



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

TÍTULO

**ESTUDIO DE LA MUTACIÓN (G-1691-A) DEL FACTOR V LEIDEN Y DE
LA RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C ACTIVADA, EN UN GRUPO DE
PACIENTES CON PARÁLISIS CEREBRAL INFANTIL TIPO
HEMIPARESIA ESPÁSTICA Y SUS MADRES, DEL INSTITUTO
NACIONAL DE REHABILITACIÓN**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS
(CIENCIAS MÉDICAS)**

PRESENTA

MARÍA DE LA LUZ ARENAS SORDO

Tutor: Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda

Ciudad Universitaria México DF, agosto 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

A mi tutor, el Dr. L Camilo Ríos Castañeda, por sus enseñanzas.

A la Dra. Victoria Campos, por abrirme sin condiciones su laboratorio para la realización del trabajo experimental

Al CONACYT por haberme otorgado una beca para mis estudios

A todos los compañeros del equipo de enfermedades hematológicas.

A los revisores de la tesis los doctores: Pedro Antonio Reyes López, Rafael J. Salín Pascual, Carlos Gerardo Cantú Brito y José Efrén Israel Grijalva Otero.

Al Instituto Nacional de Rehabilitación que me permitió realizar este trabajo y en especial a los pacientes del mismo, de la División de Rehabilitación Pediátrica.

INDICE

Índice.....	3
Prólogo.....	4
Índice de figuras.....	5
Índice de gráficas.....	5
Índice de cuadros.....	6
Resumen.....	7
Summary.....	8
Introducción.....	9
Pregunta de investigación.....	17
Hipótesis.....	17
Objetivo general.....	17
Objetivos específicos.....	17
Objetivos secundarios.....	17
Justificación.....	18
Material y método.....	19
Consideraciones éticas.....	24
Resultados.....	24
Discusión.....	35
Conclusiones.....	39
Bibliografía.....	40
Anexos.....	47
Artículo.....	67

Prólogo:

Aunque insignificante, esta obra, representa el trabajo y esfuerzo de muchas personas.

Todas aquellas que de una u otra manera estuvieron involucradas, en diferentes áreas de este proceso, pero siempre de la misma manera, comprometida y amable, dando aquello en lo que son expertos.

Asimismo, acompañando a cada una de ellas, hay otro grupo grande de gente que es parte fundamental e indispensable de su vida, que respalda cada una de sus acciones en el trabajo y la vida misma, cualquiera que sean sus pasos.

Por lo aquí mencionado, esta pequeña obra, es sin lugar a dudas, en primer término, un agradecimiento a todas ellas. Gracias por sumarse y ser parte del esfuerzo.

También se trata de una pequeña contribución al estudio de las trombofilias, relacionadas en esta ocasión con enfermedad neurológica de los niños, la parálisis cerebral infantil, que sigue siendo un problema de salud pública, en México y en otras partes del mundo.

Queda establecido de manera bastante fehaciente, que la mutación Leiden del Factor V, no es prevalente en nuestra población general y tampoco lo es, por tanto en nuestros pacientes, no solo de la parálisis cerebral, sino de trombosis a otros niveles o en otras edades.

Debemos guiar, por tanto, nuestros estudios, hacia otras áreas, a otros genes relacionados con trombofilia o con otras situaciones de estrés y daño celular y tisular, a las que el tejido nervioso es especialmente lábil.

María de la Luz Arenas Sordo

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1 Factor V de la coagulación
- Figura 2 Cromosoma 1, en el que se muestra el locus (1q23) del factor V de la coagulación

ÍNDICE DE GRÁFICAS

- Gráfica 1 Puntuación APGAR 1-3 min en casos y controles
- Gráfica 2 Puntuación APGAR 5 min en casos y controles
- Gráfica 3 Antecedente de ictericia en casos y controles
- Gráfica 4 Semanas de gestación en casos y controles.
- Gráfica 5 Tipo de parto en casos y controles
- Gráfica 6 Antecedente de hipoxia
- Gráfica 7 Presencia de crisis convulsivas en casos y controles
- Gráfica 8 Antecedente de pre-eclampsia o eclampsia
- Gráfica 9 Antecedente de tabaquismo
- Gráfica 10 Antecedente de infecciones
- Gráfica 11 Muestra la presencia de 1 solo tipo de homocigotos (alelo normal)

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1 Prevalencia de la mutación Leiden en diversos estudios en población Mexicana
- Cuadro 2 Edades de las madres de los pacientes y sus controles
- Cuadro 3 Edades de los casos y los controles
- Cuadro 4 Razones de momios crudas
- Cuadro 5 Razones de momios ajustadas
- Cuadro 6 Modelo saturado
- Cuadro 7 Estudios de imagen anormales 32/33

RESUMEN

Introducción. La parálisis cerebral (PC) es un trastorno motor persistente que aparece antes de los 3 años debido a una interferencia no progresiva en el desarrollo del cerebro que tiene lugar antes de que el crecimiento del SNC se complete.

Las causas de la misma han sido muy estudiadas y una de las que se ha propuesto para la PC hemiparesia espástica, es la mutación Leiden del factor V de la coagulación.

Material y método. Para saber si en nuestra población esta podría ser causa del problema, realizamos un estudio de casos y controles, con 94 pacientes con PC hemiparesia espástica y 120 controles, así como sus madres con sus controles.

Resultados. Ninguno de los pacientes, sus madres o controles de ambos presentaron la mutación Leiden, sin embargo otros factores de riesgo si resultaron significativos: hipoxia OR 7.189 (2.546, 20.302) $p=0.0001$, tabaquismo OR 16.621 (2.945, 93.818) $p=0.001$, infecciones maternas (urinarias y vaginales) OR 7.040 (2.952, 16.789) $p=0.0001$, semanas de gestación OR 0.866 (0.7750, 0.999) $p=0.048$ y edad materna OR 1.114 (1.031, 1.204) $p=0.006$.

Conclusiones: La mutación Leiden del factor V, no es un factor de importancia en nuestra población mestiza-mexicana, pero siguen siendo importantes otros factores de riesgo perinatales.

Palabras clave: Parálisis cerebral, Factor V Leiden, Factores de riesgo perinatales

SUMMARY

Introduction. Cerebral palsy (CP) is a persistent motor disorder which appears before the patient is 3yrs. old due to a non progressive interference in the brain`s development which takes place before the CNS growths is complete.

Causes of this have been studied and one which has been proposed for spastic hemiparesis CP is the Leiden mutation of V factor coagulation.

Materials and method. To know whether this could be the cause of the problem in our population, we carried out a study of cases and controls with 94 patients with spastic hemiparesis CP and 120 controls as well as their mothers with their controls.

Results. None of the patients, their mothers or controls, had the Leiden mutation, however, other risk factors were significant. Hypoxia OR 7.189 (2.546, 20.302) $p=0.0001$, smoking OR 16.621 (2.945, 93.818) $p=0.001$, maternal infections (urinary or vaginal) OR 7.040 (2.952, 16.789) $p=0.0001$, weeks of gestation OR 0.866(0.7750, 0.999) $p=0.048$ and maternal age OR 1.114 (1.031, 1.204) $p=0.006$.

Conclusions: Leiden Mutation of factor V, is not an important factor for our Mexican mestizo population, however, there are other important perinatal risk factors.

Key words: Cerebral palsy, Factor V Leiden, Risk perinatal factors.

INTRODUCCIÓN

La parálisis cerebral (PC) se conocía ya en el antiguo Egipto. Sin embargo, la historia moderna de esta entidad comienza en 1861, cuando Little relacionó la espasticidad que la caracteriza con la anoxia y el traumatismo del parto. En 1888, Burgess utilizó por primera vez el término de PC como tal. En 1897, Freud resaltó los aspectos de anomalías del desarrollo intrauterino asociados a la PC (1, 2).

La PC es la causa más frecuente de discapacidad motora en la edad pediátrica y el principal motivo de discapacidad física grave. Es un trastorno que aparece en la primera infancia y persiste toda la vida (3).

La PC no es una enfermedad específica, aunque bajo este término se agrupa un conjunto de enfermedades. Tampoco es una secuela de una enfermedad porque, aunque el daño a la función motora es su característica fundamental, a menudo se presentan otras condiciones asociadas y sus manifestaciones clínicas varían con el curso de los años (4).

El concepto de parálisis cerebral ha sido creado para englobar secuelas neurológicas de muy distinta naturaleza que afectan a la esfera motora. En 1958 surgió la primera definición consensuada, que fue publicada por Mac-Keith y Polani “la PC es un trastorno motor persistente que aparece antes de los 3 años debido a una interferencia no progresiva en el desarrollo del cerebro que tiene lugar antes de que el crecimiento del SNC se complete” (5). Desde entonces se han propuesto nuevas definiciones que matizan la original y diversas formas de clasificación atendiendo a criterios etiológicos, funcionales o clínico-topográficos, en función de la alteración motora predominante y su distribución (6). La más extendida fue publicada por Mutch et al en 1992, y define como un término sombrilla que engloba a un grupo de síndromes motores no progresivos, pero que cambian con la evolución y son secundarios a lesiones o anomalías del cerebro que suceden en las primeras etapas del desarrollo (7). A éste enunciado se le añadieron dos especificaciones en la reunión sobre la definición y clasificación de

la PC que tuvo lugar en Bethesda en el 2004: limitación funcional y presencia frecuente de complicaciones no motoras, de tal forma que la última propuesta definitoria es aún más extensa y describe la PC como “Un grupo de trastornos del desarrollo del movimiento y de la postura que causan limitación en la actividad y son atribuidas a alteraciones no progresivas que ocurren en el cerebro en desarrollo del feto o del niño pequeño; el trastorno motor se acompaña con frecuencia de alteraciones de la sensibilidad, cognición, comunicación, percepción, comportamiento y/o crisis epilépticas” (8).

El desarrollo de las clasificaciones de PC ha sido problemático y se han descrito en la bibliografía numerosos sistemas de clasificación. Cada sistema de clasificación ha estado dirigido a uno o varios propósitos, entre los que se destacan la descripción clínica de los trastornos motores, la búsqueda de asociaciones entre tipos clínicos y etiología, la realización de estudios epidemiológicos y la intervención terapéutica. La mayoría de las clasificaciones se ha basado en el daño a la estructura corporal y sus funciones (9).

Todas las clasificaciones presentan categorías fisiopatológicas donde se incluyen la espasticidad, la discinesia y la ataxia, aunque la terminología varía. La mayoría de las clasificaciones también reconoce las formas mixtas. Las clasificaciones difieren principalmente en el número de subtipos reconocidos entre los pacientes con movimientos involuntarios extrapiramidales o discinéticos y en la terminología empleada para describir la distribución topográfica en los pacientes con espasticidad (4).

En cuanto a la nomenclatura de la distribución topográfica del daño en los pacientes con espasticidad, la más controvertida ha sido la categoría diplejía. En general, se ha utilizado el término cuadriplejía o tetraplejía para designar aquellos casos en los que existe afectación sustancial de los 4 miembros, con mayor gravedad en las extremidades inferiores; diplejía para designar aquellos pacientes con mayor compromiso de las extremidades inferiores y sólo ligera afectación de las superiores; hemiplejía cuando el compromiso es de un solo lado del cuerpo y

doble hemiplejía para los casos con afectación de los 4 miembros, pero con asimetría muy marcada de los dos lados del cuerpo (9).

