

Artículo original

Correlación clínico-molecular en niñas con retardo mental y síndrome de sitio frágil del X

Dres. MARIA DEL VALLE TORRADO*, LILIE CHERTKOFF*, JORGE HERRERA*,
LILIANA BIN**, SILVIA TENEMBAUM*** y CRISTINA Z. BARREIRO*

RESUMEN

Introducción. El síndrome de sitio frágil del X (Fra-X) es la causa más frecuente de retardo mental (RM) heredable, con un patrón de herencia ligado al X dominante. Su incidencia en mujeres se estima en 1 cada 2.500. En los varones, el RM está asociado a un fenotipo clínico-conductual que permitió elaborar un sistema de puntaje de signos para facilitar su detección clínica.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la utilidad de dicho sistema de puntaje en una población de niñas con retardo mental. Se realizó para ello un estudio comparativo entre los hallazgos clínicos y los resultados de los estudios moleculares.

Material y métodos. Durante un período de 6 años se seleccionaron 49 niñas con retardo mental sin diagnóstico que consultaron al Servicio de Genética del Hospital "Dr. J. P. Garrahan". Se aplicó a cada una de ellas un sistema de selección compuesto por 16 signos clínico-conductuales, adjudicando un punto por signo. Se realizaron estudios citogenéticos y moleculares para diagnóstico de Fra-X y evaluación psicopedagógica.

Resultados. El diagnóstico de Fra-X se realizó en el 36,7% del grupo por estudios moleculares. La aplicación del sistema de puntaje clínico mostró una importante dispersión comparando el grupo de niñas afectadas (Fra-X) y el de no afectadas, con una amplia zona de superposición. Estos resultados demuestran que los criterios clínicos no son suficientes para la detección de esta patología en niñas. Sin embargo, los siguientes signos, seleccionados por regresión logística, sólo resultaron orientadores para sospechar esta patología en niñas con RM: historia familiar de varones afectados, halux ancho, cara larga, paladar alto y trastornos del lenguaje.

Palabras clave: Fra-X, retardo mental en niñas, retardo mental ligado al X.

SUMMARY

Introduction. Fragile-X syndrome (Fra-X) is the most common inherited form of mental retardation (MR) with an unusual dominant X-linked genetic trait. It has an incidence of 1/2.500 in females. Mental retardation in Fra-X males is associated with phenotypic and behavioral abnormalities. In account of this clinical score could be elaborated for Fra-X screening.

In this report we compare clinical findings and molecular results in a group of mental retarded girls in order to establish the screening usefulness of the clinical score to detected Fra-X.

Material & methods. 49 mental retarded girls without specific diagnosis attending the genetic department of Garrahan Hospital, were selected for study. A clinical score with 16 physical and behavioral signs was applied to each girl, giving one point for each sign. Cytogenetic and molecular studies for the Fra-X site and neuropsychological evaluation were performed to all them.

Results. Molecular studies confirmed Fra-X diagnosis in 36.7% of this MR female group. The correlation of clinical findings using the score and molecular results between Fra-X affected and non-affected girls, showed a great dispersion. These results demonstrate that clinical criteria alone are inadequate for Fra-X screening in MR girls. Nevertheless, the following clinical signs showed to be useful applying logistic regression: positive family history with affected males, wide hallux, long face, high palate and linguistic dysfunction.

Key words: Fra-X, mental retardation in girls, X-mental retardation.

ARCH ARG PEDIATR / 1998 / VOL. 96: 294

INTRODUCCION

El síndrome de sitio frágil del X (Fra-X o síndrome de Martin-Bell)¹ es la segunda causa más

frecuente de retardo mental (RM) de origen genético, después del síndrome de Down y la primera de etiología heredable.^{1,2}

La prevalencia históricamente reconocida es de 1 cada 1.200 varones y 1 de cada 2.500 mujeres.^{3,4} Una reciente revisión, basada en estudios moleculares, la estima en 1/4.000. Esta disminución puede deberse al acceso a técnicas diagnósticas más precisas y al resultado de años de

* Servicio de Genética.

