

Fondo Biorett

Colaboración HSJD

Investigación Síndrome de Rett

2009 - 2018



Sant Joan de Déu
Barcelona · Hospital



Relación de documentación adjunta:

1. Escritura de constitución Fondo Biorett
2. Escrito solicitud cierre del Fondo Biorett
3. Proyectos financiados, publicaciones
4. Justificación económica
5. Documento presentación Fondo Biorett
6. Acciones de comunicación y actividades solidarias realizadas
7. Colaboración UNO de 50

1. Escritura constitución



NÚMERO NOVECIENTOS DOCE -----
CONSTITUCIÓN DE FONDO ESPECIAL FUNDACIONAL SÍNDROME DE RETT – FONDO BIORETT-
EN BARCELONA, mi residencia, a catorce de Mayo de
dos mil nueve. -----

Ante mí, JOSE MARQUEÑO DE LLANO, Notario del
Ilustre Colegio de Cataluña,-----

COMPARCEN : -----

DON JOSEP-MARÍA HARO ABAD, mayor de edad, casado y vecino de 08037 Barcelona, con domicilio en Passeig de Sant Joan, número 197, 3º, 1ª. -----

Titular del D.N.I./N.I.F. número 36564997-B. -----

DON MANUEL DEL CASTILLO REY, mayor de edad, casado, vecino de 08005 Barcelona, con domicilio en calle Marina, 58, 5º 3ª, y con D.N.I. 38.055.843-C.-----

DOÑA MERCEDES PINEDA MARFÀ, mayor de edad, casada, vecina de Barcelona (Carmen Karr, 14), y con D.N.I. /N.I.F. número 38752977R -----

DOÑA ELISABET PEDROSA DOMÉNECH mayor de edad, divorciada, vecina de Barcelona (Escudellers, 46),



Cuevas Castaño en fecha 29 de julio de 2004 y número de Protocolo 2.950. -----

Declara que la representación alegada y legitimación para este acto resultan del poder otorgado a su favor, mediante escritura autorizada por el Notario de Barcelona Don Juan-José López Burniol, el día 3 de febrero de 2005, bajo el número 443 de protocolo, que no aporta. -----

Yo, el Notario, les hago las oportunas advertencias, pese a lo cual insisten en este otorgamiento manifestando que conocen la vigencia del cargo que alega el Sr. Haro.-----

El apoderado manifiesta la plena e íntegra vigencia de este poder, por no haberle sido revocado, limitado, ni suspendido, y por no haber variado tampoco la capacidad jurídica de su representada. -----

2.- Don Manuel del Castillo Rey en nombre y representación, como apoderado, según dice, concreta y exclusivamente para la administración y gobierno del Hospital Sant Joan de Deu, del Passeig Sant Joan de Déu nº 2 y del Edifici Docent Sant Joan de Deu, de la calle Santa Rosa nº 39-57 ambos en Esplugues de Llobregat, de la



este poder, por no haberle sido revocado, limitado, ni suspendido, y por no haber variado tampoco la capacidad jurídica de su representada. -----

3.- DOÑA MERCEDES PINEDA MARFÀ, en su calidad, según manifiesta, de jefe del grupo de Investigación sobre Síndrome de Rett en la Fundación privada para la investigación y la docencia San Juan de Dios, sin que lo acredite documentalmente. -----

Yo, el Notario, hago a todos las oportunas advertencias, pese a lo cual insisten en este otorgamiento manifestando en forma expresa tener conocimiento del cargo que alega la Sra. Pineda. -----

4.- DOÑA ELISABET PEDROSA DOMÈNECH, DON JUAN LUIS SALOM MORENO, DON IGNACIO TOMÁS HERRERO y DON SEBASTIÁN SANCHEZ CASTILLO en sus particulares nombre e interés, y, según manifiestan, por cuenta propia. -----

Les IDENTIFICO por sus respectivos Documentos Nacionales de Identidad. Les juzgo con CAPACIDAD para otorgar esta Escritura.-----



- Aumentar la sensibilización social acerca de la enfermedad. -----

III.- Que Doña Elisabet Pedrosa, Don Juan Luis Salom, Don Ignacio Tomás y Don Sebastian Sánchez están interesados en establecer una colaboración con la FUNDACION PRIVADA PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA DOCENCIA SAN JUAN DE DIOS en relación con dicho proyecto de investigación, constituyendo de común acuerdo un Fondo especial, de conformidad a lo previsto en los arts. 40 y siguientes de la Ley catalana 5/2001, de 2 de Mayo, de fundaciones. -----

IV. — Expuesto cuanto antecede, los señores comparecientes, en el carácter con que actúan. -----

OTORGAN: -----

PRIMERO. - La FUNDACIÓN PRIVADA PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA DOCENCIA SAN JUAN DE DIOS constituye un Fondo especial, destinado a la creación de un centro de innovación e investigación que desarrolle actividades dirigidas a mejorar el cuidado de los niños con Síndrome de Rett, que se regulará por lo dis-



SANT JUAN DE DIOS, cómo por parte de otras terceras personas físicas o entidades jurídicas, siempre y cuando se destinen a los fines del Fondo, y previa aceptación de la FUNDACION PRIVADA PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA DOCENCIA SAN JUAN DE DIOS. -----

c) Con aquellos otros donativos y subvenciones que se efectúen por personas físicas y jurídicas públicas y privadas para su destino a los fines del Fondo. -----

QUINTO.- El presente Fondo tiene vocación de duración indefinida, excepto que sea decidida su disolución por las causas contenidas en la Cláusula Novena. -----

SEXTO.- Para la aplicación de los recursos del Fondo la Fundación consultará a un consejo Asesor que se regirá por las siguientes normas: -----

- El Consejo se integrará inicialmente por el Sr. Josep Maria Haro Abad, o en quien él delegue, por el Sr. Manuel del Castillo Rey, o en quien él delegue, por el Sra. Mercedes Pineda Marfà, o en quien ella delegue y por Elisabet Pedrosa Doménech, o en quien ella delegue y Sebastian Sánchez Castillo, o en quien él delegue. Se uni-



las labores de administración y gestión del Proyecto, proporcionará los instrumentos para la contratación de personal cuando sea necesario y facilitará el acceso a unas instalaciones que permitan el arranque del proyecto. Igualmente se compromete a hacer constar que el proyecto cuenta con el apoyo del Fondo y de LA FUNDACION, y conjuntamente con el Consejo Asesor decidirán mediante qué acciones se hará la difusión del mismo. El fondo se regirá con la normativa habitual de la fundación, incluidos los gastos generales imputados a los proyectos. -----

OCTAVO.- La FUNDACION, por medio de su representante, se obliga a:-----

a).- Informar anualmente del seguimiento económico del proyecto, y cuando así sea solicitado por el Consejo Asesor del Fondo.-----

b).- Dar cuenta de los gastos sufragados con las aplicaciones decididas por el Fondo.-----

c).- Hacer constar el apoyo del Fondo, en los términos del pacto SEPTIMO anterior, en cuantas actividades públicas tenga ocasión de efectuar en relación con el proyecto de



a cubrir los fines fundacionales de la FUNDACIÓ. -----

Esta Escritura ha sido redactada conforme a minuta presentada por las partes. -----

OTORGAMIENTO Y AUTORIZACIÓN. -----

Hago las reservas y advertencias legales; en particular y a efectos fiscales advierto de las obligaciones y responsabilidades tributarias que incumben a las partes en su aspecto material, formal y sancionador, y de las consecuencias de toda índole que se derivarían de la inexactitud de sus declaraciones. -----

Leída por mí, a su elección, la otorgan y firman. -----

De lo consignado, de que el consentimiento ha sido libremente prestado, de que el otorgamiento se adecua a la legalidad y a la voluntad debidamente informada de los otorgantes, y de su extensión en siete folios de papel sellado, números el presente y los siguientes en orden, yo, el Notario, DOY FE.= -----

Están las firmas de los comparecientes.- Sigue el signo, firma, rúbrica y sello del Notario autorizante. -----

2. Solicitud cierre F. Biorett

Madrid/Valencia, 23 de noviembre de 2017

Estimada Mercé Tura

En primer lugar es nuestro deseo enviaros un afectuoso saludo.

Como sabéis FONDO BIORETT fue una iniciativa privada coordinada por un grupo de padres y madres de niñas afectadas por el síndrome de Rett cuyo principal interés era y sigue siendo la investigación científica sobre esta severa patología. Como progenitores siempre hemos intentado en la medida de nuestras posibilidades obtener recursos económicos para favorecer distintas investigaciones diseñadas y coordinadas desde la Fundació Sant Joan de Déu en Barcelona (FSJD).