Debemos aclarar, aunque resulte bien conocido, que la terminación “-paresia”, empleada para denominar los defectos motores en los que no existe una imposibilidad total para la realización de la actividad por alguna de las extremidades, sino que ésta se lleva a cabo con algún grado de limitación, pero con movimiento, a menudo se utiliza indistintamente por diferentes autores como equivalente a la de “-plejía”. Así, por ejemplo, con frecuencia se utilizan por igual los términos diplejía y diparesia, etc (4).

La propuesta de clasificación de PC más reciente tuvo como propósito describir las características de cada paciente individual en cuanto a la naturaleza del problema y su gravedad, proveer información acerca de las necesidades de servicios de salud de éstos pacientes y servir como base para la comparación de estudios en diferentes poblaciones y para la evaluación de un mismo paciente a través del tiempo. Esta clasificación cuenta con 4 ejes principales. En el primer eje se agrupan los trastornos del tono y los del movimiento y se describen, además, las habilidades motoras funcionales; en un segundo eje aparecen los daños asociados; en tercer lugar, la distribución anatómica del daño motor (en el que se incluyen afectaciones motoras y del habla) y los hallazgos neuroimagenológicos; el último eje de clasificación se orienta hacia la etiología, a través de la descripción de la causa, si pudiera identificarse claramente y el momento de daño cerebral, si se conociera. (8)

Las causas que pueden originar una PC suelen agruparse según el momento de su incidencia, de tal manera que se clasifican en: periodo prenatal (PC congénita, 85%), perinatal o posnatal (PC adquirida, 15%) (1, 4, 10, 11, 12, 13).

Los factores comprendidos dentro del periodo prenatal son; infecciones materna o intrauterinas, malformaciones cerebrales congénitas, diabetes, preeclampsia, drogadicción y tabaquismo de la madre, intoxicaciones y fármacos (metilmercurio, hidantoína), enfermedades genéticas, problemas en la placenta (malformaciones,

infecciones, desprendimiento, infartos), fertilización *in-vitro* y trombofilias (1, 10, 11, 13, 14, 15, 16). Estos factores de riesgo se están considerando más importantes de lo que antes se creía.

Los factores agrupados en el período perinatal son; hipoxia, prematurez, bajo peso al nacer, encefalopatía hipóxico-isquémica, infartos cerebrales perinatales, puntuación Apgar baja, hemorragia cerebral, sufrimiento fetal y partos prolongados (10, 11, 13, 14).

Los factores comprendidos dentro del periodo postnatal son; traumatismo craneoencefálico, infecciones del sistema nervioso central (meningitis, encefalitis), intoxicaciones (con plomo, arsénico), fiebres altas con convulsiones, accidentes por descargas eléctricas, falta de oxígeno y eventos tromboembólicos (13).

La hemostasia es un mecanismo de protección que evita la pérdida de sangre. Consta de tres etapas: vasoespasmo, formación del tapón plaquetario y coagulación propiamente dicha. Esta última es la que lleva a la conversión del fibrinógeno soluble en un polímero rígido e insoluble de fibrina. (17, 18).

La coagulación sanguínea es modulada por tres sistemas inhibitorios mayores:

- Antitrombina. Es el inhibidor más importante, principalmente a nivel del factor X y de la trombina. La heparina incrementa su actividad en la microvasculatura y en la superficie de las células endoteliales.
- Proteínas C y S. La proteína C es dependiente de la vitamina K que inactiva a los factores Va y VIIa y estimula la fibrinólisis. La proteína S actúa como cofactor de la proteína C.
- Factor tisular inhibidor de la vía. Inactiva al factor Xa y forma un complejo con éste que inhibe al factor VIIa.

El factor V de la coagulación (Fig. 1), fue descubierto en 1943 por Paul Owren y

circula en el plasma en una concentración de 20 nmol. Su peso molecular es de 330 000. El hígado es su principal fuente de producción. Es una molécula formada por tres dominios A, un dominio B y dos dominios C. El dominio B se pierde cuando el factor V es activado, por lo mismo se deduce que no tiene acción procoagulante. El factor Va incrementa la reacción de la protrombinasa para convertir protrombina a trombina hasta 300 000 veces. (19)

El factor V con la mutación Leiden, por la ciudad holandesa en la que se describió por primera vez (20) se caracteriza por presentar una mutación puntual, la sustitución de adenina por guanina en el nucleótido 1691 (G1691A) del cromosoma 1 (Fig.2), que sintetiza una proteína aberrante, arginina por glutámico en la posición 506 (Arg506Glu), condicionando un estado de resistencia a la acción anticoagulante de la proteína C activada (21).

El factor V mutado se hace resistente a la proteína C activada (PCA) y en consecuencia, se produce más trombina y un estado de hipercoagulabilidad, primeramente descrito por Dahlbäck y cols. (21) y posteriormente afirmado con la especificidad del factor V por Bertina y cols. (22). Ontológicamente, algunos autores han considerado el Factor V Leiden como una mejora adaptativa de la especie humana debido al efecto protector sobre la hemorragia cerebral en la edad neonatal. Sin embargo, el estado de heterocigosis para el Factor V Leiden incrementa el riesgo de trombosis venosa en siete veces y en 80 veces si se trata de estado homocigótico para dicho factor (22, 23).

Halliday y cols. concluyen que puede existir una relación entre el estado de portador de las mutaciones que predispongan al infante a trombofilia y eventos vasculares cerebrales. Así, también, es necesario buscar la mutación en las madres, particularmente debido a la alta frecuencia de pre-eclampsia en las madres de los niños con PC, presuponiendo que ellas podrían presentar la mutación, pudiendo ser esta la causa de la enfermedad vascular en los niños (24).

Reid y cols. realizaron un estudio de casos y controles para buscar asociación entre la mutación del factor V de Leiden y la PC, comparando pacientes con PC por evidencia por imagen, de evento trombótico, con pacientes con PC sin evidencia de evento trombótico, fueron estudiadas asimismo sus madres y encontraron que no había diferencia entre los dos grupos, sin embargo en ambos la prevalencia de la mutación fue mayor que en la población general. Esta mutación (1691 G---A), tiene una prevalencia aproximada de 4 % y se hereda de forma mendeliana, autosómica dominante y modifica la función de la proteína C activada (PCA) en la degradación del factor V (25). Sin embargo otras prevalencias han sido informadas en diferentes poblaciones, como por ejemplo en poblaciones europeas (5-9%), menores en asiáticos y mayores en la región del este del mediterráneo (26).

Rajewski M y cols. en el 2006 encontraron asociación entre la mutación del factor V y la pérdida de productos de la concepción (27). Sin embargo, Zahed LF y cols, no encontraron diferencia significativa comparando a las mujeres con la mutación y finales adversos del embarazo, con mujeres que tuvieron un curso y final normal de sus embarazos (26). Gawish buscó la asociación entre la mutación Leiden y la mutación G20210A de la protrombina y recién nacidos con eventos vasculares cerebrales y concluyó que ambas pueden ser factores de riesgo importantes para evento vascular cerebral en neonatos en Arabia Saudita (28). Harteman y cols. estudiaron niños pretérmino que presentaron infarto hemorrágico periventricular y refieren que se deben hacer estudios para descartar trombofilia, especialmente Factor Leiden y protrombina (29). Dávalos y cols, describieron que en pacientes mexicanas la preeclampsia o eclampsia no se relacionan con la mutación Leiden (30).

Se concluye que la mutación del factor V de Leiden podría ser una causa de enfermedad cerebrovascular intrauterina y de PCI hemiparesia.

Existen varios estudios nacionales en los que se ha buscado relación entre la mutación Leiden y la trombofilia. Cuadro 1.

Cuadro 1. Prevalencia de la mutación Leiden en diversos estudios en población mexicana.

Padecimiento	Etnia	Número de pacientes	Prevalencia %	Autores	Año	Referencia bibliográfica
Trombofilia primaria	Mestizo mexicano	46	11	Ruiz-Argüelles y cols	1999	30
Trombosis cerebro vascular	Mestizo mexicano	45	4.4	Cantú-Brito y cols.	2004	31
Sano	Mestizo mexicano	62	3.2	Dávalos IP y cols.	2005	32
Sano	Mestizo mexicano	33	6.06	Dávalos IP y cols.	2005	32
Trombofilia primaria	Mestizo mexicano	100	13	Ruiz-Argüelles y cols	2007	33
Sano	Mestizo mexicano	100	0.70	Ruiz-Argüelles y cols	2007	33
Sanos	Indígenas	600	0	Majluf-Cruz y cols.	2008	34
Sanos	Mestizos mexicanos	3745	0.85	Majluf-Cruz y cols.	2008	34
Trombofilia primaria	Mestizo mexicano	200	0	Zavala-Hernández y cols.	2010	35
Trombofilia primaria	Mestizo mexicano	100	0	Zavala-Hernández y cols.	2010	35
Sano	Mestizo mexicano	145	2.1	Cesarman-Maus y cols.	2011	36
Trombosis cerebro vascular	Mestizo mexicano	40	2.5	Cesarman-Maus y cols.	2011	36

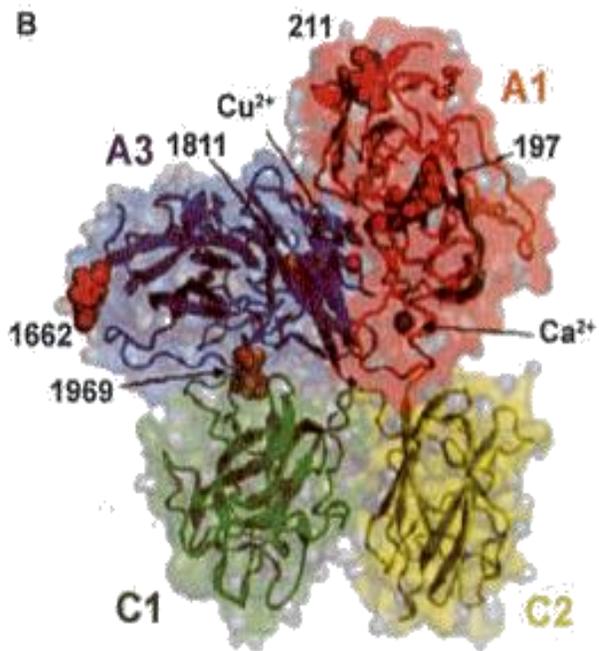


Figura 1. Factor V de la coagulación.

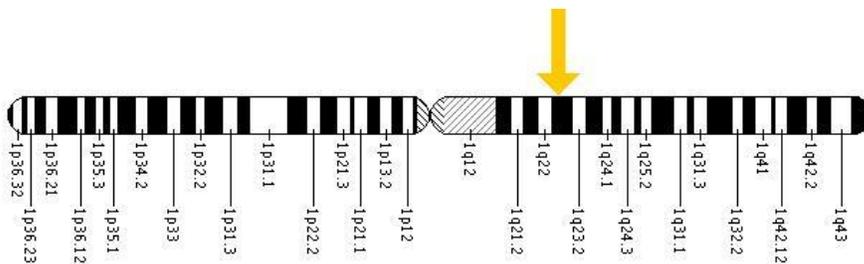


Figura 2. Cromosoma 1, en el que se muestra el locus (1q23) del factor V de la coagulación.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Es la mutación (1691 G→A) del factor V de Leiden y su repercusión, la resistencia a la proteína C activada un factor causal de la PC hemiparesia espástica?