** Clínicas interdisciplinarias.

*** Servicio de Neurología.

Hospital de Pediatría "Dr. Juan P. Garrahan".

Correspondencia: Dra. María del Valle Torrado, Bufano 1764. (1416) Buenos Aires.

detección y asesoramiento familiar.⁵

Martin y Bell describieron varones con esta forma de RM en 1943¹ con un típico patrón de herencia ligada al X. En 1971, Escalante⁶ fue el primero en informar acerca de RM en mujeres asociado con el marcador del cromosoma X; estas mujeres presentaban algunos de los signos físicos descritos en los varones afectados.

En 1969, Lubs⁷ describió la presencia de un sitio frágil en la región Xq27.3 del cromosoma X en cultivo de linfocitos de varones afectados.^{8,9}

En el año 1991, se describió, a nivel molecular la amplificación de una secuencia trinucleotídica repetida (CGG)_n en el extremo 5' no traducido del gen FMR-1 localizado en Xq27.3.¹⁰⁻¹² Esta secuencia (CGG)_n de longitud variable en la población normal presenta un rango de 6 a 56 repeticiones.^{11,13} Los varones transmisores normales (VTN) y las mujeres portadoras poseen de 57 a 200 repeticiones, genotipo denominado premutación. Los individuos con manifestación fenotípica presentan una amplificación del trinucleótido por encima de las 200 repeticiones, genotipo denominado mutación completa.¹³ El paso de premutación a mutación completa sólo ocurre cuando la mutación es transmitida por una mujer.

La expansión de la secuencia (CGG)_n está asociada a una metilación anormal de la región promotora que conduce a un silenciamiento del gen FMR-1 y ausencia de la proteína FMRP en los individuos afectados.^{14,15} En modelos animales, se observó que la ausencia de FMRP en células del sistema nervioso central impediría la síntesis de las proteínas involucradas en la maduración sináptica.¹⁶

El retardo mental, en grado variable, está presente en todos los varones y en aproximadamente el 50% de las mujeres que presentan la mutación completa.

Una serie de signos físicos y conductuales presentes en varones afectados permitió elaborar un sistema de puntaje clínico de selección que resultó ser eficaz al ser validado con pruebas de laboratorio.¹⁷ Sin embargo, existe controversia entre los distintos autores sobre la presencia de rasgos distintivos en las mujeres afectadas.¹⁸⁻²⁰

Con el objeto de aportar nuestra experiencia en este tema, efectuamos un estudio de casos y controles en una población de niñas con retardo mental.

Una vez identificadas las pacientes con esta enfermedad se investigaron los cocientes intelectuales.

OBJETIVOS

Nuestro objetivo fue investigar si el puntaje clínico de selección aplicado en la detección de varones con síndrome de sitio frágil del X,¹⁷ nos permitía la detección de las niñas afectadas. Para ello realizamos una correlación entre el sistema de puntaje clínico y los hallazgos citogenéticos y moleculares.

MATERIAL Y METODOS

Desde abril de 1989 hasta abril de 1995, sobre un total de 4.084 niños con RM que concurrieron al Servicio de Genética del Hospital "Dr. J. P. Garrahan" seleccionamos 67 niñas con RM sin diagnóstico. Se excluyeron de la muestra las pacientes que tenían etiología conocida, ya sea por causas cromosómicas, génicas, embriopáticas y aquellos retardos asociados a microcefalia o anomalías congénitas múltiples.

Se eliminaron 18 pacientes que efectuaron sólo el estudio cromosómico pero no el estudio molecular. Las 49 niñas fueron evaluadas por un equipo interdisciplinario compuesto por genetista clínico, neuropediatra, psicopedagoga, citogenetista y biólogo molecular.

Se efectuó en todas ellas un examen clínico aplicando el sistema de puntaje ya utilizado en la detección de varones, compuesto por la combinación de 16 signos clínicos y conductuales¹⁷ (se suprimió el macroorquidismo y se agregó el halux ancho, que fue encontrado en el 60% de los varones afectados, siendo este dato estadísticamente significativo comparado con el grupo control).

A cada ítem considerado positivo se le asignó un punto en la evaluación.

