 24;106(12):4882-7. Epub 2009 Feb 18.
- Trappe R, Laccone F, Cobilanschi J et al: MECP2 mutations in sporadic cases of Rett syndrome are almost exclusively of paternal origin. Am J Hum Genet 2001; 68: 1093– 1101.
- Tropea D, Giacometti E, Wilson NR, Beard C, McCurry C, Fu DD, Flannery R, Jaenisch R, Sur M Partial reversal of Rett Syndrome-like symptoms in MeCP2 mutant mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Feb 10;106(6):2029-34.
- Urdinguio RG, Lopez-Serra L, Lopez-Nieva P, Alaminos M, Diaz-Uriarte R, Fernandez AF, Esteller M Mecp2-null mice provide new neuronal targets for Rett syndrome. PLoS One. 2008;3(11):e3669. Epub 2008 Nov 7.
- Van Esch H, Bauters M, Ignatius J et al: Duplication of the MECP2 region is a frequent cause of severe mental retardation and progressive neurological symptoms in males. Am J Hum Genet 2005; 77: 442–453.
- Wan M, Lee SS, Zhang X et al: Rett syndrome and beyond: recurrent spontaneous and familial MECP2 mutations at CpG hotspots. Am J Hum Genet 1999; 65: 1520– 1529.
- Zeev BB, Bebbington A, Ho G, Leonard H, de Klerk N, Gak E, Veckler M, Christodoulou J. The common BDNF polymorphism may be a modifier of disease severity in Rett syndrome. Neurology. 2009 Apr 7;72(14):1242-7.