HIPÓTESIS

La mutación del factor V de Leiden y su repercusión, la resistencia a la proteína C activada, es un factor causal de la PC hemiparesia espástica.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe relación causal entre la mutación (1691 G→A) del factor V de Leiden y la resistencia a la proteína C activada con la PC hemiparesia espástica en un grupo de pacientes pediátricos y sus madres del INR.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el cociente de la RPCa
- Determinar la asociación entre la mutación del factor V de Leiden y la PC hemiparesia espástica
- Determinar la asociación entre la resistencia a la proteína C activada y la PC hemiparesia espástica.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Determinar la asociación de factores de riesgo: Apgar al minuto y a los 5 minutos, presencia de ictericia, semanas de gestación, tipo de parto, antecedente de hipoxia, presencia de crisis convulsivas, antecedente de preeclampsia/eclampsia, tabaquismo y antecedente de infecciones, a la PC independientemente de la presencia o no de la mutación Leiden del factor V.
- Análisis de los estudios de imagen cerebral de los pacientes que cuenten con ellos

JUSTIFICACION

La parálisis cerebral (PC) es la patología más frecuente de la infancia a nivel mundial y una de las más discapacitantes, así como una de las afecciones más comunes de la neurología infantil y la causa más frecuente de trastorno motor en la infancia (37). La incidencia, en los países industrializados, varía de 1.5 a 5.9 casos por cada 1000 nacidos vivos (6). En países como España esta incidencia no ha disminuido debido al aumento de 5 a 7 % de la población de recién nacidos de pretérmino, los embarazos múltiples, la optimización de los cuidados intensivos neonatales y la mayor calidad de las unidades de cuidados perinatales, por lo anterior la parálisis cerebral se mantiene en cifras de 6.4 a 12 por cada 1000 recién nacidos vivos (38).

En México no hay cifras exactas sobre esta patología, se sabe que cada año nacen alrededor de 2,000,000 niños de los cuales 40% tiene factores de riesgo, de los que sobreviven 60 % tendrán una secuela por daño neurológico como la parálisis cerebral o RDPM, crisis convulsivas, deficiencia mental, TDA o hiperquinesia (39). Otros datos refieren que la tasa nacional es de 5.9 pacientes por cada 1000 nacidos vivos. En el programa de prevención de discapacidad (PreveR-Dis) refieren que cada año se suman 12,000 nuevos casos (39). En el Instituto Nacional de Rehabilitación la PCI ha ocupado el primer lugar en la demanda de atención de las patologías discapacitantes infantiles.

Es además de suma importancia conocer si existe algún trastorno de la coagulación que se pueda prevenir en futuros embarazos o que se esté atento a evitar en los pacientes nuevos problemas de trombosis.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Diseño

Se realizó un estudio observacional, de casos y controles, pareando un control por caso. Logrando 94 casos con sus madres (n=188) y 114 niños controles y 130 mujeres controles, de la población pediátrica y las madres de los casos. Ambos grupos de controles fueron hospitalarios del laboratorio clínico, tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión de los mismos.

Los criterios que se siguieron fueron los siguientes:

Criterios de inclusión de los casos (población pediátrica):

- Edad: Pediátrica (0-15 años expresada en años y meses)
- Sexo: Indistinto.
- Diagnóstico de Parálisis cerebral tipo hemiparesia espástica
- Nacionalidad: mexicanos por nacimiento, de padres y abuelos mexicanos

Criterios de exclusión de los casos:

- Presencia de enfermedades autoinmunes: negativos falsos.
- Presencia de enfermedades tumorales

Criterios de inclusión de los controles:

- Edad pediátrica (0-15 años expresada en años y meses, similar a la de los casos).
- Sexo indistinto, que se corresponda al de los casos.
- Nacionalidad: mexicanos por nacimiento, de padres y abuelos mexicanos
- Pacientes a los que se les haya solicitado estudios de laboratorio para tratamientos de enfermedades no relacionadas a la PC.
- Revisados e interrogados por el investigador.

Criterios de exclusión de los controles:

- Presencia de enfermedades autoinmunes
- Presencia de enfermedades relacionadas con la coagulación.
- Presencia de enfermedades infecciosas.

Criterios de inclusión de los casos (madres de los pacientes):

- Madre de uno o más niños con PC hemiparesia espástica
- Cualquier edad.

Criterios de exclusión de los casos (madres de los pacientes):

- Presentar enfermedades autoinmunes.

Criterios de inclusión de los controles (de las madres):

- Mujeres con hijos sin alteraciones neurológicas.
- De cualquier edad.
- Nacionalidad: mexicanas por nacimiento, de padres y abuelos mexicanos

Criterios de exclusión de los controles (de las madres):

- Presencia de enfermedades autoinmunes.
- Presencia de enfermedades hematológicas.
- Padecer DM2

VARIABLES

Dependiente:

Parálisis Cerebral Infantil tipo hemiparesia espástica

Independientes:

Mutación (G-1691-A) del Factor V de Leiden.

Resistencia a la proteína C activada.

Otras variables:

- a) Edad.
- b) Sexo
- c) Apgar 1', 5'
- d) Ictericia neonatal
- e) Tabaquismo.
- f) Alcoholismo
- g) Infecciones durante el embarazo
- h) Antecedente de aborto u óbito
- i) Amenaza de aborto o parto prematuro

DEFINICIONES CONCEPTUALES DE CADA UNA DE LAS VARIABLES

- a) Parálisis Cerebral Infantil: Conjunto de síndromes clínicos heterogéneos caracterizados por mecanismos posturales y actividades motoras anormales.
- b) Factor V de Leiden: Proteína que forma parte del sistema de coagulación, participa en la activación de la protrombina en la vía común de la coagulación. Su mutación ha sido asociada a la presentación de PC hemiparesia secundaria a resistencia a la proteína C activada ocasionando hipercoagulabilidad.
- c) Proteína C activada. Proteína que constituye un modulador importante de la coagulación en la fase sanguínea endotelial y participa en la fibrinólisis y el sistema del complemento. Tiene un peso molecular de 62 000 y sus precursores son dos cadenas peptídicas de longitudes desiguales unidas por un puente disulfuro. Esta proteína actúa en el proceso de anticoagulación uniéndose a la proteína S y otras proteínas para finalmente unirse al factor V. La mutación del factor V de Leiden no permite que éste sea degradado por la proteína C activada y por lo mismo se genera un estado de hipercoagulabilidad.
- d) Edad. Es la cantidad de años y meses que ha vivido una persona
- e) Sexo. Relacionado con las características fenotípicas.

- f) Apgar. Calificación que se otorga al RN y que consta de 5 parámetros, cada uno con valor máximo de 2 puntos: coloración de tegumentos, tono muscular, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, reflejos.
- g) Ictericia neonatal. Presencia de hiperbilirrubinemia indirecta de inicio postnatal temprano (los primeros días de nacido)
- h) Tabaquismo. Se refiere al consumo de cigarrillos por día y por años.
- i) Alcoholismo. Se refiere al consumo diario de por lo menos de 50 ml de bebidas alcohólicas con un grado 30 o mayor de alcohol.
- j) Infecciones maternas durante el embarazo. Enfermedades originadas por microorganismos y sufridas durante el embarazo.
- k) Antecedente de aborto u óbito. Pérdida previa de productos de la concepción, antes de las 20 semanas para considerarlo aborto y después de las mismas para considerarlo óbito

DEFINICIONES OPERATIVAS

- a) Parálisis cerebral infantil. Se diagnostica con una evaluación clínico neurológica (Anexo 1)
- b) Estudio molecular. Se obtiene DNA de sangre periférica y se realiza PCR tiempo real (Anexo 2)
- c) Estudio bioquímico de la proteína C activada (Anexo 3). Los resultados >2 son normales y los <2 anormales.
- d) Edad.- Se indica en años y meses (la diferencia entre la fecha de nacimiento y la fecha de estudio).
- e) Sexo.- Se asignará masculino y femenino.
- f) Ictericia neonatal. Preguntas dirigidas. Si es posible corroborarlo mediante la determinación que se haya hecho si obra en poder de los padres.
- g) Apgar.- Se registrará al minuto y a los 5, y puede ir de 0 a 10 como máximo.
- h) Tabaquismo. Dicotómica como presente o ausente durante el embarazo.
- i) Alcoholismo. Dicotómica, presente o ausente durante el embarazo.
- j) Infecciones maternas durante el embarazo. Preguntas dirigidas.

TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Tomando en cuenta la prevalencia entre población general y los expuestos, en otras poblaciones y con los datos nacionales con que contamos, se calculó de la siguiente manera:

$N = \frac{p_1 p_2}{\alpha \beta}$

$P_1 = .16$

$P_2 = 0.01$

$\text{Alfa} = 0.05$

$\text{Poder} = .80$

$N_1 = 88$

$N_2 = 88$

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Descriptivo: Medidas de tendencia central: moda, media y mediana. Desviación estándar. Rango para algunas medidas.

Para las variables cualitativas se realizó chi - cuadrada de independencia.

Para las variables cuantitativas, dependiendo de su distribución normal o no, se analizaron con t de student o u de mann-withney.

Se obtuvo la razón de momios no-ajustada para las diferentes variables. Para el análisis multivariado se empleó la regresión logística para obtener las razones de momios ajustadas. Los modelos de regresión logística se obtuvieron ingresando las variables con $p < 0.1$ en el análisis bivariado.

Se consideró significativa una $p < 0.05$

El análisis se llevó a cabo con el programa Stata/SE 8.0 y SPSS 17

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Aunque la toma de muestra sanguínea confiere un riesgo mínimo, para incluir a los casos y a los controles, siempre se procedió a entrevistarse con los padres de los pacientes para invitarlos a participar y sólo se incluyeron cuando éstos dieron su consentimiento. Se explicó de forma sencilla y comprensiva la naturaleza del estudio y la necesidad de la toma de muestra sanguínea, sin ejercer ningún tipo de presión para convencerlos de su colaboración. Quienes aceptaron que sus hijos o ellas participaran en el estudio firmaron una carta de consentimiento diseñada previamente (Anexo 4).

Se procedió de igual manera para los controles pediátricos, casos (madres) y controles madres (Anexo 4).

RESULTADOS.

De los 94 casos estudiados, 44% (41) fueron mujeres y 56% (53) fueron varones. De los controles (114) de los casos, fueron 41% (47) mujeres y 59% (67) fueron varones. De las madres de los casos (94) tuvimos 130 controles. Las edades de las madres y sus controles se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Edades de las madres de los pacientes y sus controles.