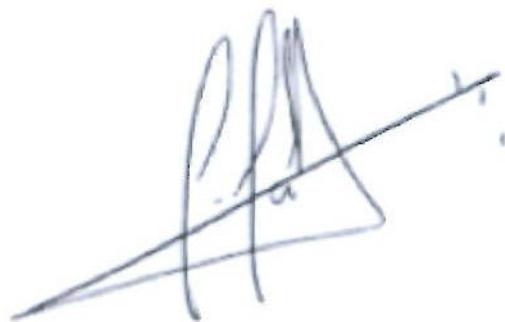
Desde el acuerdo notarial de colaboración con la FSJD en el año 2009 han sido muchas las iniciativas que de forma conjunta se han desarrollado haciendo realidad distintas investigaciones con conclusiones científicas esperanzadoras.

Tras varios años de provechosa relación en el ámbito científico, desde FONDO BIORETT hemos considerado necesario modificar el tipo de colaboración con la FSJD y emprender un nuevo escenario con el fin de optimizar los esfuerzos y recursos. A partir de este momento creemos oportuno vehicular nuestras gestiones a través de otras entidades mayores y estas son las que considerarán las aportaciones económicas a FSJD, así como a otros centros de investigación de prestigio.

Para ello, creemos conveniente resolver el acuerdo notarial con la FSJD de Barcelona y poner fin de forma coherente a este provechoso periodo de colaboración. Con el fin de acelerar este transito quedamos a vuestra disposición para realizar las gestiones necesarias tanto presenciales o a distancia.

Por otra parte, sería conveniente que la FSJD certificara de forma oficial las partidas económicas y aportaciones desde la firma de colaboración, con el fin de datar de forma cuantitativa la participación estos años. En relación a este documento firmado por responsables de la FSJD agradeceríamos que se indicara el destino y gasto de cada una de las cantidades aportadas.

Quedamos a vuestra disposición



Fdo. Sebastián Sánchez Castillo (Fondo Biorett)
P.O: Juan Luis Salom Moreno

3. Proyectos financiados. Publicaciones



Título: Estudio Terapéutico Multicéntrico para los trastornos del comportamiento en el síndrome de Rett

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

Noviembre 2009

ÍNDEX

	Pàgina
1. Descripción del proyecto	2
2. Datos del centro solicitante	2
3. Datos del equipo investigador de Sant Joan de Déu	2
4. El porqué del proyecto	3
5. Relevancia social y científica.....	3
6. Beneficios científicos y técnicos del proyecto	3
7. Objectivo principal.....	4
8. Objectivos secundarios.....	4
9. Hipótesis de trabajo	4
10. Metodología	4
11. Resultados esperados	5
12. Presupuesto general.....	6
13. Plan de trabajo detallado	6
14. Bibliografía	8
15. Historial científico del grupo.....	9
15.1. Bibliografía.....	9

INVESTIGACIÓN:

1. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	
Título:	Ensayo Terapéutico Multicéntrico para los trastornos del comportamiento en el Síndrome de Rett
Área:	Neuropediatría, enfermedades raras, problemas del estado de ánimo y del comportamiento
Palabras clave:	Síndrome de Rett, terapias de los trastornos de ánimo y del comportamiento, venlafaxina, citalopram

2. DATOS DEL CENTRO SOLICITANTE	
Nombre o razón social:	Fundación Sant Joan de Déu (En colaboración con el Hospital Sant Joan de Déu Barcelona)
C.I.F:	G-62978689
Representante legal:	Dr. Josep M. Haro
Representante a efectos de comunicación:	Mercè Tura
Domicilio:	C/ Santa Rosa 39-57. 4a Planta Edifici Docent Sant Joan de Déu
Ciudad:	Esplugues de Llobregat
Província:	Barcelona
Telefono:	93 600 97 51
Fax:	93 600 97 71
e-mail:	jmharo@fsjd.org

3. DATOS DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN		
Director del proyecto:		
Nombre	e-mail	Categoría Profesional
Mercé Pineda	pineda@hsjbcn.org	Child neurologist, MD, PhD
Investigadores:		
Nombre	e-mail	Categoría Profesional
Mercé Pineda	pineda@hsjbcn.org	Child neurologist, MD, PhD
Ana Roche	aroche@hsjbcn.org	Child neurologist, MD
Marc Turón	mturon@fsjdcn.org	Psychologist

4. EL PORQUÉ DEL PROYECTO

Las niñas con mutaciones en *MECP2* que presentan el síndrome de Rett atraviesan numerosos períodos de alteraciones del comportamiento. Las más evidentes de éstas ocurren en la fase 2 (Hagberg, Trevathan) de la enfermedad, entre los 18 meses y los 3 años de edad, manifestándose como irritabilidad, dificultades para conciliar o mantener el sueño, llanto, pérdida del interés social, del uso del lenguaje y del uso de las manos. La base biológica de esta fase de regresión aún no se conoce con exactitud.

Después de la fase 2, la mitad de estas pacientes desarrollan alteraciones del comportamiento. En las niñas más pequeñas, con edades comprendidas entre 5 y 10 años, los comportamientos disruptivos más frecuentes son los gritos, los tirones de pelo, los mordiscos, los golpes, dar pasos sin un destino concreto, ansiedad, inatención e hiperactividad y automutilación. En preadolescentes, adolescentes y jóvenes (10-20 años) son más frecuentes la melancolía, el insomnio, la pérdida de apetito, la pérdida del interés por las cosas que les interesaban anteriormente, los gritos inexplicados y los signos de depresión. Estos comportamientos no solo interfieren en la calidad de vida de estas niñas, sino en las intervenciones terapéuticas y educacionales. El comportamiento cambia con la edad y su manejo supone un difícil reto para cuidadores y médicos.

5. RELEVANCIA SOCIAL Y CIENTÍFICA

Se ha podido establecer una asociación entre las alteraciones emocionales y del comportamiento y los cambios neuroquímicos en las sinapsis de las regiones cerebrales corticales y subcorticales (1). Las alteraciones de la función sináptica, que, se sabe, también ocurren en los defectos del gen *MeCP2* (2, 3), contribuyen a la patofisiología presente en varias enfermedades neuropsiquiátricas. Diversas líneas de investigación sugieren que existen alteraciones en los neurotransmisores cerebrales de los pacientes con S. Rett, que implican al glutamato (4-6), al GABA (7), la noradrenalina (8), la serotonina (9) y la dopamina (10). Estos defectos se han demostrado también en el modelo murínico para el S. Rett (11). Las alteraciones primarias del comportamiento en el S. Rett son con gran probabilidad el resultado de cambios en los sistemas monoaminérgicos, como respaldan publicaciones de estudios de investigación en humanos y animales con S. Rett. Tratar los comportamientos disruptivos con inhibidores selectivos de serotonina o SSRI (12-17) e inhibidores de los receptores de serotonina y noradrenalina o SNRI (18-22), en base a los conocimientos actuales de las alteraciones neuroquímicas en el S.Rett, puede aportar a las familias una ayuda a la hora de cuidar a sus hijas. La ansiedad, el estrés y el miedo también se observan con frecuencia en las jóvenes con S. Rett. Los datos publicados sugieren un elevado nivel de factor liberador de coricotropina (CRF) en un modelo de ratón (23). También se conoce que los niveles de cortisol están elevados en situaciones de estrés y ansiedad (24-26), y que se puede medir en la saliva oral (27,28).

6. BENEFICIOS CIENTÍFICOS Y TÉCNICOS DEL PROYECTO

La medida de los niveles de cortisol en la saliva oral supondrá una oportunidad de correlacionar las variaciones del comportamiento en función de distintos grados de estrés, usando los valores de cortisol como reflejo de las alteraciones neurometabólicas que ocurren en el síndrome de Rett (27, 28).

Este estudio aportará información importante sobre cual de los dos fármacos (venlafaxine o citalopram) beneficiaría a las niñas con S. Rett, controlando los comportamientos disruptivos, y, por tanto, mejorando las oportunidades de lograr una mejor integración en la escuela y la sociedad, y ofreciendo así una mejora de calidad de vida a las niñas y sus familias.

7. OBJETIVO PRINCIPAL

Se propone en este proyecto un ensayo multicéntrico (cooperación entre diferentes hospitales de Israel y EEUU, incluyendo el John Hopkins Hospital y otros tres centros médicos), con propuestas para tratar el comportamiento disruptivo, incluyendo la irritabilidad, gritos, mordiscos, automutilación, la ansiedad, la inatención y la hiperactividad.

El objetivo principal de este ensayo será mejorar el estado de humor y el comportamiento con el uso de Venlafaxina, un inhibidor de la recaptación de la serotonina y noradrenalina (SNRI), y compararlo con los resultados obtenidos con Citalopram, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (SSRI) para determinar el fármaco con mayor eficacia y con menor morbilidad asociada.