Puntaje clínico

Los 16 signos fueron:

1. *Herencia familiar compatible con herencia ligada al X.* Dato recogido por anamnesis sobre antecedentes genealógicos.
2. *Talla y perímetro cefálico en percentilo 50 o más.* Se consideró un punto cuando ambos parámetros estaban en el percentilo 50 o por encima de éste. Para esta medición se utilizaron las tablas antropométricas de Lejarraga, H. y Orfila, G.²¹
3. *Orejas largas.* Medidas con un centímetro metálico. Se consideró positivo cuando el tamaño estaba en percentilo 75 o más.²²
4. *Orejas prominentes.* Se consideró presente este signo cuando estuvieron separadas más de 30 grados del hueso temporal, medido con calibre de Vernier y transportador.

5. *Cara larga*. Medida con calibre de Vernier, desde la raíz de la nariz al borde inferior del mentón. Se consideró positivo cuando la medida estaba en + 1 DE o más.²³ (Fotografía 1).
6. *Paladar alto*. Por evaluación clínica cualitativa.
7. *Callos en dorso de dedos o manos*. Por observación clínica.
8. *Hiperlaxitud articular metacarpofalángica*. Se consideró positivo cuando, al evaluar la dorsiflexión pasiva del segundo al quinto dedo sobre una superficie plana, ésta era igual o mayor a 90 grados.²⁴
9. *Depresión del tercio inferior del esternón*. Por observación clínica cualitativa.
10. *Pobre contacto visual*. Se manifestó en la actitud de rehuir la mirada del observador.
11. *Hiperactividad*. Se consideró positivo al presentar signos de inquietud (p. ej. retorcerse en el asiento, movimientos constantes de manos o de pies, etc.) o conductas motoras inapropiadas (p.ej. pararse, correr estando en

clase o mientras uno le habla).²⁵

12. *Estereotipias varias*. Movimientos cortos y rápidos como aleteo de manos, movimientos giratorios y balanceo.

13. *Autoagresiones*. Se consideró positiva la observación de conductas autoagresivas distintas de morderse las manos, tales como golpearse alguna parte del cuerpo con otra o con objetos.

Los signos 10,11,12 y 13 se consideraron positivos si estuvieron presentes en el momento de la entrevista o surgieron del relato de padres, docentes o profesionales relacionados con el niño, habiendo persistido por más de 6 meses.

14. *Trastornos del lenguaje*. Se incluyeron retardo en la adquisición, trastornos específicos del lenguaje como taquifemia (disfunción de frecuencia y ritmo) y trastornos articulatorios de la palabra.²⁶

15. *Retardo mental*. La presencia de este signo fue determinada al detectarse cualquier tipo de retraso, detención o reversión de las pautas evolutivas por anamnesis y examen clínico. En la edad escolar se agregó como parámetro el fracaso en el aprendizaje. En nuestra muestra, este ítem fue ampliado con evaluación del CI por ser un protocolo de investigación. El CI fue determinado por la aplicación de pruebas psicométricas administradas por una psicopedagoga; cuando esto no fue posible se realizó un promedio de las aptitudes motoras, del lenguaje y adaptativas.

16. *Halux ancho*. Por evaluación clínica cuantitativa.

A cada ítem positivo se le asignó un punto en la evaluación.

Estudios citogenéticos

La diferenciación cromosómica en las preparaciones para microscopía se obtuvo con bandas G.²⁷ Sobre este material así tratado se determinó el cariotipo constitucional en 11 a 15 metafases. La frecuencia del sitio frágil Xq27.3 se obtuvo por la observación de 100 metafases por paciente. Se controló el poder inductor del Fudr sobre el cultivo por la presencia de sitios frágiles comunes folato dependientes en 3p14 y 6q26.