Edad	n	X ± D.E.	Rangos	Media	p
Madres	94	26.19 ±0.69	14-41	26	0.001
Controles	130	23.08±0.46	14-38	23	

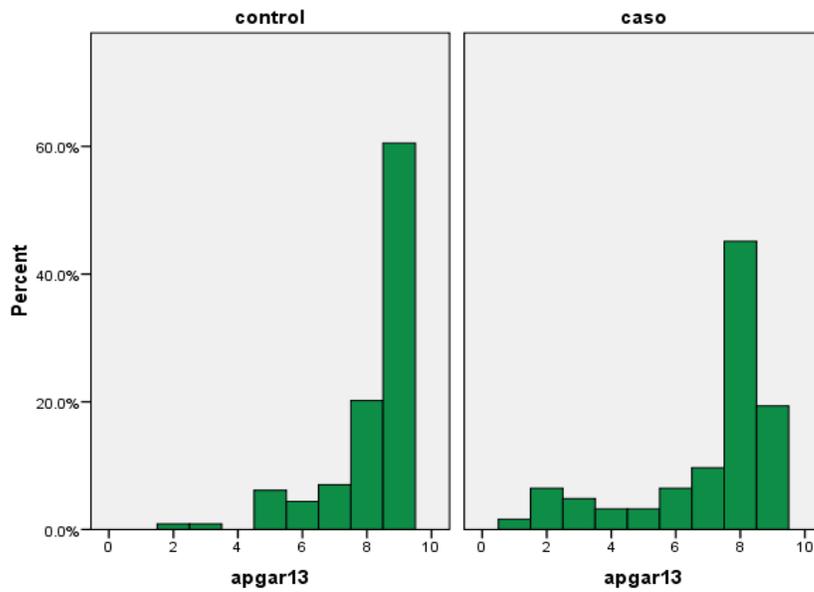
Las edades de los casos se encontraron entre 1 y 14 años, con una media de 6.04 (6) con desviación estándar de 0.31, y en los controles fue entre 1 y 13 años, con una media de 7.93 (8) con desviación estándar de 0.28. Cuadro 3.

Cuadro 3. Edades de los casos y los controles.

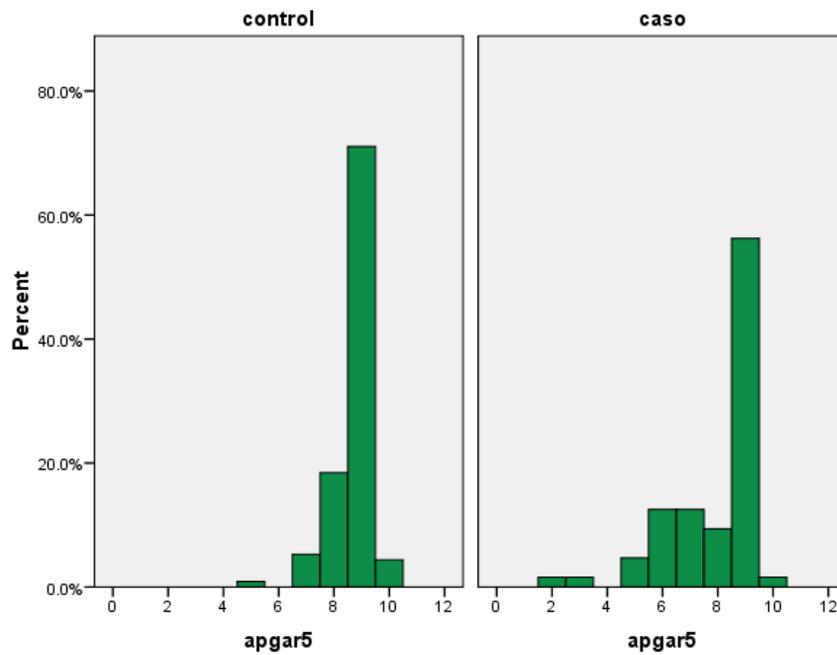
Edad	n	X ± D.E.	Rangos	Media
Casos	94	6.04 ±0.31	1-14	6
Controles	114	7.93 ±0.28	1-13	8

De las otras variables estudiadas, puntuación Apgar al minuto y a los 5 minutos, presencia de ictericia, semanas de gestación, tipo de parto, antecedente de hipoxia, presencia de crisis convulsivas, antecedente de preeclampsia/eclampsia, tabaquismo y antecedente de infecciones, se muestran los resultados en las gráficas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10

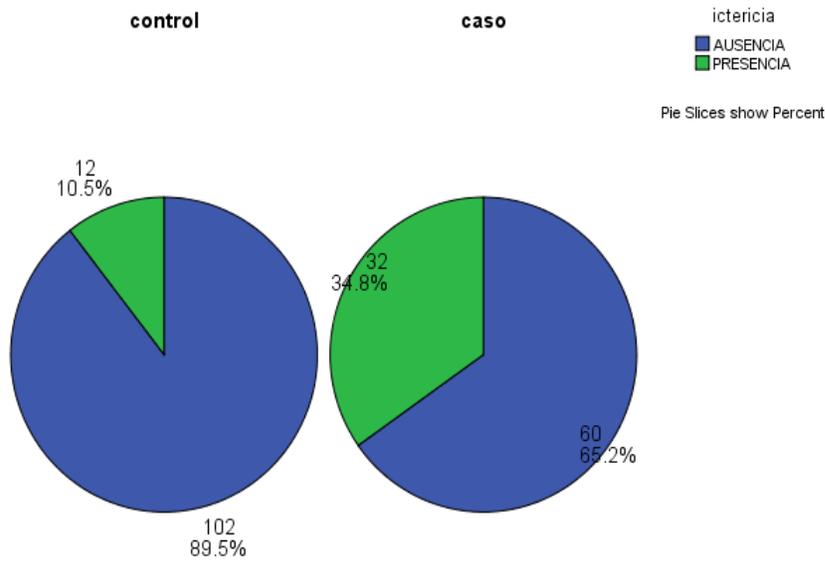
Gráfica 1. Puntuación APGAR 1-3 min en casos y controles.



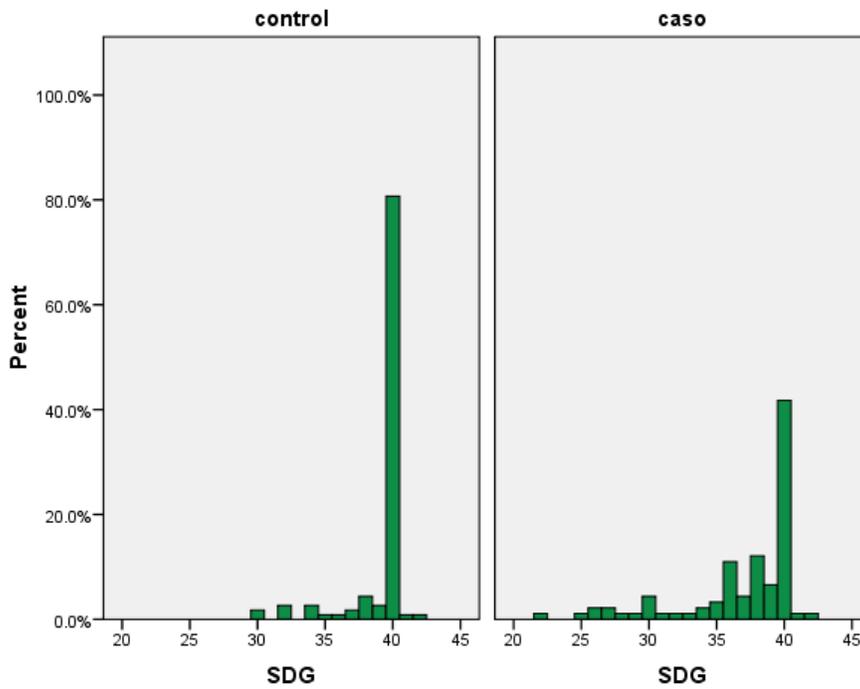
Gráfica 2. Puntuación APGAR 5 min en casos y controles



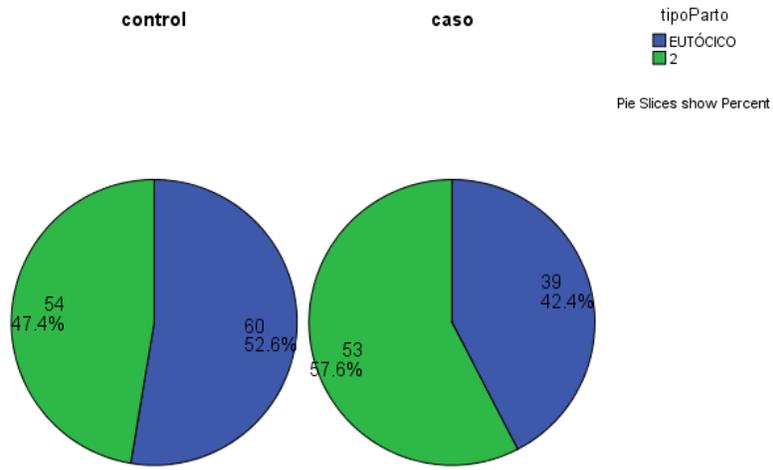
Gráfica 3. Antecedente de ictericia en casos y controles



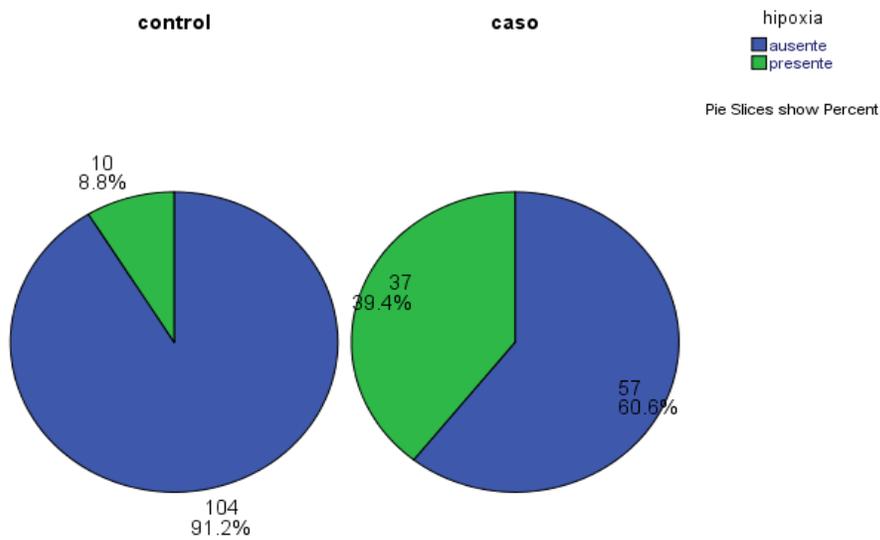
Gráfica 4. Semanas de gestación en casos y controles.



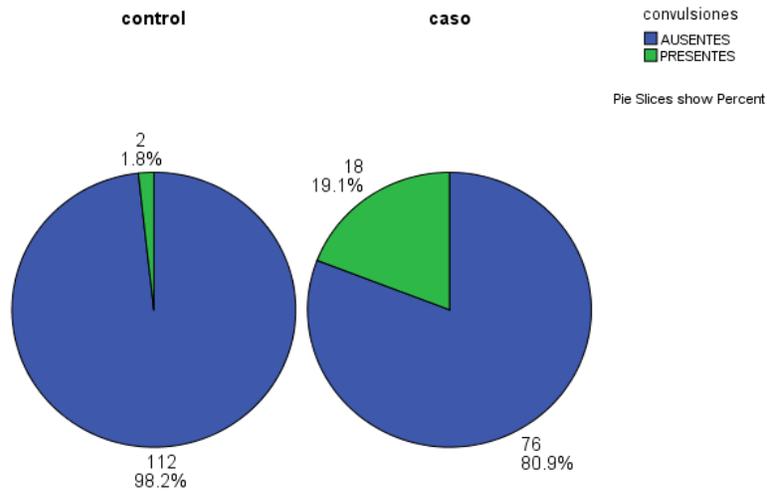
Gráfica 5. Tipo de parto en casos y controles.