8. OBJETIVOS SECUNDARIOS

Los objetivos secundarios de este estudio serán:

- determinar si los efectos de ambos fármacos tienen relación con la edad
- determinar si estos efectos tienen relación con el genotipo
- describir qué tipo de alteración del comportamiento se modifica en mayor medida tras la intervención terapéutica.
- evaluar la mejoría de la calidad de vida tras la intervención.

9. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La reducción de catecolaminas en el cerebro se asocia a anomalías en la función sináptica, y es responsable de cambios en el humor y el comportamiento en las niñas con S. Rett. El comportamiento se puede modificar con fármacos que aumenten las concentraciones de serotonina y noradrenalina en las sinapsis centrales.

Citalopram es un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina; venlafaxina es un inhibidor de la recaptación de serotonina y noradrenalina. Ambos fármacos ya han sido utilizados anteriormente en el tratamiento de problemas de comportamiento en niños y adolescentes con autismo y otros trastornos del humor o del comportamiento: este estudio permitirá la evaluación de la mejoría en los pacientes con S. Rett con comportamientos disruptivos con dos inhibidores de la recaptación de la serotonina diferentes, venlafaxina y citalopram.

10. MÉTODOLOGIA

Población base y selección de sujetos:

Seis centros (John Hopkins Hospital y otros 3 centros médicos en EEUU, Sheba Hospital en Israel, y el Hospital Infantil de Sant Joan de Déu en Barcelona) donde se realizan controles clínicos de niñas con S. Rett participarán en este estudio.

Los médicos de cada centro seleccionarán a 40 pacientes con S. Rett, divididos en 2 grupos de edad, de 5 a 10 años y de mayores de 10 años a 17 años y medio (240 pacientes en total).

1. Todos los pacientes serán valorados clínicamente antes de ser incluidos en el estudio para descartar otros problemas médicos que pudieran causar alteraciones del comportamiento, como reflujo grave o esofagitis, fracturas, problemas de la vesícula biliar, estreñimiento grave, distonía importante con espasmos, convulsiones no controladas, problemas dentales o problemas relacionados con la menstruación u otros problemas médicos.
2. Las familias darán el consentimiento de acuerdo con la evaluación del Comité Ético del hospital para participar en el estudio.

Criterios de inclusión:

1. Pacientes con mutaciones en *MECP2*
2. Pacientes con comportamientos disruptivos importantes que no respondan a otros tratamientos reconocidos
3. Pacientes que no tengan problemas médicos reconocidos como responsables de las alteraciones del comportamiento
4. Pacientes con edades comprendidas entre los 5 y los 17 años y medio en el momento del consentimiento para la inclusión en el estudio

Criterios de exclusión:

1. Pacientes sin control de su epilepsia (convulsiones diarias o semanales)
2. Pacientes con problemas médicos graves, causantes de dolor e incomodidad
3. Pacientes con intervalo QTc >440 ms en el EKG

Diseño del estudio, selección de pacientes, elección de fármacos y dosis

Cada centro seleccionará a 20 niñas con edades comprendidas entre los 5 y los 10 años. A 10 pacientes se les asignará el tratamiento con Venlafaxina, y a los otros 10 el tratamiento con Citalopram

Se seleccionará a 20 niños con edades comprendidas entre 10 y 17 años y medio, que también serán distribuidos en 2 grupos, 10 en el grupo de tratamiento con Venlafaxina y 10 en el de tratamiento con Citalopram

Se han elegido con precaución dosis bajas de ambos fármacos para el S. Rett para evitar la aparición de reacciones adversas, y determinar el nivel de tolerancia en pacientes que están por debajo de los valores de normalidad en los parámetros de crecimiento

Elección del fármaco:

En base a la información publicada hasta el momento actual en lo referente a las anomalías neuroquímicas en el S. Rett, y de acuerdo con la colaboración de Psiquiatría infantil de Hospital John Hopkins, se decidió medir la eficacia de 2 fármacos, Venlafaxina (inhibidor de la recaptación de serotonina y noradrenalina) y Citalopram (inhibidor selectivo de la recaptación de noradrenalina).

El ensayo con ambos fármacos durará 3 meses.

11. RESULTADOS ESPERADOS

El objetivo de este estudio es confirmar la hipótesis inicial, según la cual se alcanzaría cierta mejoría tras tratar los problemas de comportamiento de las niñas con S. Rett con un inhibidor de la recaptación de la serotonina. Esto podrá ser confirmado de forma más objetiva mediante distintas la apreciación de mejoría en distintas escalas de comportamiento utilizadas para los pacientes del estudio, incluyendo la calidad de vida de tanto de las niñas como de sus familias.

12. PRESUPUESTO GENERAL

	Basal	Mes 1	Mes 2	Mes 3	TOTAL
PERSONAL					
TESTS LABORATORIO	2000 € 3000 €			2000 € 3000 €	10.000 €
FUNGIBLE	EEG 4600€ Ca 2000 € 350 €	Ca 2000 € Lab 430 €	Ca 2000 € Lab 430 €	EEG 4600 € Ca 2000 € Lab 430 €	18.840 €
DESPLAZAMIENTOS-CORREO				1275 €	1.275 €
FARMACOS					500 €
COSTE TOTAL DIRECTO					30.615 €
COSTE INDIRECTO 15%					4.592,25 €
TOTAL					35.207,25 €

13. PLAN DE TRABAJO DETALLADO

Diseño del estudio:

Cada centro asignará aleatoriamente a 10 niñas de edades comprendidas entre 5 y 10 años en el grupo de tratamiento con venlafaxina, y 10 en el grupo de citalopram.

Otras 10 niñas de edades comprendidas entre 10 y 17 años y medio serán asignadas al grupo de venlafaxina y 10 más en el de citalopram.

La aleatorización se realizará en el John's Hopkins Medical Institutions (JHMI) Research Pharmacy y los datos se enviarán al Data Coordinating Center en la John's Hopkins School of Public Health (JSPH).

Esquema de dosis:

Venlafaxina	edad 5-10 años	Primera semana	Segunda semana	Tercera semana
Venlafaxina normon 50mg		25 mg DU	25 mg c/12h	25 mg c/8h
	edad 10.1-17.5 y			
		50 mg DU	50 mg c/12h	50 mg c/8h
Citalopram	edad 5-10 años	Primera semana	Segunda semana	Tercera semana
Citalopram normon 20 mg		5 mg DU	7.5 mg DU	10 mg DU
	edad 10.1-17.5 a.			
		10 mg DU	15 mg DU	20 mg DU

Monitorización interna:

Se evaluará a los pacientes recogiendo información clínica a través de la escala ABC, horario de sueño, y escalas de calidad de vida antes de iniciar el ensayo. Esto proporcionará una importante información para valorar el estado basal del comportamiento de los pacientes. Una vez que se inicie el tratamiento, cada sujeto será valorado telefónicamente desde el centro de referencia, cada semana durante 4 semanas, y después cada mes durante 3 meses más (total: 6 contactos).

Se recogerán las reacciones adversas.

Si la niña mostrara efectos adversos graves debido a la medicación, abandonaría el ensayo.

Se realizarán controles regulares de hemograma y niveles de cortisol en saliva en el mes 1, 2 y 3.

Se realizará un EKG en el mes 1, 2 y 3, y un VEEG con la visita del 3er mes.

Medidas del comportamiento durante el tratamiento

Las medidas del comportamiento usando las escalas de ABC durante el tratamiento se llevarán a cabo en el 1º y 2º mes por los padres y la escuela.

El calendario de sueño se registrara en el 1ºy 2º mes por los padres.

Los efectos adversos serán monitorizados desde el Centro de Atención Primaria.

Si ocurriera alguna reacción adversa grave, como convulsiones o syndrome serotoninérgico, se instauraría inmediatamente tratamiento IV con benzodiazepinas y/o medidas de hipotermia. Se considerará el uso de ciproheptadina, antihistamínicos, anticolinérgicos y antiserotoninérgicos. Los casos graves se tratarán con benzodiazepinas o inducción de pararálisis neuromuscular con agentes no despolarizantes.