El criterio de aceptación de un cultivo como Fra-X positivo fue la observación de tres metafases con Fra-X en un mismo cultivo o de dos metafases positivas en dos cultivos consecutivos provenientes de muestras extraídas en diferentes momen-



FOTOGRAFÍA 1: Niña de 15 años, afectada.

tos. Estos criterios son algo más exigentes que los recomendados por Dewald et al.²⁸

Estudios moleculares

Se analizó el ADN genómico (obtenido a partir de linfocitos de sangre periférica) por la técnica de Southern Blot.²⁹ Con el fin de evaluar simultáneamente el tamaño de la región amplificada (CGG)n y el patrón de metilación de la isla CpG adyacente se utilizaron las enzimas de restricción EcoR1 y Eag1³⁰ en doble digestión. La sonda empleada para la detección de los fragmentos de interés fue StB12.3 (gentilmente cedidas por el Dr. J.L. Mandel).

Procesamiento de datos

Los datos obtenidos fueron volcados a la base de datos del programa de investigación epidemiológica EpiInfo y procesados con los analizadores estadísticos del mismo.³¹ Para la realización de la regresión logística se utilizó el programa estadístico SPSS.³² Se consideró como variable dependiente el estudio molecular y como variables independientes los 16 signos clínicos.

Estudios psicopedagógicos

Las pruebas usadas en las pacientes fueron:
En pacientes menores de 3 años: Bayley³³ y

CLAMS.³⁴

En pacientes de 3 a 6 años: Hora de juego psicopedagógica,³⁵ dibujo de figura humana,^{36,37} patrón gráfico,³⁸ Terman³⁹ en pacientes con CI menor de 69. Prueba de inteligencia WPPSI.⁴⁰

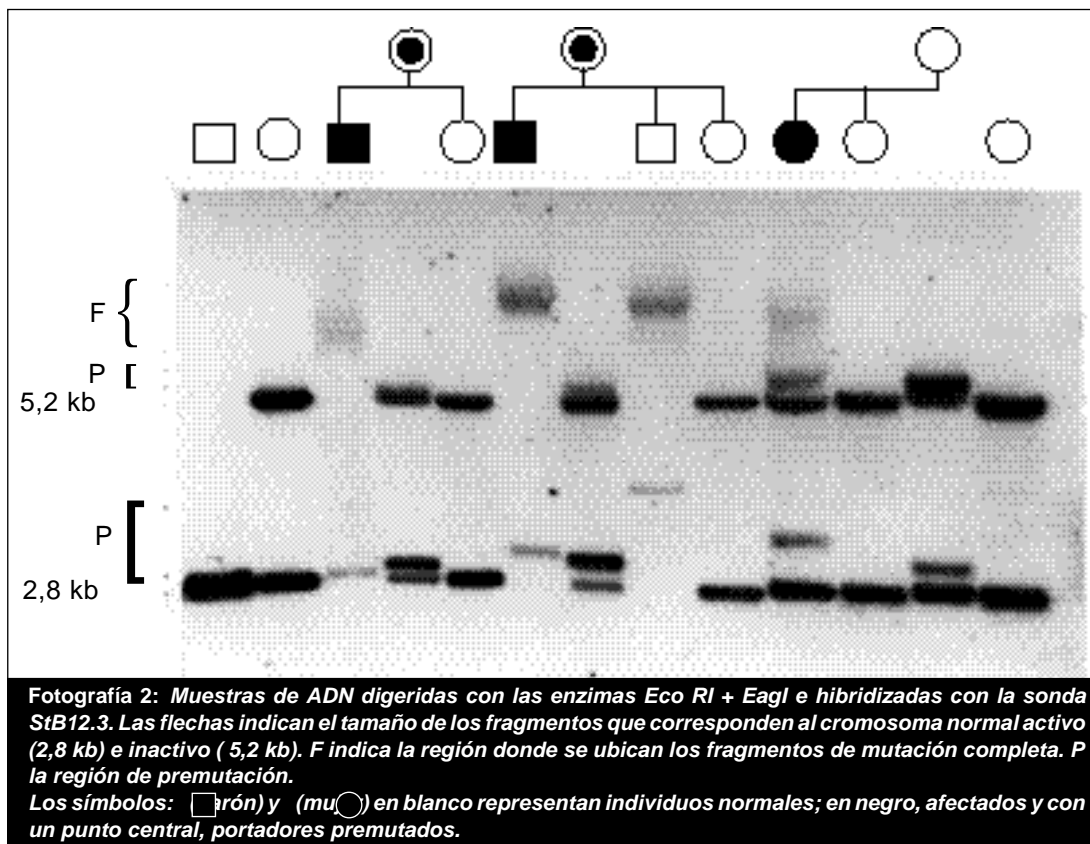
En pacientes de 6 a 12 años: Hora de juego psicopedagógica, dibujo de persona que aprende, Bender, Wisc III⁴⁰, prueba de Terman en pacientes con CI menor de 69.