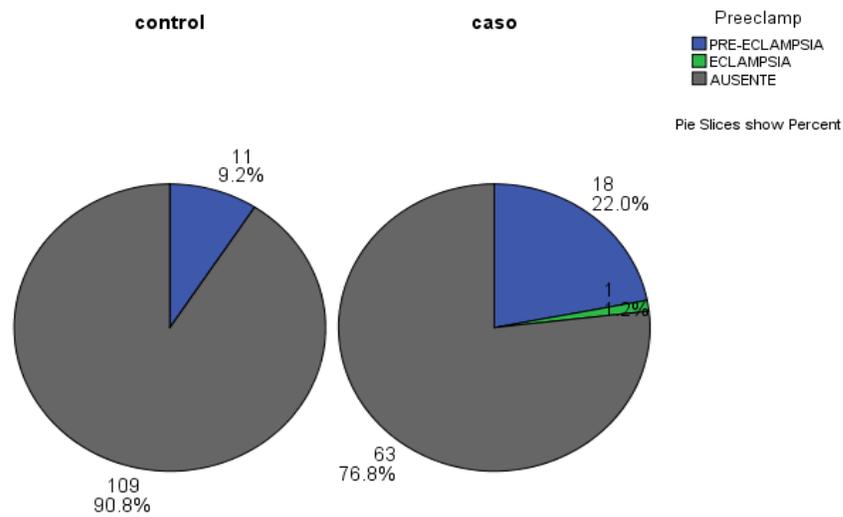
Gráfica 6. Antecedente de hipoxia



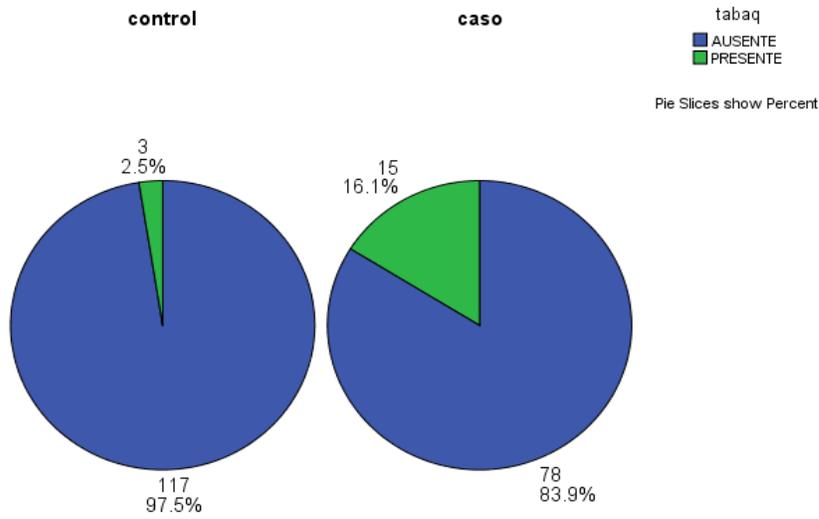
Gráfica 7. Presencia de crisis convulsivas en casos y controles.



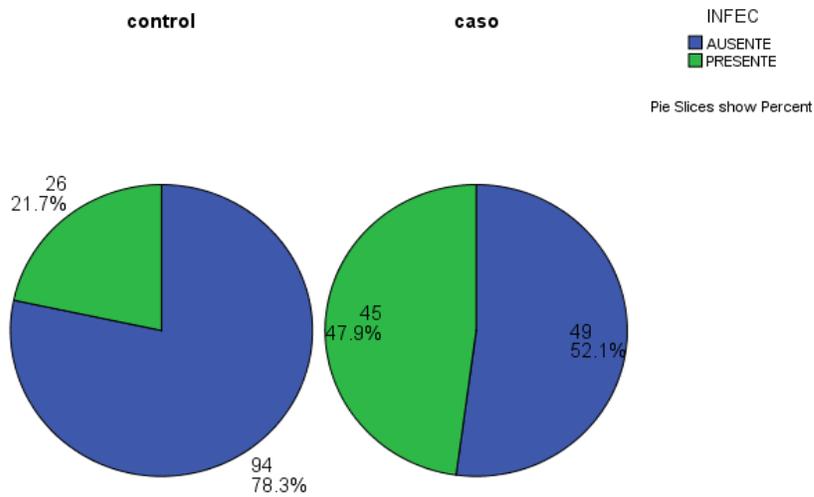
Gráfica 8. Antecedente de pre-eclampsia o eclampsia.



Gráfica 9. Antecedente de tabaquismo.



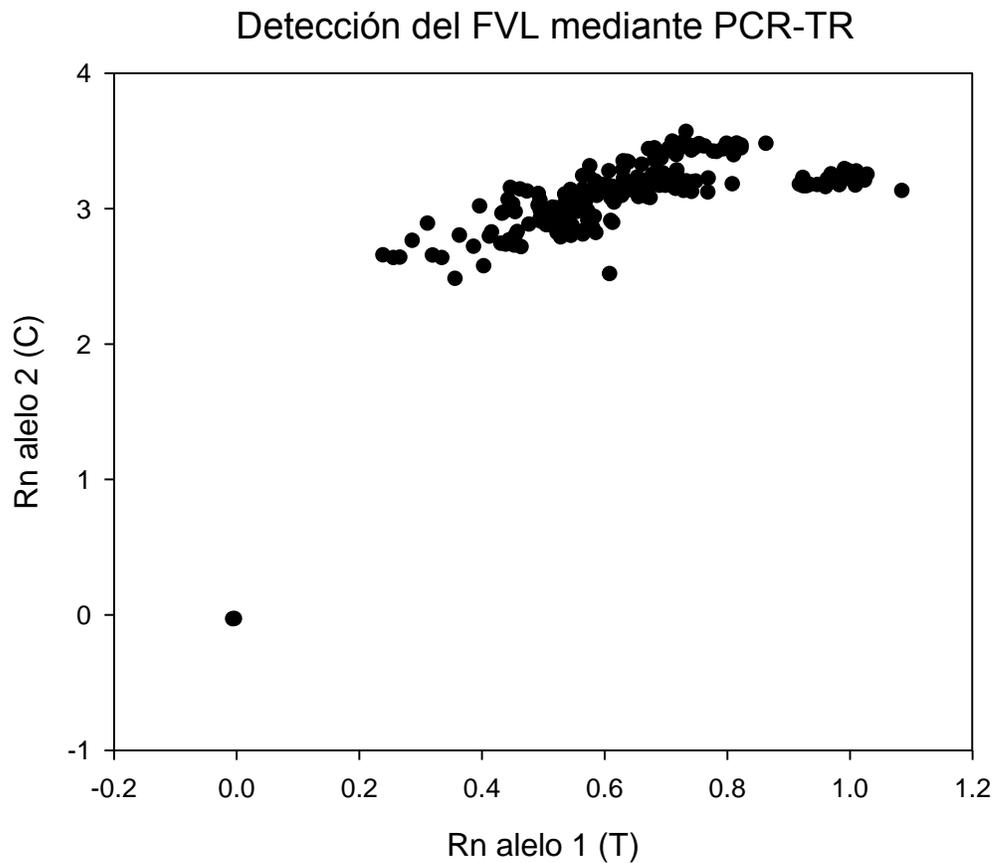
Gráfica 10. Antecedente de infecciones.



Con respecto a la RPCA encontramos que solamente en dos casos, un paciente y una madre, no relacionados entre sí, tuvieron valores menores a 2 (1.91 y 1.88 respectivamente).

La búsqueda de la mutación por PCR tiempo real, mostró que todos fueron homocigotos normales. Ningún caso o control mostró la mutación. Gráfica 11.

Gráfica 11. Muestra la presencia de 1 solo tipo de homocigotos (alelo normal)



De las variables estudiadas, previamente mencionadas, se encontraron varias diferencias entre casos y controles. Primero se muestra la Razón de Momios cruda y posteriormente ajustada, así como el modelo saturado. Cuadros 4, 5 y 6.

Cuadro 4. Razones de momios crudas.

Variablen	RM	P
Ictericia	4.533 (2.17, 9.46)	0.0001
hipoxia	6.751 (3.127, 14.575)	0.0001
convulsiones	13.263 (2.990, 58.828)	0.0001
tabaquismo	7.5 (2.101, 26.767)	0.0001
Infecciones	3.320 (1.834, 6.011)	0.0001
Pre-eclampsia/eclampsia		0.0001
Amenaza aborto/parto prematuro		0.0001
Apgar 3'		0.0001
Apgar 5'		0.0001
Peso al nacimiento		0.714
Semanas de gestación		0.0001
Edad materna		0.001

Cuadro 5. Razones de momios ajustadas.

Variabes	RM	P
Peso al nacimiento	1.0 (0.999, 1.001)	0.818
Apgar minuto 3	1.236 (0.849, 1.797)	0.269
Apgar minuto 5	0.520 (0.317, 0.854)	0.010 *
Ictericia	1.394 (0.339, 5.73)	0.645
Semanas de gestación	0.847 (0.712, 1.008)	0.062
Hipoxia	6.675 (1.762, 25.284)	0.005 *
Convulsiones	0.343 (0.051, 2.32)	0.273
Pre-eclampsia/eclampsia	2.71 (0.736, 9.980)	0.134
Tabaquismo	0.077 (0.011, 0.554)	0.011 *
Infecciones	0.168 (0.083, 0.449)	0.0001 *
Amenaza aborto / parto prematuro		0.105
Edad materna	1.148(1.049, 1.257)	.003 *

Cuadro 6. Modelo saturado.

Variabes	RM	P
Semanas de gestación	0.866 (0.775, 0.999)	0.048
Hipoxia	7.189 (2.546, 20.302)	0.0001
Tabaquismo	16.621 (2.945, 93.818)	.001
Infecciones	7.040 (2.952, 16.789)	0.0001
Edad materna	1.114 (1.031, 1.204)	0.006

De los 94 pacientes, sólo 33 tuvieron estudio de imagen cerebral. Los principales hallazgos fueron zonas de malasia. Sólo en un paciente el estudio fue normal.