Recogida de datos pre-tratamiento:

1. Cuestionario a los padres documentando la historia clínica y anotando los problemas o preocupaciones.
2. Se registra la existencia de una historia familiar de trastornos mentales.
3. Todas las pacientes serán valoradas mediante la ABC, Aberrant Behavior Check List en la escuela un mes antes de iniciar el estudio
4. Los problemas de sueño serán registrados por los padres usando un calendario de sueño un mes antes de iniciar el estudio
5. El cuestionario sobre la calidad de vida será completado por los padres antes de comenzar el estudio
6. En todas las pacientes se descartarán otros problemas médicos que pudieran causar alteraciones del comportamiento, como refljo grave, o esofagitis, fracturas, problemas de la vesícula biliar, estreñimiento grave, distonía importante, epilepsia no controlada, problemas dentales, comportamientos relacionados con la menstruación u otros problemas médicos.
7. Se realizarán las siguientes pruebas en todas las pacientes, antes de la inclusión en el estudio:
 - Video EEG,
 - EKG,
 - hemograma, función hepática incluyendo bilirrubina y enzimas, química básica, incluyendo calcio, fósforo, fosfatasa alcalina ósea, 25-dihidroxcolecalciferol, e IGF-1 8. Se medirá el cortisol salivar en ayunas (obtenido durante la primera hora tras el despertar)

Medidas post-tratamiento

Cuestionario ABC post-tratamiento, cuestionario de Calidad de vida, escalas de Mullen o Vineland a los 3 meses. EEG, EKG, hemograma, función hepática, incluyendo calcio, fósforo, fosfatasa alcalina ósea, 25-dihidroxcolecalciferol, e IGF-1 8. Se medirá el cortisol salivar en ayunas que también se repetirán a los 3 meses.

14. BIBLIOGRAFIA / REFERENCES

- 1) Santos M. Sumavielle T. Silva-Fernades. Peixeira –Castro A. et al. Age and region specific analysis of monoaminergic systems in the brain of MeCP2 Null mice implies the prefrontal and cortices in the earliest stages of the disease. *Neurology* 72, suppl 3 PO7.094, 347
2. Moretti, J.M. et al., Learning and memory and synaptic plasticity are impaired in a mouse model of Rett syndrome, *J Neurosci.* 26 (2006), pp. 319-327
- 3) Blue ME et al: Development of amino acid receptors in frontal cortex from girls with Rett syndrome. *Ann Neurol.* 1999; 45: 541-5
- 4) Lappalainen R, Riionen RS. High levels of CSF glutamate in Rett syndrome. *Pediatr Neurol.* 1996;15:213-6
- 5) Horska A et al. Brain metabolism in Rett syndrome: age clinical, and genotype correlations. *Ann Neurol.* 2009 Jan;65(1):90-7
- 6) H.T. Chao et al. MeCP2 controls excitatory synaptic strength by regulating glutamatergic synapse number, *Neuron* 2007;56: 58-65
- 7) Medrihan et al. Early defects of GABAergic synapses in the brain stem of a MeCP2 mouse model of Rett syndrome *J Neurophysiol.* 2008; 99:112-21
- 8) Viemari JC. Respir Physiol neurobiol. Noradrenergic modulation of the respiratory neural network: 2008; 164:123-30
- 9) Paterson DS et al. Serotonin transporter abnormality in the dorsal motor nucleus of the vagus in Rett syndrome potential implications for clinical autonomic dysfunction. *J Neuropathol Exp.Neurol* 2005; 64:1018-27
- 10) Chiron C et al Dopaminergic D2 receptor SPECT imaging in Rett syndrome: increase of specific binding in striatum *J Nucl Med* 1993; 34: 1717-1721
- 11) Ide S et al. defect in normal developmental increase of the brain biogenic amine concentrations in the mecp2-null mouse *Neurosci Lett* 2005; 386:14-17
- 12) Shirazi E. Alaghband-Rad J. An open trial of citalopram in children and adolescents with depression. *Journal of Child & Adolescent Psychopharmacology.* (2):233-9, 2005
- 13) Wagner KD. Robb AS. Findling RL. Jin J. Gutierrez MM. Heydorn WE. A randomized, placebo-controlled trial of citalopram for the treatment of major depression in children and adolescents *American Journal of Psychiatry.* 161(6):1079-83, 2004
- 14) Namerow LB. Thomas P. Bostic JQ. Prince J. Monuteaux MC. Use of Citalopram in pervasive developmental disorders. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics.* 24(2):104-8, 2003
- 15) Couturier JL. Nicolson R. A retrospective assessment of citalopram in children and adolescents with pervasive developmental disorders. *Journal of Child & Adolescent Psychopharmacology.* 12(3):243-8, 2002
- 16) Baumgartner JL. Emslie GJ. Crismon ML. Citalopram in children and adolescent with depression or anxiety *Annals of Pharmacotherapy.* 36(11):1692-7, 2002
- 17) Armenteros JL. Lewis JE. Citalopram treatment for impulsive aggression in children and adolescents an open pilot study. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry.* 41(5):522-9, 2002
- 18) Emslie GJ. Findling RL. Yeung PP. Kunz NR. Li Y. A Randomized controlled trial of venlafaxine ER versus placebo in Pediatric Social anxiety disorder. *Biological Psychiatry.* 62(10):1149-54, 2007
- 19) Emslie GJ. Findling RL. Yeung PP. Kunz NR. Li Y. Venlafaxine ER for the treatment of pediatric subjects with depression: results of Two placebo-controlled trials. *Journal of the American Academy of Child Adolescent Psychiatry.* 46(4):479-88, 2007
- 20) Emslie GJ. Yeung PP. Kunz NR. Long-term, open-label venlafaxine extended- release treatment in children and adolescents with major depressive disorder. *CNS Spectrums.*12(3):223-33, 2007
- 21) Rynn MA. Riddle MA. Yeung PP. Kunz NR. Efficacy and safety of extended- release venlafaxine in the treatment of generalized anxiety disorder in children and adolescents: two placebo-controlled trials. *American Journal of Psychiatry.* 164 (2):290-300, 2007

- 22) Weller EB. Weller RA. Davis GP. Use of venlafaxine in children and adolescents: a review of current literature. *Depression & Anxiety.* 12 Suppl 1:85-9, 2000
- 23) McGill BE et al. Enhanced anxiety and stress-induced corticosterone release are associated with increased CRH expression in mouse model of Rett syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103: 18267-72
- 24) Greaves-Lord K. Ferdinand RF. Oldehinkel AJ. Sondeijker FE. Ormel J. Verhulst FC. Higher cortisol awakening response in young adolescents with persistent anxiety Problem. *Acta Psychiatrica Scandinavica.* 116(2):137-44, 2007.
- 25) Jansen LM. Gispen-de Wied CC. Jansen MA. van der Gaag RJ. Matthys W. van Engeland H. Pituitary-adrenal reactivity in a child psychiatric population: salivary cortisol response to stressors, *European neuropsychopharmacology* 9(1-2): 67-75, 1999
- 26) Van West D. Claes S. Sulon J. Deboutte D. Hypothalamic-pituitary-adrenal reactivity in prepubertal children with social phobia. *Journal of Affective Disorders.* 111(2-3):281-90,2008
- 27) Corbett BA. Mendoza S. Abdullah M. Wegelin JA. Levine S. Cortisol circadian rhythms and response to stress in children with autism *Psychoneuroendocrinology.* 31(1):59-68, 2006
- 28) Rosmalen JG. Oldehinkel AJ. Ormel J. de Winter AF. Buitelaar JK. Verhulst FC. Determinants of salivary cortisol levels in 10-12 year old children; a population-based study of individual differences. *Psychoneuroendocrinology.* 30(5):483-95, 2005
- 29) Jessop DS. Turner-Cobb JM. Measurement and meaning of salivary cortisol: a focus on health and disease in children. *Stress.* 2008; 11:1-14
- 30) Neu M. Goldstein M. Gao D. Laudenslager ML. KA. Salivary cortisol in preterm infants: Validation of a simple method for collecting saliva for cortisol determination: *Early Human Development.* 2007; 83:47-54
- 31) Hanrahan K. McCarthy AM. Kleiber C. Lutgendorf S. Tsalkian E. Strategies for salivary cortisol collection and analysis in research with children. *Applied Nursing Research.* 2006;19:95-101

15. HISTORIAL CIENTIFICO DEL GRUPO

El Equipo de S. Rett del hospital infantil de Sant Joan de Déu realiza el seguimiento clínico y el estudio genético de los pacientes con S. Rett de diversos lugares. Uno de nuestros objetivos es mantener actualizada la base de datos española de S. Rett, con casi 400 pacientes con S. Rett, la mayor parte de España, pero también de Latinoamérica. Esto nos ha permitido estudiar una amplia muestra de niñas, estableciendo una relación genotípico-fenotípico, para tratar de prevenir (o disminuir) los diversos problemas asociados a este síndrome, facilitando un tratamiento precoz y un consejo clínico y genético.

Este equipo de trabajo, formado por clínicos y genetistas moleculares, pertenece a diferentes redes de investigación en Europa, Australia y EEUU. La Dra. Pineda es miembro del comité internacional de expertos en S de Rett.