En pacientes de 12 a 17 años: Historia de aprendizajes, dibujo de persona que aprende, Wisc III, prueba de Terman en pacientes con CI menor de 69.

En relación al grado de retardo mental, se utilizó la escala de CI de Freeman adaptada por Fejerman⁴¹ hasta CI de 69; para cocientes intelectuales superiores a 69 se usó la escala de Wechsler.⁴² En todos los casos se correlacionaron las pruebas psicométricas y proyectivas con la historia vital.

RESULTADOS

Se analizó la amplificación de la región CGG y el estado de metilación de las secuencias adyacentes (*Fotografía 2*) en las 49 niñas que cumplían con los criterios de inclusión previamente definidos. De acuerdo a este resultado se obtuvieron dos grupos:



a) Afectadas

18 niñas (36,7 %) con mutación completa (una de ellas con mosaico de premutación y mutación completa), pertenecientes a 14 familias no relacionadas. Dos de ellas eran las únicas afectadas en la familia. El rango etario fue de 2 a 16 años (x 8,0). El puntaje obtenido fue ampliamente variado, con valores entre 3 y 13 puntos (Gráfico 1). El déficit cognitivo se distribuyó mayoritariamente entre fronterizo y leve (83,41%) (Gráfico 2). El estudio cromosómico fue en todas ellas positivo, con porcentajes variables entre 4 y 50% de las metafases analizadas.

b) No afectadas

31 niñas (63,3 %) correspondientes a 30 familias presentaron ambos alelos en el rango normal. En una de ellas, el estudio cromosómico fue positivo en un 5% de las metafases analizadas (falso positivo). No se observaron en este grupo otras anomalías cromosómicas. El rango etario fue de 2 a 17 años (x 6,84) y el puntaje varió entre 2 a 8 puntos mostrando una amplia superposición con el grupo anterior (Gráfico 1). El déficit cognitivo se distribuyó mayoritariamente entre leve y moderado (89,3 %) (Gráfico 2).

Los 16 signos utilizados en la evaluación clínica fueron analizados por el método de regresión logística considerando como variable dependiente al estudio molecular y como variables independientes los 16 signos clínicos. Este análisis demostró que las variables orientadoras en el grupo de afectadas con síndrome de sitio frágil del X, por orden de jerarquía son: 1) historia familiar de varo-

nes afectados con retardo mental; 2) halux ancho; 3) cara larga; 4) paladar alto y 5) trastornos del lenguaje.

La detección de un mínimo de 4 de estos 5 signos en la población estudiada tiene una sensibilidad de 44,44% y una especificidad del 100%. El valor predictivo positivo es de 100% y el valor predictivo negativo es de 75%; por lo tanto, estas variables pueden ser orientadoras pero no suficientes para efectuar presunción clínica.

Los estudios citogenéticos tuvieron una sensibilidad del 100% y una especificidad del 96,77 al ser comparados con la certeza diagnóstica de los estudios moleculares. En nuestro trabajo la sensibilidad y la especificidad son mayores a las descritas en otros grupos. Esto puede deberse a que los estudios citogenéticos fueron siempre realizados por un mismo observador.

DISCUSION

El puntaje clínico de selección no resultó eficaz para la detección de niñas afectadas. Las mujeres con la mutación completa para el síndrome de sitio frágil del X pueden presentar una gran variabilidad de signos clínicos y conductuales.

Por su certeza diagnóstica, los estudios moleculares fueron elegidos para la selección de los grupos; sin embargo, es de destacar que en todas las niñas afectadas los estudios citogenéticos fueron positivos.