Cuadro 7

Cuadro 7. Estudios de imagen anormales 32/33

1. Infarto de corteza y sustancia blanca frontal derecha. Atrofia secundaria del pedúnculo mesencefálico y del puente. Encefalomalasia porencefálica.
2. Malasia en lenticular derecho.
3. Malasia en parte de tálamo y lenticular, caudado cápsula interna y globo plálicos izquierdos. Atrofia de corteza frontal izquierda.
4. Leve atrofia cortical frontal derecha.
5. Asimetría de pedúnculo mesencefálico izquierdo. Adelgazamiento de cuerpo calloso. Por evento periventricular.
6. Quiste aracnoideo. Hipoplasia cortical frontal
7. Quiste de fosa posterior del lado izquierdo con hipoplasia izquierda del cerebelo. Hipoplasia del cuerpo calloso y de fibras izquierdas.
8. Encefalomalasia frontotemporal y parietal izquierda secundario a infarto multiquístico. Hemitallo izquierdo hipotrófico secundariamente.
9. Zona de malasia periventricular derecha. Asimetría cerebelosa, el lado derecho es menor y existe presencia de hipodensidad.
10. Encefalomalasia porencefálica izquierda que involucra al frontal. Cuerpo calloso adelgazado. Hipotrofia de tálamo y pedúnculo mesencefálico izquierdo.
11. Lipoma de cuerpo calloso. Zonas de encefalomalasia periventricular derecha supratálamica posthemorragia de matriz.
12. Zona de malasia parieto-occipital izquierda. Zonas de malasia frontal derecha y parietal derecha.
13. Quiste aracnoideo de la cisura coroidea izquierda. Malasia periventricular derecha. Secundariamente cuerpo calloso disminuido.
14. Malasia periventricular izquierda. Degeneración waleriana que se continúa a la lesión
15. Zona de encefalomalasia porencefálica periventricular izquierda frontal.
16. Ausencia de septum interventricular, corteza displásica, principalmente frontal. Esquisencefalia derecha de labio cerrado y la izquierda de labio abierto. Paquigiria.
17. Encefalomalasia periventricular derecha parietal.
18. Esquisencefalia de labio cerrado frontal derecha. Paquigiria frontoparietal y displasia.
19. Encefalomalasia frontoparietal izquierda multiquística. Cuerpo calloso adelgazado en forma secundaria.
20. Encefalomalasia ventral a los núcleos basales izquierda. Secundariamente disminución de pedúnculo mesencefálico izquierdo y puente ligeramente aplanado del mismo lado.

21. Quiste porencefálico izquierdo que respeta corteza y núcleos de la base. Núcleos izquierdos desplazados. Pedúnculo mesencefálico izquierdo ligeramente aplanado.
22. Esquisencefalia de labio cerrado frontal izquierda. Displasia cerebral.
23. Encefalomalasia probablemente secundaria a hemorragia de matriz germinal que abarca núcleos caudado y putamen en porción caudal y brazo posterior de cápsula interna.
24. Encefalomalasia cortical frontal izquierda, comunicada con espacio subaracnoideo.
25. Encefalomalasia frontoparietal derecha.
26. Paquigiria frontoparietal derecha. Hemisferio cerebral derecho más pequeño.
27. Encefalomalasia porencefálica priventricular frontal derecha.
28. Encefalomalasia cortical parietal izquierda.
29. Encefalomalasia de brazo posterior de la cápsula interna y núcleo caudado. Otra malasia independiente de núcleo caudado. Quiste aracnoideo temporal izquierdo.
30. Encefalomalasia de brazo posterior de la cápsula interna.
31. Encefalomalasia de putamen izquierdo
32. Malasia cortical de la circunvolución frontal interna.

Todos, menos uno, presentaron hallazgos anormales; de los 32 casos, 22 (68%) con características probablemente secundarias a eventos vasculares cerebrales.

DISCUSIÓN.

La parálisis cerebral se considera una patología de etiología multifactorial. Recientemente algunos autores han mencionado que la parálisis cerebral tipo hemiparesia espástica se asocia a la mutación Leiden del factor V (24,25). En este estudio se trató de buscar esta relación.

Encontramos que la resistencia a la proteína C activada (RPCA), que es un fenotipo de la mutación Leiden, tiene una prevalencia muy baja, de 1.1% en nuestros pacientes y sus madres, así como en los controles de ambos grupos, en los que no encontramos caso alguno. No encontramos ningún caso de mutación Leiden del factor V. Estas dos características han sido informadas como bajas en nuestra población mestiza mexicana por Majluf y cols. (0.85%) y 0% en indígenas mexicanos (35) y posteriormente por Zavala-Hernández y cols, quienes en pacientes con trombofilia primaria encontraron solo prevalencia de 2.7% y de 1%

en controles sanos para la RPCA y 0% para las mutaciones Leiden y Cambridge (35); sin embargo Ruiz Argüelles, previamente había reportado en una población de Puebla, que la consideró mestiza mexicana, una prevalencia de 24% para RPCA y de 11% para mutación Leiden, y continuó reportando frecuencia alta en otros estudios (30,32,37). Probablemente su población es diferente a las de los autores mencionados y la nuestra. Otros estudios con prevalencias diversas han sido descritos, pero siempre han sido prevalencias bajas, como en los estudios de Cantú-Brito y cols. (33) y Cesarman-Maus y cols. (36) (Cuadro 1). Tanto el FVL como la RPCA se ha observado que es más común en poblaciones de origen caucásico pero, su prevalencia varía entre los diferentes países de Europa, la mayor prevalencia la encontramos en el norte, 10% a 15%, Suecia y Alemania respectivamente, y una frecuencia más baja en el sur 2%, 3.3% y 3.7% en España, así como en Kosovo y Arabia, tanto de RPCA como de FVL (38, 39 41, 42, 43, 44,45). En el sur de Italia Sottilotta y cols encontraron una prevalencia de 9.5% para el FVL, mayor que la referida previamente, y también mayor que la de las regiones norte, que piensan pueda deberse a la migración ancestral de ciudadanos griegos y de otras zonas del mediterráneo, en las que esta mutación es más alta (46).

En pacientes holandeses prematuros con infarto hemorrágico periventricular, Harteman y cols. encontraron que en aquellos que tuvieron una presentación atípica, el 41% tenía la mutación Leiden del factor V (47).

Nusier MK y cols. en población jordana, encontraron prevalencia de 21.8% (48). Aunque la prevalencia en España no es muy alta y en indígenas mexicanos es muy baja, esperaríamos que la prevalencia en el mestizo mexicano fuera un poco mayor, debido al principal mestizaje en México, sin embargo nuestra ancestría es también asiática y en estas poblaciones también se ha informado que es menor la frecuencia que en las europeas (49).

La RPCA positiva encontrada en un paciente y una madre, no pueden explicarse a la mutación Leiden del factor V, ya que ésta fue negativa en todos los casos y controles, no se sabe con certeza la causa, sin embargo se ha encontrado positiva en personas con diabetes mellitus, infecciones diversas, lupus eritematoso

sistémico, síndrome de antifosfolípidos, hipertensión arterial, uso de anticonceptivos, terapia hormonal de reemplazo y cáncer. También otros polimorfismos del factor V, tiene potencial de producir RPCA positiva, tales como FV Cambridge Arg306Thr, FV Hong Kong Arg306Gly, FV Liverpool Ile359Thr, FV Glu666Asp y el HR2.(33,50)

Con respecto a las otras variables encontramos que hay diferencias significativas en varias de ellas, e incluso cuando se ajustaron. Entre estas están, las infecciones maternas, que fueron urinarias y vaginales (7.040 (2.952, 16.789) $p=0.0001$). Mann y cols, también encontraron esta asociación, en especial cuando estas fueron en los primeros dos trimestres (51). En las madres de nuestros pacientes se presentaron 50% en los dos primeros trimestres y el resto durante todo el embarazo o solo en el último trimestre. Los tratamientos que se les indicaron fueron con ampicilina o penicilina para las infecciones urinarias, y óvulos de metronidazol para las infecciones vaginales. Nelson menciona que existe mucha evidencia clínica que indica que la exposición intrauterina a infecciones o inflamación materna, se asocian a situaciones de hipoxia y por ende a mayor riesgo de parálisis cerebral (52).

Las semanas de gestación también presentaron diferencia, resultando un efecto protector, a mayor número de semanas, menos riesgo de desarrollar PC, como menciona Hvidtjorn y cols. quienes encontraron lo mismo que nosotros en población danesa (53).

Otra variable importante fue la presencia o no de hipoxia, encontrándose que había más riesgo de padecer PC si había habido presencia de hipoxia perinatal, ya que está bien comprobado que afecta directamente el desarrollo del cerebro del neonato (54,55).

La edad materna, fue otra variable que presentó diferencia, sin embargo las edades de las madres en ambos grupos se encontraban en edades adecuadas para la reproducción. En la literatura no hemos encontrado que esto sea considerado un factor de riesgo.

Aunque es muy común que exista diferencia de las puntuaciones Apgar, en nuestro modelo saturado ésta perdió importancia, pero ha sido descrito en varios

informes que es un factor de riesgo importante (56,57). Es muy probable que la correlacionarse con la hipoxia y al ser analizado en forma multivariada, el programa eligiera de entre las 2, la que mejor representaba la característica. Asimismo el tabaquismo se presentó como factor de riesgo. Hay estudios que demuestran que el humo del tabaco aumenta el riesgo de peso bajo, prematurez, anomalías congénitas, y en casos extremos la muerte (58,59).

Por lo arriba expuesto sabemos ya que en nuestra población no existe el problema de la mutación Leiden del factor V , ya que su prevalencia es muy baja, pero es probable que otros factores estén involucrados, algunos quizá genéticos y varios no genéticos, como se encontraron en este estudio.

La presencia de crisis convulsivas no se considera causal de la parálisis cerebral, es más bien secundaria a la misma, como ha sido mencionado en varios estudios, encontrándose entre el 20 y el 40% de los casos aproximadamente (60,61)

Recientemente se han estudiado polimorfismos de otros genes, Wu YW y cols. encontraron que de varios genes estudiados, ciertos genotipos de los genes de la sintasa de óxido nítrico inducible (eNOS) y la apolipoproteína E fueron más frecuentes en pacientes con PCI que en los controles (61). Nelson KB y cols. también encontraron asociación en algunos de los polimorfismos mencionados (62). O'Callaghan y cols realizaron una revisión sistemática y encontraron que los genes candidatos más promisorios para asociación con parálisis cerebral, son: factor V Leiden, metilentetrahidrofolato reductasa, linfotóxina-a, factor de necrosis tumoral-a, eNOS y la lectina de unión a manosa (63), sin embargo son necesarios más estudios que involucren mayor número de pacientes de casos y controles y debe tomarse en cuenta la etnicidad de los mismos.

La parálisis cerebral, es de tal manera, una patología multifactorial/poligénica, en la que muchos factores diferentes predisponen y los factores ambientales precipitan las manifestaciones. Se conoce que una pareja que ha tenido un hijo afectado de parálisis cerebral, tiene mayor riesgo que la población general de tener otro hijo afectado, y esto se debe principalmente a los factores predisponentes que son los genéticos (64).

CONCLUSIONES.

1. La mutación Leiden del factor V no es importante en nuestra población. En las muestras estudiadas no se encontró algún caso de la misma.
2. La RPCa mostró una prevalencia muy baja (1.1%) y no se relacionó con la mutación Leiden del factor V.
3. Siguen siendo muy importantes los factores ambientales, como factores precipitantes de la parálisis cerebral infantil.
4. La PC en nuestro medio, es causada por muchos factores ambientales que probablemente se interrelacionen con cierta predisposición genética.
5. Al tratarse de una enfermedad multifactorial o poligénica, la predisposición genética debe estar dada por otros genes, muy probablemente por variaciones polimórficas.
6. En nuestro estudio, los factores que resaltaron fueron la hipoxia, las infecciones, la edad materna, las semanas de gestación y el tabaquismo.
7. La relevancia del estudio radica en que ya no deben buscarse asociaciones de enfermedades de probable etiología tromboembólica, con la mutación Leiden, ya que ésta es muy poco prevalente en nuestra población.