15.1 BIBLIOGRAFIA Publicaciones:

- M Pineda. Síndrome de Rett. Punts de Vista. 1994, 03. Federació Catalana pro personnes amb Disminució Psíquica. Edita APPS.
- 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, 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, 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
- .- E. Monros, J Armstrong,C Casas, M. Pineda, Prenatal diagnosis in Spanish Rett mutations in the expresion 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.
- .- 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 May 24;373:83-9. Epub 2006 Mar 13.
- .- Ramaekers VT, Sequeira JM, Artuch R, Blau N, Temudo T, Ormazabal A, Pineda M, Aracil A, Roelens F, Laccone F, Quadros E. Folate receptor autoantibodies and spinal fluid 5-methyltetrahydrofolate deficiency in Rett syndrome. *Neuropediatrics.* 38(4):179-83
- .- 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* 28 Febr 2009 [Epub ahead of print]
- .- Mencarelli M, Spanhol-Rosseto A, Artuso R, Rondinella D, De Filippis R, Bahi-Buisson N, Nectoux J, Rubinstajn 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. Novel FOXG1 mutations associated with the congenital variant of Rett syndrome. *J Med Genet.* 2009 Jul 2. [Epub ahead of print]
- .- Bebbington A, Percy A, Christodoulou J, Ravine D, Ho G, Jacoby P, Anderson A, Pineda M, Ben-Zeev B, Bahi-Buisson N, Smeets E, Leonard H. Updating the profile of C-terminal MECP2 deletions in Rett syndrome. : *J Med Genet.* 2009 Nov 12 [Epub ahead of print]
- .- 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.

Treatment Response in Behaviour Disorders in Rett Syndrome

Ana Roche Martínez¹, Marc Turon², Laura Callejón-Póo², Elisenda Sole³, Judith Armstrong⁴, Mercé Pineda¹

¹Child Neurology Department, Sant Joan de Déu Children's Hospital, Barcelona, Spain

²Child Neuropsychology Department, Sant Joan de Déu Children's Hospital, Barcelona, Spain

³Child Cardiology Department, Sant Joan de Déu Children's Hospital, Barcelona, Spain

⁴Molecular Genetics Laboratory, Sant Joan de Déu Children's Hospital, Barcelona, Spain

Email: aroche@hsjdbcn.org

Received February 17, 2013; revised April 2, 2013; accepted May 3, 2013

Copyright © 2013 Ana Roche Martínez *et al.* This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

RTT girls suffer periods of abnormal behavior from early infancy, including irritability and sleep disorders or anxiety in the first years of life, and a more depressed mood after adolescence, all of which influences their quality of life. An association between emotional and behavioral disorders and various neurochemical changes in the synapses of cortical and subcortical brain regions has been established; also, cortisol levels in the blood vary during stress. The main purpose of this study was to improve mood and behavior disorders in RTT patients with venlafaxine (SNRI), and compare the results with citalopram (SSRIs) during 6 - 8 weeks, to determine which drug offered greater efficacy and fewer side effects, as well as to compare them to risperidone, and to correlate cortisol levels in saliva with stress and drug response. Eleven patients, aged 5 to 26 years old, agreed to participate in this study; neuropsychological tests (Mullen and Vineland scales), quality of life and quality of sleep scales, blood tests, EKG and EEG were performed before and after treatment. Only 2 patients completed the three months trial. Improvement in mood and behavior was not statistically significant for patients; differences in neurodevelopment and quality of life or sleep scales were not significant either; no serious adverse effects were observed. Cortisol levels in saliva decreased in 50% of the patients after the first month of treatment, although this was not statistically significant.

Keywords: Cortisol, Mood and Behavior, Rett Syndrome; SSRI; SNRI

1. Introduction

Rett syndrome (RTT) is a neurodevelopment disease which affects 1/10,000 newborn girls. The diagnosis is based on a series of clinical criteria (Table 1). The classical form consists of apparently normal development during the first 6 to 12 months of life (Phase 1), followed by global deterioration (Phase 2), with loss of acquired language and purposeful use of hands, onset of hand stereotypes and loss of social interest; clinical stability or even improvement occurs around 4 to 5 years of age (Phase 3) but sometimes further deterioration after adolescence may take place (Phase 4); atypical forms are either clinically milder or more severe than the classical form.

RTT girls suffer periods of abnormal behaviour: during Phase 2 [1,2], between 18 months and 3 years of age, irritability, sleep disorders, crying tantrums and loss of social interest appear; during Phase 3, half of these pa-

tients develop behavioural disorders: younger girls (5 to 10 years) tend to scream, hit, show anxiety, and exhibit inattention and hyperactive behaviours, and sometimes self-mutilation. Among preadolescents and adolescents (10 - 20 years) melancholy, insomnia, loss of appetite, loss of social interest, unexplained screams and signs of depression are more frequent. Anxiety, stress and fear are also commonly seen in young women with RTT. These behaviours interfere not only with the patient's quality of life, but also with therapeutic and educational interventions, as well as with their families' day-to-day life. Behavioural changes with age and their management become a challenge for caregivers and physicians.

An association between emotional and behavioural disorders and neuro-biochemical changes in the synapses of cortical and subcortical brain regions has been established. Synaptic function abnormalities contribute to several neuropsychiatric diseases [3,4]. Several authors sug-

gest that dysfunction in brain neurotransmitters in RTT patients involves glutamate [5-7], GABA [8], norepinephrine [9], serotonin [10] and dopamine [11]. These defects have also been demonstrated in the mouse model for RTT [12]. The primary behaviour alterations in patients with RTT are most likely the result of changes in the monoaminergic systems: treating disruptive behaviours with selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) [13-18] and serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors or SNRI [19-23] can improve behaviour.

Published data suggest high levels of corticotropin releasing factor (CRF) in mouse models [24] and cortisol blood levels during stress and anxiety [25-27].

Measurement of cortisol in oral saliva reveals a well-known correlation with levels in blood: saliva cortisol levels may be useful as a laboratory parameter of stress, and as a reflection of changes occurring in Neurometabolic Rett syndrome [28-30].

Table 1. Diagnostic criteria for RTT.

Diagnostic criteria for the classical form	
	4 main criteria
Diagnostic criteria for the atypical variants of RTT	
	2 main criteria
	5 support criteria
Main criteria	
	Partial or total loss of hand skills
	Partial or total loss of verbal language
	Inability for walking or apraxic gate
	Hand stereotypies (winging, washing, twisting, hand-to mouth, clapping...)
Support criteria	
	Breathing disturbances while awake
	Bruxism while awake
	Sleep pattern disturbance
	Abnormal muscle tone
	Abnormal peripheral circulation: cold hands and feet
	Scoliosis/kyphosis
	Growing retardation
	Acquired microcephaly
	Laughing or crying tantrums
	Decreased response to pain
	Intense eye communication or improvement of visual contact during the follow up

The main purpose of this study was to improve mood and behaviour disorders in RTT patients with venlafaxine, a reuptake inhibitor of serotonin and norepinephrine (SNRI), and compare the results with citalopram, a selective inhibitor of reuptake inhibitors (SSRIs), in order to determine which drug showed greater efficacy and fewer undesirable side effects. Other purposes of the study were to determine whether the level of salivary cortisol was related to the intensity of mood disorder and drug response; to determine whether the effects of the two drugs were related to age; to determine whether these effects were related to the genotype; to describe what type of altered behaviour was further modified after therapeutic intervention; and to evaluate the putative improvement in the patients' and their families' quality of life after treatment.

The study aimed to confirm the initial hypothesis according to which some improvement would be achieved after treating the behavioural problems of RTT girls with a serotonin reuptake inhibitor.

2. Material and Methods

Treatment with serotonin reuptake inhibitors was proposed to 15 Spanish RTT patients of Caucasian origin, aged 5 to 26 years of age; they were all controlled at the same hospital and all of them fulfilled the clinical criteria for the classical form of RTT. All patients were clinically evaluated before being included in the study to rule out other medical problems that might cause alterations in mood or behaviour, such as severe reflux or esophagitis, fractures, gallbladder problems, severe constipation, spasms, severe dystonia, uncontrolled seizures, dental problems or other medical problems.

Informed consent was obtained from the families in accordance with the hospital ethics committee.

2.1. Inclusion and Exclusion Criteria

- Inclusion criteria were:
 - major disruptive behaviours that did not respond to previous treatments
 - absence of medical problems recognized as responsible for the abnormal behaviour
- Exclusion criteria were:
 - uncontrolled epilepsy (seizures in the previous 6 months)
 - serious medical problems, causing pain and discomfort
 - QT corrected segment (QTc) greater than 440 ms on the electrocardiogram (EKG)

Patients were evaluated with several neurodevelopment and behaviour scales, and quality of life and sleep scales were used for their families and caregivers.

2.2. Dose Titration

Low doses of SRI were chosen to start with, in order to

avoid potential undesirable effects. The trial with the two drugs lasted three months. Slow increase titration is summarised in **Table 2**.