De los signos orientadores seleccionados con análisis de regresión logística, la historia familiar puede ser un sesgo de nuestra muestra, ya que

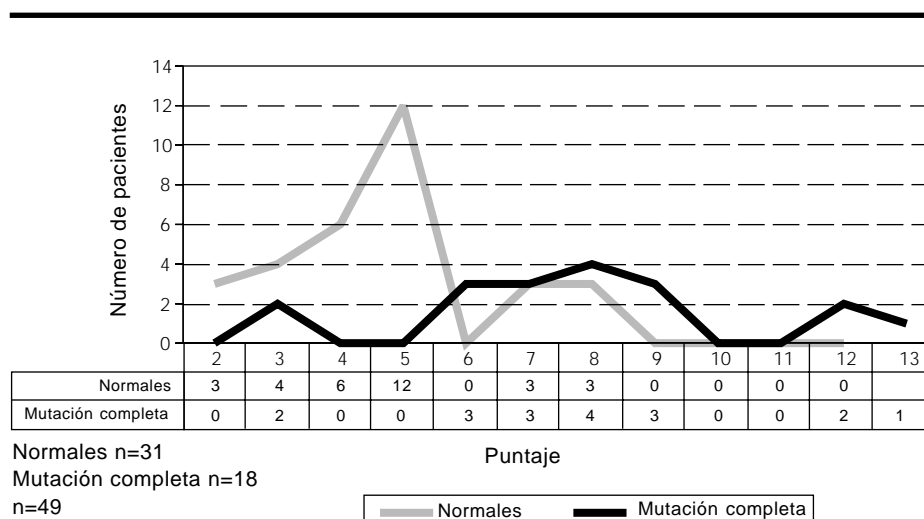


GRÁFICO 1
Comparación del puntaje pediátrico
entre mujeres Fra-X detectadas molecularmente y Fra-X negativas

varias niñas del grupo fueron referidas a la consulta por la detección previa de un varón afectado. De las 18 niñas del grupo de afectadas, 4 consultaban por primera vez y 2 de ellas eran las únicas afectadas en la familia.

A partir de la detección de un niño o niña afectada, la evaluación clínica, psicopedagógica, citogenética y molecular se amplió a los familiares en riesgo. Se detectaron 23 mujeres con la mutación completa entre los familiares (madres, tías, hermanas, abuelas); un 52% de ellas tenía cocientes intelectuales normales. Este dato coincide con lo descrito en la literatura ya que se reconoce que sólo un 59% de las mujeres con la mutación completa tiene algún grado de déficit intelectual.⁴³

Los portadores premutados (varones y mujeres) sólo pudieron ser detectados por análisis molecular, no presentaron signos clínicos y los estudios citogenéticos fueron normales.

CONCLUSION

El sistema de puntaje utilizado en este estudio no permite la selección clínica de las niñas con retardo mental por síndrome de sitio frágil del X. Sin embargo, los signos clínicos de historia familiar de varones con retardo mental, cara larga, halux ancho, paladar alto y trastornos del lenguaje serían orientadores

para pensar en este síndrome cuando una mujer presenta retardo mental.

En toda niña con retardo mental no asociado a malformaciones o fenotipos específicos se debe solicitar estudio cromosómico con bandeado G, a fin de descartar otras patologías cromosómicas, y estudio molecular de la amplificación CGG para diagnóstico de esta entidad.

Un equipo interdisciplinario permite extender la acción hacia la familia, brindar el adecuado asesoramiento a las personas en riesgo y la contención al núcleo familiar. La organización de talleres para padres ayudó a acceder al conocimiento de la enfermedad, a elaborar las dificultades de aceptación de la discapacidad del hijo y a promover propuestas creadoras para lograr un mejor desarrollo de aprendizajes e interacción social de los niños.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer la excelente asistencia técnica de la Licenciada María Evangelina Wittis y de la Bioquímica Marta Palumbo.