BIBLIOGRAFÍA

1. Legido A, Katsetos CD. Cerebral palsy: new pathogenetic concepts. *Rev Neurol* 2003; 36: 157-65.
2. Pakula AT, Van Naarden K, Yeargin-Allsopp M. Cerebral palsy: classification and epidemiology. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 20, 2009; 425-452.
3. Camacho-Salas A, Pallás-Alonso CR, la Cruz-Bértolo J, Simón-de las Heras R, Mateos-Beato F. Parálisis cerebral: concepto y bases de registro poblacional. *Rev Neurol* 2007;45: 503-8.
4. Robaina-Castellanos GR, Riesgo-Rodríguez S, Robaina-Castellanos M.S. Definición y clasificación de la parálisis cerebral: ¿un problema ya resuelto? *Rev Neurol* 2007; 45: 110-7.
5. MacKeith RC, Polani PE. Cerebral palsy. *Lancet* 1958; 1: 61.
6. Morris C. Definition and classification of cerebral palsy: a historical perspective. *Dev Med Child Neurol* 2007; 49: S3-7.
7. Mutch L, Alberman E, Hagberg B, Kodama K, Perat MV. Cerebral palsy epidemiology: where are we now and where are we going? *Dev Med Child Neurol* 1992; 34: 547-51.
8. Bax M, Goldstein M, Rosenbaum P, Leviton A, Paneth N, Dan B, et al. Executive Committee for the Definition of Cerebral Palsy. Proposed definition and classification of cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 2005; 47: 571-6.
9. World Health Organization. *International Classification of Functioning, Disability and Health*. Geneva: WHO; 2001.
10. Keogh JM, Badawi N. The origins of cerebral palsy. *Curr Opin Neurol* 2006; 19:129-134.
11. Pascual JM, Koenisberger MR. Cerebral palsy: prenatal risk factors. *Rev Neurol* 2003; 37: 275-80.
12. Paneth N. Cerebral palsy in term infants birth or before birth? *J Pediatr* 2001; 138: 7912.
13. Bringas-Grande A, Fernández-Luque A, García-Alfaro C, Barrera-Chacón M,

- Toledo-González M, Domínguez-Roldan J.M. Parálisis cerebral infantil: estudio de 250 casos. *Rev Neurol* 2002; 35: 812-817
14. Gibson CS, McLennan AH, Goldwater PN, Dekker GA. Antenatal causes of cerebral palsy: Associations Between inherited Thrombophilias, Viral and Bacterial infection and Inherited susceptibility to infection. *Obstet Gynecol Surv* 2003; 58: 209-220.
 15. De Maat MPM, Jansen MWJC, Hille ETM, Vos HL, Bloemenkamp KWM, Buitendijk S, Helmerhorst FM, Wladimiroff JW, Bertina RM, de groot CJM. Preeclampsia and its interaction with common variants in thrombophilia genes. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1588-93.
 16. Salmasi G, Grady R, Jones J, McDonal SD. Environmental tobacco smoke exposure and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analyses. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010; 89: 423-41.
 17. Rosenberg RD. Vascular-bed-specific hemostasis and hypercoagulable states. *Thromb. Haemost.* 2001 jul;86(1): 41-50.
 18. Howard MR, Hamilton PJ. *Haematology. An illustrated colour text. Third edition.* Churchill Livingstone. Elsevier. USA, 2008.pp12-13.
 19. Martínez-Murillo C, Quintana González S. Fisiología de la Hemostasia secundaria. Capítulo 3 en *Hemostasia y Trombosis. 2ª. edición.* Ed. Prado. México 2008. Pp 59-95
 20. Majerus PW. Human genetics. Bad blood by mutation. *Nature* 1994;369(6475):14-5.
 21. Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(3):1004-8.
 22. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369(6475):64-7.
 23. Pérez Martínez A, Cerezo-Bueno MJ, García-Peñas JJ, Gutiérrez-Solana L,

- Ruiz-Falcí ML. Hipertensión intracraneal benigna y heterocigosis para el factor V de Leiden. *An Pediatr* 2005; 63: 172-174.
24. Halliday JL, Reddihough D, Byron K, Ekert H, Ditchfield M. Hemiplegic cerebral palsy and the factor V Leiden mutation. *J Med Genet* 2000;37(10):787-9.
25. Reid S, Halliday J, Ditchfield M, Ekert H, Byron K, Glynn A, Petrou V, Reddihough D. Factor V Leiden mutation: a contributory factor for cerebral palsy? *Dev Med Child Neurol* 2006;48(1):14-9.
26. Zahed LF, Rayes RF, Mahfouz RA, Taher AT, Maarouf HH, Nassar AH. Prevalence of factor V Leiden, prothrombin and methylene tetrahydrofolate reductase mutations in women with adverse pregnancy outcomes in Lebanon. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195(4):1114-8.
27. Rajewski M, Skrzypczak J. Frequency of antiphospholipid antibodies and factor V (G1691A), prothrombin (G20210A) gene polymorphism among women with pregnancy complication. *Pol Arch Med Wewn* 2006;115(5):417-25.
28. Gawish GE. Molecular characterization of factor V Leiden G1691A and prothrombin G20210A mutations in Saudi newborns with stroke. *Biochem Genet* 2011;49(9-10): 601-10
29. Harteman JC, Groenendaal F, VAN Haastert IC, Liem KD, Stroink H, Bierings MB, Huisman A, DE Vries LS. Atypical timing and presentation of periventricular haemorrhagic infarction in preterm infants: the role of thrombophilia. *Dev Med Child Neurol* 2012; 54(2): 140-7
30. Ruiz-Argüelles GJ, González-Estrada S, Garcés-Eisele J, Ruiz-Argüelles A. Primary Thrombophilia in Mexico: A Prospective Study. *Am J Hematol* 1999; 60: 1-5
31. Cantu C, Alonso E, Jara A, Martínez L, Ríos C, Fernández Mde L, Garcia I, Barinagarrementeria F. Hyperhomocysteinemia, low folate and vitamin B12 concentrations, and methylene tetrahydrofolate reductase mutation in cerebral venous thrombosis. *Stroke*. 2004 Aug;35(8):1790-4. Epub 2004 Jun 10.
32. Dávalos IP, Morán MC, Martínez-Abundis E, González-Ortiz M, Flores-Martínez SE, Machorro V, Sandoval L, Figuera LE, Mena JP, Oliva JM, Tlacuilo-Parra JA, Sánchez-Corona J, Salazar-Páramo M. Methylentetrahydrofolate reductase

- C677T polymorphism and Factor V Leiden variant in Mexican Women with preeclampsia/eclampsia. *Blood Cell Mol Dis* 2005; 35(1): 66-69
33. Ruiz-Argüelles GJ, González-Carrillo ML, Estrada-Gómez R, Valdés-Tapia P, Parra-Ortega I, Porras-Juárez A. Primary thrombophilia in México. VI: lack of statistical association among the inherited thrombophilic conditions. *Gac Med Mex.* 2007 Jul-Aug;143(4):317-22.
34. Majluf-Cruz A., Moreno-Hernández M., Ruiz-de-Chávez-Ochoa A., Monroy-García R., Majluf-Cruz K., Guardado-Mendoza R., Molina-Ávila I., Isordia-Salas I., Corona-de-la-Peña N., Vargas-Varackova F., Vela-Ojeda J., García-Chávez J. Activated protein C resistance and Factor V Leiden in México. *Cin Appl Tromb Hemost* 2008; 14: 428-437.
35. Zavala-Hernández C, Hernández-Zamora E, Martínez-Murillo C, Arenas-Sordo ML, González-Orozco AE, Reyes-Maldonado E. Asociación de la RPCA con mutaciones Leiden y Cambridge del factor V de la coagulación en pacientes mexicanos con trombofilia primaria. *Cir Cir* 2010; 78:131-136.
36. Cesarman-Maus G, Cantú-Brito C, Barinagarrementeria F, Villa R, Reyes E, Sanchez-Guerrero J, Hajjar KA, Latorre EG. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor, annexin A2, in cerebral venous thrombosis. *Stroke.* 2011 Feb;42(2):501-3. Epub 2010 Dec 30.
37. Ruiz-Argüelles G.L., López-Martínez B., Valdés-Tapia P., Gómez-Ranjel J.D., Reyes-Núñez V., Garcés-Eisele J. Primary thrombophilia in México. V. A comprehensive prospective study indicates that most cases are multifactorial. *Am J Hematol* 2005; 78: 21-26.
38. Mutch L, Alberman E, Hagberg B, Kodama K, Perat MV. Cerebral palsy epidemiology: where are we now and where are we going?. *Dev Med Child Neurol* 1992; 34(6):547-51.
39. Cancho Candela R, Fernández Alonso JE, Lanza Fernández E, Lozano Domínguez MA, Andrés de Llano JM, Folgado Toranzo I. Estimation of the prevalence of cerebral palsy in the Autonomous Community of Castilla y León (Spain) using a disabilities register. *An Pediatr* 2006;65(2):97-100.

40. Programa nacional de salud 2001-2006. Prevención y Rehabilitación de Discapacidades, PreveR-Dis. La democratización de la salud en México. Hacia un sistema universal de salud. CNR/ SS. Plan Nacional de Desarrollo 2001-2006.
41. López M, Giraldo P, Alvarez P, Cornudella R, Pocovi M, Martínez A, Fontcuberta J, Soria JM. Multiplex assay for genetic testing of thrombophilia: a method for routine clinical care. *J Clin Lab Anal.* 2007; 21(6):349-55.
42. Olave T, Cornudella R, Homs C, Azaceta G, Tirado I, Gutiérrez M. Incidence al clinical manifestations of activated protein C and factor V Leiden in young patients with venous thromboembolic disease in Spain. *Haematologica* 1998; 83(4): 378-80
43. García-Gala JM, Alvarez V, Pinto CR, Soto I, Urgellés MF, Menéndez MJ, Carracedo C, López-Larrea C, Coto E. Factor V a case-control study based on the Spanish population. *Clin Genet* 1997; 52: 206-210
44. Mekaj Y., Zhubi B., Hoxha H., Belegu R., Mekaj A., Miftari E., Belegu M. Prevalence of resistance to activated protein C (APC-resistance) in blood donors in Kosovo. *Bosn. J Basic Med Sci.* 2009; 9: 329-334.
45. Dashti A.A., Jadaon M.M., Lewis H.L. Factor V Leiden mutation in Arabs in Kuwait by real-time PCR: different values for different Arabs. *J Hum Genet.* 2010; 55: 232-235.
46. Sottillotta G, Mammì C, Furlò G, Oriana V, Latella C, Trapani Lombardo V. High incidence of factor V Leiden and prothrombin G20210A in healthy southern Italians. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2009 May-Jun;15(3):356-9.
47. Harteman JC, Groenendaal F, VAN Haastert IC, Liem KD, Stroink H, Bierings MB, Huisman A, DE Vries LS. Atypical timing and presentation of periventricular haemorrhagic infarction in preterm infants: the role of thrombophilia. *Dev Med Child Neurol* 2012 Feb; 54(2):140-7.
48. Nusier MK, Radaideh AM, Ababneh NA, Qaqish BM, Alzoubi R, Khader Y, Mersa JY, Irshaid NM, El-Khateeb M. Prevalence of factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A polymorphisms among apparently healthy