In case of lower therapeutic effect than expected, introduction a new-generation neuroleptic drug (risperidone or aripiprazol) at low doses was considered.

2.3. Evaluation Scales

In order to provide information to assess the baseline behavior of patients, they were evaluated with the Mullen scale for neurodevelopment, the Aberrant Behavior Checklist (ABC scale, completed by parents and teachers), and quality of sleep and quality of life scales before starting the trial. These were performed again after treatment.

Once the treatment was started, telephone contact was established weekly for five weeks and then every month for three months. Parents or caregivers had a contact e-mail address for enquiries. Adverse events were registered, and if any serious adverse effect was observed, the patient was withdrawn from treatment while continuing in the study.

2.4. Data Collection

- The following tests were performed in all patients before inclusion in the study:
 - a) Video EEG
 - b) EKG
 - c) Blood cell count (BCC), liver function including bilirubin and enzymes, basic biochemistry analysis, including calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, 25-dihydroxycholecalciferol, and IGF-1
 - d) Fasting salivary cortisol (obtained during the first hour after awakening in the morning)
- Data collection pre-treatment included:
 - 1) Questionnaire for parents documenting patient clinical history and noting of any problems or concerns.
 - 2) Specific record of the absence or existence of family history of mental disorders.
 - 3) Behavioural assessment by ABC at school during the last month prior to the study.
 - 4) Sleep problems referred by the parents through a quality of sleep questionnaire one month prior to the study.

Table 2. Treatment titration.

	1 st week	2 nd week	3 rd week	4 th week	5 th week
Venlafaxine 50 mg	12.5 mg	25 mg	50 mg	50 mg	50 mg
Citalopram 20 mg	5 mg	10 mg	15 mg	20 mg	20 mg

5) Quality of life questionnaire completed by parents prior to the study.

Post-treatment measures:

- 1) ABC post-treatment questionnaire, quality of life questionnaire, and Mullen and Vineland scales were obtained 3 months after treatment onset. These values were compared with the ones pre-treatment for each Patient using the Pearson product-moment correlation.
- 2) EEG, EKG, BCC, liver function, including calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, 25-dihydroxycholecalciferol, and IGF-18. Salivary cortisol was measured again 3 months after study onset.

2.5. Cortisol Levels in Saliva

Saliva samples were obtained by a cotton ball wetted in the patient's mouth at 8 am upon awakening, after 8 hours fasting. To minimize bias due to multiple technicians and to reduce cost and time, all samples were processed at the same time, with the same machine as previously described elsewhere [31]. Samples were kept in the refrigerator until testing.

Although cortisol levels in saliva have already been correlated with blood cortisol levels [31,32], samples from 2 healthy children and one healthy young adult were also obtained (data not shown).

3. Results

Although this study was proposed to 15 patients, only 11 families agreed to participate. All 15 children met inclusion criteria and none of them presented any of the exclusion criteria. The main reason for declining participation was dealing with antidepressant drugs. Also, families would rather cope with mood tantrums or occasional brief sad mood periods than add a new drug to their children's lives.

No serious adverse reactions such as seizures or serotonin syndrome were observed.

Three of the 11 patients did not complete the neuropsychological evaluation due to traveling issues (they lived far from the center, with difficult transport options). The other eight patients completed the tests in the established periods, although increasing dosage was only completed by four of them. Among these, only two (one patient with venlafaxine and another with citalopram) completed the 3 month trial, albeit with mild side effects.

Differences before and after treatment in ABC, quality of sleep and life questionnaires, and Mullen and Vineland score results were not statistically significant. Table 2 shows the statistical correlation (between Vineland scale scores before and after intervention).

Video EEG and EKG before and after treatment remained stable, and so did the rest of the biochemical pa-

rameters in blood. Blood cell count, liver function, ionogram, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, 25-dihydroxycholecalciferol and IGF-1 remained within normal limits both before and after treatment, without significant changes. Table 3 summarizes Cortisol laboratory workup.

3.1. Effects of Venlafaxine

Five of the eight patients who completed the study received venlafaxine. They were younger than 12 years old, with a predominantly anxious mood.

No major behavior changes were observed, but one patient presented a strange and inappropriate look, as if she was experiencing some frightening vision, after the first dose of venlafaxine. This facial expression disappeared a few hours afterwaragain. The patient completed the study without pharmacological treatment. Three more patients showed a “decrease inenergy” in their everyday activities, as expected, so venlafaxine was also discontinued.

3.2. Effects of Citalopram

Only one of the eight patients who completed the study (aged 26 years old, with predominance of depression mood) received citalopram. She initially presented a slight worsening of appetite, but then showed, progressively, a slight improvement of her self-aggression movements.

3.3. New Generation Neuroleptics

Two of the eight patients who completed the study were on risperidone at the moment of the study onset, and this treatment was not modified; only one patient needed to slightly increase the dose due to increased anxiety, with a good clinical response.

3.4. Cortisol Levels in Saliva

At least four patients showed a decrease in saliva cortisol levels one month after treatment, although this was not statistically significant (Table 4 and Figure 1).

Basal cortisol levels for patients 3 and 8 could not be tested because of insufficient saliva sample. This information was only obtained at the end of the study due to the laboratory technique, as explained in 2.5.

Except for patient 4, who only received one dose of venlafaxine, and patient 1, who did not modify her treatment with risperidone, the rest of the tested patients (4 patients) presented a decrease in cortisol levels in saliva one month after treatment onset.

4. Discussion

Mood and behavioural problems are among the most anguish issues for families of children with cognitive disabilities. They are hard to manage, and response to pharmacological treatment is not always as good as expected. Sometimes, a drug may work for a while and later on become less effective. If a biological marker could help measure anxiety or mood troubles, it would be easier to evaluate the effect of the different neuropsychiatric drugs on patients. This is especially appropriate in the case of Rett children, who also present limitations in verbal language.

Although none of the 15 selected patients presented exclusion criteria for this study, when told what type of drug was going to be tested, some parents rejected their participation. Also, the fact that it was a pilot study for these SSRI and NSRI drugs (albeit previously used to treat children), was another for declining the invitation.

Low doses of SRI were chosen to start with, in order to avoid potential undesirable effects, but as caregivers did not see a significant improvement, or even a “loss of energy” attitude, some withdrew administration. It is possible that if titration had been faster, positive effects would have been shown.

The alteration of facial expression referred by the family of patient 4 could be interpreted as a greater sensitivity of some Rett patients to some psychoactive drugs, as observed for methylphenidate. This patient is now on risperidone, with improvement in her behaviour.

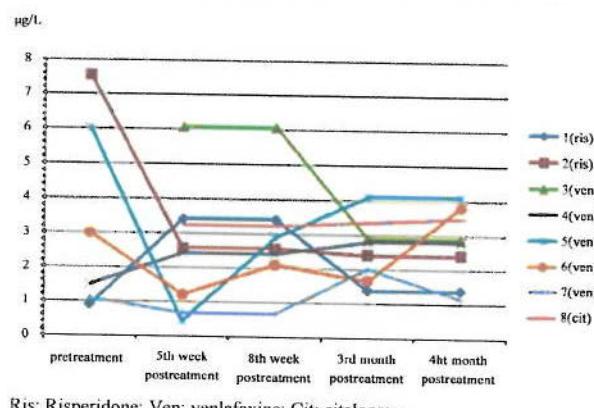
Table 3. Statistical correlation (Pearson product-moment correlation) between Vineland scale scores before and after intervention through.

	Expressive language	Receptive language	Visual reception	Fine motor skills	Gross motor skills
Expressive language	0.566	0.864 ^a	0.643 ^b	0.709 ^b	0.771 ^a
Receptive language	0.624	0.609	0.473	0.321	0.566
Daily skills	0.373	0.777 ^a	0.551	0.738 ^b	0.621
Interpersonal relationships	0.629	0.835 ^a	0.620	0.575	0.782 ^a
Fine motor skills	0.392	0.839 ^a	0.779 ^a	0.867 ^a	0.790 ^a
Gross motor skills	0.490	0.731 ^b	0.806 ^a	0.888 ^a	0.871 ^a

^aCorrelation is significant at 0.01 level (bilateral); ^bCorrelation is significant at 0.05 level (bilateral).

Table 4. Electrophysiology and laboratory workup before and after treatment. Cortisol levels are marked in grey.