Este trabajo fue financiado en forma parcial por la Fundación Roemmers (Subsidio para investigación médica 1995-1996). ■

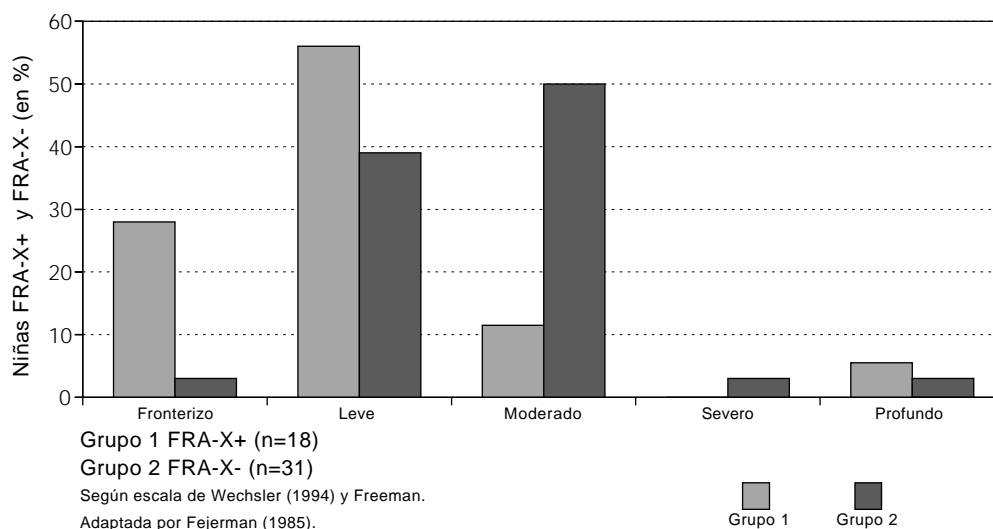


GRÁFICO 2
Comparación de cocientes intelectuales
entre mujeres Fra-X positivas y Fra-X negativas