Patient	Family mood disorder	Current treatment	Epilepsy	Treatment intervention	Saliva cortisol µg/L (NV 0.9-15.5)		
					Pretreatment	5 th -6 th -8 th week posttreatment	3 - 4 months posttreatment
1	Maternal grandmother depression	Risperidone, valproate, carnitine	Yes, controlled	Risperidone, unmodified	0.89	3.42	1.37
2	no	Risperidone, levetiracetam, melatonin	Yes, controlled	Risperidone, dose increase	7.53	2.58	2.41
3	no	Clobazam, trihexiphenidyl, valproate	Yes, controlled	Venlafaxine	Not enough sample	6.06	2.88
4	Maternal grandmother depression	Valproate	Yes, controlled	Venlafaxine	1.48	2.42	2.8
5	Mother reactive depression	Carbamazepine, vigabatrin, omeprazol, motilium	Yes, controlled	Venlafaxine	6.0	0.44 (↓)	2.9
6	no	Valproate, ethosuximide	Yes, controlled	Venlafaxine	3.0	1.2 1.56 2.64	1.65 3.82
7	Maternal grandmother depression	Ferrum, fiber, omeprazol, valproate, levetiracetam	Yes, controlled	Venlafaxine	1.07	0.67	2.0 1.14
8	no	Carbamazepine, clonazepam, levomepromazine, omeprazol, folaxin	Yes, controlled	Citalopram	Not enough sample	3.24	3.36 3.48

**Figure 1. Cortisol levels in saliva during the study period.**

4.1. Evaluation Scales

One of the main issues in this study was how to measure behavior. Many of the behavioural problems related to Rett syndrome and in general to children with severe cognitive disabilities interfere with the evaluation of their mental abilities. Attention difficulties, hyperactivity, sensorial deficiencies, and poor performance due to social disturbances or limited understanding of the task may lead to underscoring of their skills, especially when testing in

an unfamiliar context [33]. It is also important to consider that many of the tests which are used to measure cognitive abilities show a marked “ground effect” when direct scores are converted to standardized scores based on data for normative samples, which makes it even more difficult to obtain an estimation of the real abilities of these children. Also, while most cognitive tests do not measure cognitive functions under four standard deviations below the mean scores, adaptative behaviour tests such as Vineland Adaptive Behavior Scale are powerful enough to measure up to five standard deviations below the media. This fact makes it difficult to establish realistic correlations between cognitive functions and daily functional behaviour with these children [34]. However, regarding this small group of children, among functional tests, Vineland scale seems to be more accurate than Mullen scale to evaluate global functions in these patients.

Among other aims, the authors tried to identify the most suitable behaviour test to identify and measure mood disorders in RTT, and then use it as a semi-quantitative tool to evaluate clinical improvement after intervention. Both the Mullen and Vineland scales failed to show differences before and after treatment. This could be due to a lack of efficacy of the drugs at the chosen doses, but it is more likely that the tests are not sensitive enough to

evaluate subtle changes in mood and behaviour. Indeed, mood and behavior depend on so many environmental factors that it remains extremely difficult to isolate them from the context.

4.2. Quality of Life and Quality of Sleep Questionnaires

Quality of life and sleep questionnaires were completed in order to evaluate possible changes in everyday life after treatment onset. However, quality of life answers depend also on the caregiver's mood and attitude towards the child's difficulties. In this small group of patients, the quality of life and sleep questionnaires failed to identify concrete mood problems: listening to the caregivers was found to be more effective to listen to which difficulties the parents identified than to devote time to completing the questionnaires.

In contrast to the positive effects of desimipramine (a SNRI) on rats with MeCP2 mutations and RTT symptoms previously reported [35], our patients' quality of life and sleep did not experiment significant changes.

4.3. Cortisol Levels in Saliva

Cortisol levels in saliva seemed an apt biochemical marker of stress in these children, as this allowed avoiding venous punctures in children with cognitive disability. However, some small difficulties were observed: to prevent children from swallowing the cotton ball, a thread was inserted to hold it while the child chewed it. Sometimes children would chew it properly, but others would keep it almost dry. Given that all samples were analyzed at the same time, it was not possible to obtain a proper baseline sample of the two patients who initially did not produce enough saliva.

Although not statistically significant, there was a tendency of cortisol to show a decrease in venlafaxine greater than that of risperidone.

No correlation could be established between age and the effects of the two drugs, although the oldest patient, who presented a more depressive phenotype, is the one who presented a slight clinical improvement (not statistically significant); no correlation could be established with the genotype, given the small size of the sample and the absence of significant differences before and after treatment.

To conclude, serotonin reuptake might be impaired in RTT, as experimental studies have demonstrated, but the clinical effects of venlafaxine (SNRI) and citalopram (SSRI) in RTT patients were not clinically relevant in this small group.

An important limitation of this study was the small size of the sample. Future studies should involve larger samples and longer trials in order to increase reliability

and generalization of the findings and yield more realistic results.

5. Acknowledgements

This small study was made possible thanks to a BIORETT research grant, and to the confidence and commitment of the families of RTT girls, who invested their time and energy to trying to improve the quality of life of their children and others. The authors also thank the Associations of Rett Syndrome in Spain.

REFERENCES

- [1] B. Hagberg, "Clinical Manifestations and Stages of Rett Syndrome," *Mental Retardation and Development Disability Research Review*, Vol. 8, No. 2, 2002, pp. 61-65.
[doi:10.1002/mrdd.10020](https://doi.org/10.1002/mrdd.10020)
- [2] E. Trevathan and S. Naidu, "The Clinical Recognition and Differential Diagnosis of Rett Syndrome," *Journal of Child Neurology*, Vol. 3, No. S6, 1988, p. 16.
- [3] P. Moretti, J. M. Levenson, F. Battaglia, R. Atkinson, R. Teague, et al., "Learning and Memory and Synaptic Plasticity Are Impaired in a Mouse Model of Rett Syndrome," *Journal of Neurosciences*, Vol. 1, No. 26, 2006, pp. 319-327.
- [4] M. E. Blue, S. Naidu and M. V. Johnston, "Development of Amino Acid Receptors in Frontal Cortex from Girls with Rett Syndrome," *Annals of Neurology*, Vol. 45, No. 4, 1999, pp. 541-545.
[doi:10.1002/1531-8249\(199904\)45:4<541::AID-ANA21>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/1531-8249(199904)45:4<541::AID-ANA21>3.0.CO;2-2)
- [5] R. Lappalainen and R. S. Riikonen, "High Levels of CSF Glutamate in Rett Syndrome," *Pediatric Neurology*, Vol. 15, No. 3, 1996, pp. 213-216.
[doi:10.1016/S0887-8994\(96\)00218-4](https://doi.org/10.1016/S0887-8994(96)00218-4)
- [6] A. Horská, L. Farage, G. Bibat, L. M. Nagae, W. E. Kauffmann, P. B. Barker, et al., "Brain Metabolism in Rett Syndrome: Age, Clinical, and Genotype Correlations," *Annals of Neurology*, Vol. 65, No. 1, 2009, pp. 90-97.
[doi:10.1002/ana.21562](https://doi.org/10.1002/ana.21562)
- [7] H. T. Chao, H. Y. Zoghbi and C. Rosenmund, "MeCP2 Controls Excitatory Synaptic Strength by Regulating Glutamatergic Synapse Number," *Neuron*, Vol. 56, No. 1, 2007, pp. 58-65. [doi:10.1016/j.neuron.2007.08.018](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.08.018)
- [8] L. Medrihan, E. Tantalaki, G. Aramuni, V. Sargsyan, I. Durdanova, M. Missler, et al., "Early Defects of GABAergic Synapses in the Brain Stem of a MeCP2 Mouse Model of Rett Syndrome," *Journal of Neurophysiology*, No. 99, pp. 112-121.
- [9] J. C. Viemari, "Noradrenergic Modulation of the Respiratory Neural Network," *Respiratory Physiology and Neurobiology*, Vol. 1-2, No. 164, 2008, pp. 123-130.
- [10] D. S. Paterson, E. G. Thompson, R. A. Belliveau, B. A. Antalffy, F. L. Trachtenberg, D. D. Armstrong, et al., "Serotonin Transporter Abnormality in the Dorsal Motor Nucleus of the Vagus in Rett Syndrome, Potential Implications for Clinical Autonomic Dysfunction," *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, Vol. 11,

- No. 64, 2005, pp. 1018-1027.
[doi:10.1097/01.jnen.0000187054.59018.f2](https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000187054.59018.f2)
- [11] C. Chiron, C. Bulteau, C. Loc'h, C. Raynaud, B. Garreau, A. Syrota, et al., "Dopaminergic D2 Receptor SPECT Imaging in Rett Syndrome: Increase of Specific Binding in Striatum," *Journal of Nuclear Medicine*, Vol. 10, No. 34, 1993, pp. 1717-1721.
- [12] S. Ide, M. Itoh and Y. Goto, "Defect in Normal Developmental Increase of the Brain Biogenic Amine Concentrations in the MeCP2-Null Mouse," *Neurosciences Letters*, Vol. 386, No. 1, 2005, pp. 14-17.
[doi:10.1016/j.neulet.2005.05.056](https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.05.056)
- [13] E. Shirazi and J. Alaghband-Rad, "An Open Trial of Citalopram in Children and Adolescents with Depression," *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, Vol. 15, No. 2, 2005, pp. 233-239.
[doi:10.1089/cap.2005.15.233](https://doi.org/10.1089/cap.2005.15.233)
- [14] K. D. Wagner, A. S. Robb, R. L. Findling, J. Jin, M. M. Gutierrez and W. E. Heydorn, "A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Citalopram for the Treatment of Major Depression in Children and Adolescents," *American Journal of Psychiatry*, Vol. 161, No. 6, 2004, pp. 1079-1083.
[doi:10.1176/appi.ajp.161.6.1079](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.6.1079)
- [15] L. B. Namerow, P. Thomas, J. Q. Bostic, J. Prince and M. C. Monuteaux, "Use of Citalopram in Pervasive Developmental Disorders," *Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics*, Vol. 24, No. 2, 2003, pp. 104-108.
[doi:10.1097/00004703-200304000-00005](https://doi.org/10.1097/00004703-200304000-00005)
- [16] J. L. Couturier and R. Nicolson, "A Retrospective Assessment of Citalopram in Children and Adolescents with Pervasive Developmental Disorders," *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, Vol. 12, No. 3, 2002, pp. 243-248.
[doi:10.1089/104454602760386932](https://doi.org/10.1089/104454602760386932)
- [17] J. L. Baumgartner, G. L. Emslie and M. L. Crismon, "Citalopram in Children and Adolescents with Depression or Anxiety," *Annals of Pharmacotherapy*, Vol. 36, No. 11, 2002, pp. 1692-1697.
[doi:10.1345/aph.1C078](https://doi.org/10.1345/aph.1C078)
- [18] J. L. Armenteros and J. E. Lewis, "Citalopram Treatment for Impulsive Aggression in Children and Adolescents: An Open Pilot Study," *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, Vol. 41, No. 5, 2002, pp. 522-529.
[doi:10.1097/00004583-200205000-00009](https://doi.org/10.1097/00004583-200205000-00009)
- [19] G. J. Emslie, R. L. Findling, P. P. Yeung, N. R. Kunz and Y. Li, "A Randomized Controlled Trial of Venlafaxine ER versus Placebo in Pediatric Social Anxiety Disorder," *Biological Psychiatry*, Vol. 62, No. 10, 2007, pp. 1149-1154.
[doi:10.1016/j.biopsych.2007.02.025](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.02.025)
- [20] G. J. Emslie, R. L. Findling, P. P. Yeung, N. R. Kunz and Y. Li, "Venlafaxine ER for the Treatment of Pediatric Subjects with Depression: Results of Two Placebo-Controlled Trials," *Journal of the American Academy of Child Adolescent Psychiatry*, Vol. 4, No. 46, pp. 479-488.
- [21] G. J. Emslie, P. P. Yeung and N. R. Kunz, "Long-Term, Open-Label Venlafaxine Extended-Release Treatment in Children and Adolescents with Major Depressive Disorder. *CNS Spectrums*, Vol. 3, No. 12, 2007, pp. 223-233.
- [22] M. A. Rynn, M. A. Riddle, P. P. Yeung and N. R. Kunz, "Efficacy and Safety of Extended-Release Venlafaxine in the Treatment of Generalized Anxiety Disorder in Children and Adolescents: Two Placebo-Controlled Trials." *American Journal of Psychiatry*, Vol. 164, No. 2, 2007, pp. 290-300.
[doi:10.1176/appi.ajp.164.2.290](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.164.2.290)
- [23] E. B. Weller, R. A. Weller and G. P. Davis, "Use of Venlafaxine in Children and Adolescents: A Review of Current Literature," *Depression and Anxiety*, Vol. 12, No. S1, 2000, pp. 85-89.
[doi:10.1002/1520-6394\(2000\)12:1+<85::AID-DA12>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1520-6394(2000)12:1+<85::AID-DA12>3.0.CO;2-0)
- [24] B. E. McGill, S. F. Bundle, M. B. Yaylaoglu, J. P. Carson, C. Thaller and H. Y. Zoghbi, "Enhanced Anxiety and Stress-Induced Corticosterone Release Are Associated with Increased CRH Expression in Mouse Model of Rett Syndrome," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, Vol. 103, No. 48, 2006, pp. 18267-18272.
[doi:10.1073/pnas.0608702103](https://doi.org/10.1073/pnas.0608702103)
- [25] K. Greaves-Lord, R. F. Ferdinand, A. J. Oldehinkel, F. E. Sondeijker, J. Ormel and F. C. Verhulst, "Higher Cortisol Awakening Response in Young Adolescents with Persistent Anxiety Problem," *Acta Psychiatrica Scandinavica*, Vol. 116, No. 2, 2007, pp. 137-144.
[doi:10.1111/j.1600-0447.2007.01001.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2007.01001.x)
- [26] L. M. Jansen, C. C. Gispens-de Wied, M. A. Jansen, R. J. van der Gaag, W. Matthys and H. van Engeland, "Pituitary-Adrenal Reactivity in a Child Psychiatric Population: Salivary Cortisol Response to Stressors," *European Neuropsychopharmacology*, Vol. 1-2, No. 9, 1999, pp. 67-75.
- [27] D. Van West, S. Claes, J. Sulon and D. Deboutte, "Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Reactivity in Prepubertal Children with Social Phobia," *Journal of Affective Disorders*, Vol. 111, No. 2, 2008, pp. 281-290.
[doi:10.1016/j.jad.2008.03.006](https://doi.org/10.1016/j.jad.2008.03.006)
- [28] B. A. Corbett, S. Mendoza, M. Abdullah, J. A. Wegelin and S. Levine, "Cortisol Circadian Rhythms and Response to Stress in Children with Autism," *Psychoneuroendocrinology*, Vol. 31, No. 1, 2006, pp. 59-68.
[doi:10.1016/j.psyneuen.2005.05.011](https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.05.011)
- [29] J. G. Rosmalen, A. J. Oldehinkel, J. Ormel, A. F. de Winter, J. K. Buitelaar and F. C. Verhulst, "Determinants of Salivary Cortisol Levels in 10-12 Year Old Children: A Population-Based Study of Individual Differences," *Psychoneuroendocrinology*, Vol. 30, No. 5, 2005, pp. 483-495.
[doi:10.1016/j.psyneuen.2004.12.007](https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.12.007)
- [30] D. S. Jessop and J. M. Turner-Cobb, "Measurement and Meaning of Salivary Cortisol: A Focus on Health and Disease in Children," *Stress*, Vol. 11, No. 1, 2008, pp. 1-14.
[doi:10.1080/10253890701365527](https://doi.org/10.1080/10253890701365527)
- [31] M. Neu, M. Goldstein, D. Gao and M. L. Laudenslager, "Salivary Cortisol in Preterm Infants: Validation of a Simple Method for Collecting Saliva for Cortisol Determination," *Early Human Development*, Vol. 1, No. 83, 2007, pp. 47-54.
- [32] K. Hanrahan, A. M. McCarthy, C. Kleiber, S. Lutgendorf and E. Tsalikian, "Strategies for Salivary Cortisol Collection and Analysis in Research with Children. *Applied Nursing Research*, Vol. 19, No. 2, 2006, pp. 95-101.
[doi:10.1016/j.apnr.2006.02.001](https://doi.org/10.1016/j.apnr.2006.02.001)
- [33] N. Akshoomoff, "Use of the Mullen Scales of Early Learn-

- ing for the Assessment of Young Children with Autism Spectrum Disorders,” *Child Neuropsychology*, Vol. 12, No. 4-5, 2006, pp. 269-277. [doi:10.1080/09297040500473714](https://doi.org/10.1080/09297040500473714)
- [34] D. Hessl, D. V. Nguyen, C. Green, A. Chavez, F. Tassone, R. J. Hagerman, *et al.*, “A Solution to Limitations of Cognitive Testing in Children with Intellectual Disabilities: The Case of Fragile X Syndrome,” *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, Vol. 1, No. 1, 2009, pp. 33-45. [doi:10.1007/s11689-008-9001-8](https://doi.org/10.1007/s11689-008-9001-8)
- [35] C. H. Pan and S. Tsai, “Early Intervention with Psychostimulants or Antidepressants to Increase Methyl-CpG-Binding Protein 2 (MeCP2) Expressions: A Potential Therapy for Rett Syndrome,” *Medical Sciences Monitor*, Vol. 18, No. 1, 2012, pp. 1-3. [doi:10.12659/MSM.882183](https://doi.org/10.12659/MSM.882183)