BIBLIOGRAFIA

1. Martin JP, Bell J. A pedigree of mental defect showing sex linkage. *J Neuro Psychiatry* 1943; 6: 154-157.
2. Sutherland GR. The enigma of the fragile X chromosome. *Trends Genet* 1985; 1: 108-112.
3. Webb TP, Bundy SE, Thake AL et al. Population incidence and segregation ratios in the Martin-Bell syndrome. *Am J Med Genet* 1986; 123: 573-580.
4. Herbat D, Miller J. Nonspecific X linked mental retardation. The frequency in British Columbia. *Am J Med Genet* 1980; 7: 461-469.
5. Turner G, Webb T, Robinson H. Prevalence of Fragile-X Syndrome. *Am J Med Genet* 1996; 64: 196-197.
6. Escalante JA, Grunspung H, Frota Pessoa O. Severe sex-linked mental retardation. *J Genet Hum* 1971; 19:137-140.
7. Lubs HA. A marker X-chromosome. *Am J Hum Genet* 1969; 21: 231-244
8. Sutherland GR. Heritable sites on human chromosomes. Factors affecting expressions in lymphocyte culture. *Am J Hum Genet* 1979; 31: 125-135.
9. Sutherland GR. Fragile sites on human chromosomes. Demonstration of their dependence on the type of tissue culture medium. *Science* 1977; 197: 265-266.
10. Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a fragile breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 1991; 65: 905-914.
11. Kremer EJ, Pritchard M, Lynch M et al. Mapping of DNA instability at the fragile X to a trinucleotide repeat sequence p(CGG)_n. *Science* 1991; 252: 1711.
12. Heitz D, Rousseau F, Davys D et al. Isolation of sequences that span the fragile-X and identification of a fragile X related CpG island. *Science* 1991; 252: 1097.
13. Fu Y-H, Kuhl DPA, Pizzutti A, Pieretti M et al. Fragile X site: A polymorphic and highly mutable CGG repeat in the FMR-1 gene. *Cell* 1991; 67: 1047-1058.
14. Orbelé I, Rousseau F, Heitz D et al. Instability of 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome. *Science* 1991; 252: 1097-1102.
15. Bell MV, Hirst MC, Nakahori Y et al. Physical mapping across the fragile X: Hipermetilación and clinical expression of the fragile X syndrome. *Cell* 1991; 64: 861-866.
16. Weiler IS, Scott AI, Klintsova AY et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 5395-5400 .
17. Torrado M del V, Chertkoff L, Herrera J et al. Valor diagnóstico de un sistema de puntaje clínico pediátrico para la detección del síndrome de sitio frágil del X y su validación con pruebas de laboratorio. *Arch Arg Pediatr* 1996; 94: 145-154.
18. Fryns JP. The female and the fragile X: A study of 144 obligate female carriers. *Am J Med Genet* 1986; 23: 157-169.
19. Loesch DZ, Hay DA. Clinical features and reproductive patterns in fragile X females heterozygotes. *J Med Genet* 1988; 25: 407-414.
20. Hagerman RJ, Jackson K, Amiri AC et al. Fragile X girl: Physical and neurocognitive status and outcome. *Pediatrics* 1992; 89: 395-400.
21. Lejarraga H, Orfila G. Estándares de peso, estatura y perímetro cefálico para niñas y niños argentinos desde el nacimiento hasta la madurez. *Arch Arg Pediatr* 1975; 85: 209-222.
22. Feingold M, Bossert WH. Normal values for selected physical parameters: an aid to syndrome delimitation. *The National Foundation March of Dimes* 1974, BD: OASX, 13: 1-17.
23. Hall J, Froster-Iskenius U, Allanson U. *Handbook of normal physical measurements*. Londres: Oxford University Press, 1989: 116-117.
24. Hagerman RJ, Van Housen K, Smith ACM et al. Consideration of connective tissue dysfunction in the fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 1984; 17: 111-122.
25. Fejerman N, Arroyo H, Massaro M et al. *Autismo infantil y otros trastornos del desarrollo*. Buenos Aires: Paidós, 1994: 237-249.
26. Dudhalter V, Marañón M, Brooks P. Expressive semantic deficit in the productive language of males with fragile-X syndrome. *Am J Med Genet* 1992; 43: 65-71.
27. Seabright M. The use of proteolytic enzymes for the mapping of structural rearrangements in the chromosomes of man. *Chromosome* 1972; 36: 204-210.
28. Dewald GM, Buckley DD, Spurbeck JL et al. *Cytogenetics guidelines for fragile X studies*.
29. Southern E. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 1975; 98: 503.
30. Rousseau F, Heitz D, Biancalana V et al. Direct diagnosis by DNA analysis of the fragile X syndrome of mental retardation. *N Engl J Med* 1991; 325: 1673.
31. Dean A, Dean J, Burton A et al. *Epilinfo version 5. A program or epidemiology for micro computers*. Centers of Disease Control. Atlanta, USA, 1990.
32. *Statistical Packet for Social Sciences*. Versión 5.0.
33. *Bayley scales of infant development*. The psychological corporation. San Antonio: Harcourt Brace & Co, 1993.
34. *Test Clams*. Clinical linguistic and auditory milestone scale: prediction of cognition in infancy. *Developmental Medicine and child Neurology*, 1986.
35. Paín S. *Diagnóstico y tratamiento de los problemas de aprendizaje*. Buenos Aires: Paidós, 1982.
36. Koppitz E. *El dibujo de la figura humana en los niños*. Buenos Aires: Guadalupe, 1974.
37. Rodolfo M. *El niño del dibujo*. Buenos Aires: Paidós, 1993.
38. Piaget I. *La representación del espacio en la infancia*. París: P.U.F., 1974.
39. Terman L, Merrill M. *Medida de la inteligencia*. Madrid: Espasa Calpe, 1975.
40. Wechsler, D. *Test de inteligencia para niños*. Buenos Aires: Paidós, 1994.
41. Fejerman N, Fernández Alvarez E. *Neurología Pediátrica*. 2ª ed. Buenos Aires: Panamericana, 1997: 205-208.
42. Wechsler D. *Clasificación del nivel intelectual*. *Test de Inteligencia para niños WISC III*, 1ª ed., 1994.
43. Rousseau F, Heitz D, Tarleton J. et al. A multicenter study en genotype-phenotype correlation in Fragile X S. using direct diagnosis with probe StB12.3. *Am J Hum Genet* 1994; 55: 225-237.