- Jordanians. *Neuro Endocrinol Lett.* 2007 Oct;28(5):699-703.
49. Pepe G, Rickards O, Vanegas OC, Brunelli T, Gori AM, Giusti B, Attanasio M, Prisco D, Gensini GF, Abbate R. Prevalence of factor V Leiden mutation in non-European populations. *Thromb Haemost.* 1997 Feb;77(2):329-31.
50. Castoldi E, Rosing J. APC resistance: biological basis and acquired influences. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 445-453.
51. Mann JR, McDermott S, Bao H, Bersabe A. Maternal genitourinary infection and risk of cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 2009;51(4):281-288
52. Nelson KB. Infection in pregnancy and cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 2009; 51: 253-254
53. Hvidtjorn D, Grove J, Schendel D, Svaerke C, Schieve LA, Uldall P, Ernst E, Jacobsson B, Thorsen P. Multiplicity and early gestational age contribute to an increased risk of cerebral palsy from assisted conception: a population-based cohort study. *Human reproduction* 2010; 25 (8): 2115-2123.
54. Carratalá-Marco F., Moya-Benavent M., Cortés E. Influencia del ácido decosahexaenoico y la hipoxia perinatal moderada en la resolución de un laberinto T en ratas Wistar de un mes de edad. *Rev Neurol* 2010; 51: 271-278.
55. Kulak W, Okurowska-Zawada B, Sienkiewicz D, Paszko-Patej G, Krajewska-Kulak E. Risk factors for cerebral palsy in term birth infants. *Adv Med Sci* 2010; 55(2): 216-221.
56. Papile L-A. The Apgar score in the 21st century. *N Engl J Med* 2001; 344: 519-520.
57. Lie K.K., Groholt E-K., Eskild A. Association of cerebral palsy with Apgar score in low and normal birthweight infants: population based cohort study. *BMJ.* 2010; 341:c5175.
58. Salmasi G, Grady R, Jones J, McDonal SD. Environmental tobacco smoke exposure and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analyses. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010; 89: 423-41.
59. Odding E, Roebroek ME, Stam HJ. The epidemiology of cerebral palsy: incidence, impairments and risk factors. *Disab Rehabil* 2006; 28(4): 183-191

60. Neville B. Epilepsy in hemiplegic cerebral palsy due to perinatal arterial ischaemic stroke. *Dev Med Child Neurol* 2010; 52,11: 982
61. Wu YW, Croen LA, Vanderwerf A, Gelfand AA, Torres AR. Candidate genes and risk for cerebral palsy: a population-based study. *Pediatr Res* 2011; 70:642-646.
62. Nelson KB, Dambrosia JM, Iovannisci DM, Cheng S, Grether JK, Lammer E. Genetic polymorphism and cerebral palsy in very preterm infants. *Pediatr Res.* **2005** Apr;57(4):494-9
63. O'Callaghan ME, MacLennan AH, Haan EA, Dekker G. The genomic basis of cerebral palsy: a Huge systematic literature review. *Hum Genet* 2009; 126: 149–172.
64. Hemminki K, Li X, Sundquist K, Sundquist J. High familial risks for cerebral palsy implicate partial heritable aetiology. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2007; 21: 235-41

Anexo 1

Historia Clínica Rehabilitación Pediátrica



NOMBRE:	EXPEDIENTE:	
EDAD:	SEXO:	MASCULINO
		FEMENINO
FECHA DE NACIMIENTO:	FECHA DE INGRESO:	
MOTIVO DE CONSULTA:		
EXPECTATIVAS:		
FAMILIAR RESPONSABLE:		
TIPO DE INTERROGATORIO:	DIRECTO	INDIRECTO

ANTECEDENTES HEREDITARIOS Y FAMILIARES			
MADRE	EDAD:	A. ESCOLARIDAD:	OCUPACIÓN :
PADRE	EDAD:	A. ESCOLARIDAD:	OCUPACIÓN :
CONSANGUINIDAD	SI	NO	PARENTESCO
ENFERMEDAD MATERNA:	SI	NO	CUÁL (ES)
ENFERMEDAD PATERNA:	SI	NO	CUÁL(ES)
TOXICOMANÍAS	TABAQUISMO	ETILISMO	OTROS
ENFERMEDADES METABÓLICAS			
CARDIOPATÍAS			
GENOPATÍAS			
MALFORMACIONES CONGÉNITAS			
CRISIS CONVULSIVAS			
OTRAS			

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS

--

ANTECEDENTES PRENATALES

EDAD DE LA MADRE DURANTE LA GESTACIÓN:	AÑOS	G	P
C	A		

EMBARAZO PLANEADO	SI	NO	DESEADO	SI	NO	ACEPTADO
	SI	NO				

CONTROL MEDICO DURANTE EL EMBARAZO

PRIMER TRIMESTRE	SI	<input type="checkbox"/>	NO	<input type="checkbox"/>
SEGUNDO TRIMESTRE	SI	<input type="checkbox"/>	NO	<input type="checkbox"/>
TERCER TRIMESTRE	SI	<input type="checkbox"/>	NO	<input type="checkbox"/>
FÁRMACOS	SI	<input type="checkbox"/>	NO	<input type="checkbox"/>

ESPECIFIQUE INDICACION Y TIPO DE FÁRMACO
--

--

ANTECEDENTES PRENATALES

	SI	NO	TRIMESTRE
TOXOPLASMOSIS			
SÍFILIS			
RUBEÓLA			
DIABETES GESTACIONAL			
TRAUMATISMOS			
CIRUGIAS			
PRECLAMPSIA			

ECLAMPSIA			
AMENAZA DE ABORTO A29			
AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO			
PLACENTA PREVIA			
DESPRENDIMIENTO PREMATURO DE PLACENTA			

SI RESPONDIO AFIRMATIVAMENTE CUALQUIERA DE LOS PUNTOS ANTERIORES ESPECIFIQUE Y DESCRIBA EL MANEJO MEDICO EMPLEADO:

--

ESTUDIOS DE LABORATORIO Y/O GABINETE

--

ANTECEDENTES NEONATALES

ANTECEDENTES DEL PARTO

HOSPITALARIO		SI	NO		
DOMICILIARIO		SI	NO	MEDICO	EMPÍRICO
DURACIÓN DEL EMBARAZO				SDG	MESES

TIPO DE PARTO

EUTÓCICO	DISTÓCICO	UTILIZACIÓN DE FORCEPS			
MANIOBRA DE KLISTELLER		PRESENTACIÓN PÉLVICA			
PERIODO EXPULSIVO PROLONGADO			TIEMPO		
CESÁREA	INDICACION				
RUPTURA DE MEMBRANAS			TIEMPO		

PRODUCTO

UNICO	GEMELAR	MÚLTIPLE	APGAR	1MIN	5MIN	
SUFRIMIENTO FETAL		SI	NO	SILVERMAN/ANDERSON		
PESO	TALLA		PC			
MANIOBRAS DE RESUCITACIÓN			SI	NO		
MANIOBRAS DE REANIMACIÓN			SI	NO		
OTRAS						

ANTECEDENTES POSTNATALES INMEDIATOS Y MEDIATOS			
HIPERBILIRRUBINEMIA		SI	NO
			NO ESPECIFICA
BILIRRUBINA INDIRECTA MGS		BILIRRUBINA DIRECTA MGS	
EXSANGUÍNEOTRASFUSIÓN		COMPLICACIONES	
INCOMPATIBILIDAD RH	GRUPO	COMPLICACIONES	
	O		
SEPSIS	SI	NO	ESPECIFIQUE
HIDROCEFALIA	SI	NO	
CRISIS CONVULSIVAS NEONATALES	SI	NO	
HEMORRAGIA INTRAVENTRICULAR	SI	NO	
DESEQUILIBRIO HIDROELECTROLÍTICO	SI	NO	
OTRAS			
ANEXO I IDENTIFICACION DE LOS PRINCIPALES FACTORES DE RIESGO BIOLÓGICO Y AMBIENTAL			

Y AMBIENTALES (PROGRAMA DE SEGUIMIENTO NEUROLÓGICO)

DESARROLLO PSICOMOTOR			
CONDUCTA MOTRIZ			
EDAD NORMAL EN MESES		EDAD EN MESES (PACIENTE)	
3 MESES	MANTIENE LA CABEZA FIRME		MESES
6 MESES	SE MANTIENE SENTADO		MESES
9 MESES	GATEO		MESES
12 MESES	BIPEDESTACION		MESES
15 MESES	CAMINA SOLO		MESES
18 MESES	SUBE ESCALERAS SOSTENIÉNDOSE		MESES
CONDUCTA ADAPTATIVA			
EDAD NORMAL EN MESES		EDAD EN MESES (PACIENTE)	
03 MESES	RETIENE Y MIRA LOS OBJETOS		MESES

06 MESES	TIENDE LA MANO HACIA UN OBJETO Y LO AGARRA		MESES
07 MESES	TRANSFIERE DE UNA MANO A OTRA		MESES
12 MESES	PONE Y SACA OBJETOS DE UN RECIPIENTE		MESES
CONDUCTA LINGÜÍSTICA			
EDAD NORMAL EN MESES		EDAD EN MESES (PACIENTE)	
02 MESES	GUTURIZACIÓN		MESES
04 MESES	IMITA SONIDOS		MESES
06 MESES	BALBUCEO		MESES
09 MESES	DICE PAPA Y MAMA CON SENTIDO		MESES
12 MESES	DICE DE 3 A 5 PALABRAS		MESES
24 MESES	COMBINA PALABRAS		MESES

PERSONAL SOCIAL			
EDAD NORMAL EN MESES		EDAD EN MESES (PACIENTE)	
03 MESES	SONRIE MIRANDO A UNA PERSONA		MESES
06 MESES	DISTINGUE A EXTRANOS		MESES
09 MESES	IMITA JUEGOS , DICE ADIOS, APLAUDE		MESES
16 MESES	COME CON CUCHARA SIN AYUDA		MESES
24 MESES	CUMPLE INDICACIONES SENCILLAS, AYUDA A VESTIRSE		MESES
36 MESES	CONTROL DE ESFÍNTERES		MESES
CONDUCTA			
INQUIETO E IRRITABLE		SI	NO
DIFICULTAD PARA CONSERVAR LA ATENCIÓN		SI	NO

DIFICULTAD PARA SEGUIR INSTRUCCIONES	SI	NO
SIEMPRE EN ACTIVIDAD	SI	NO
TRASTORNO DE SUEÑO Y VIGILIA	SI	NO
ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS		
PADECIMIENTO ACTUAL		
TERAPEÚTICA EMPLEADA		

EXPLORACIÓN FÍSICA			
SOMATOMETRÍA			
PC	CM	PESO	GRS

FLEXION DE RODILLAS			
VISTA ANTERIOR			
VALGO DE RODILLAS	IZQUIERDO	DERECHO	ANGULO Q
VARO DE RODILLAS			
VARO DE TIBIAS			
TORSION TIBIAL INTERNA			
TORSION TIBIAL EXTERNA			

PLANTOSCOPIA						
PIE PLANO						
PIE CAVO	GRADO I	GRADO II	GRADO III	GRADO IV		
DESCENSO DE ARCO ANTERIOR	DERECHO		IZQUIERDO			
DEDOS EN GARRAS			DERECHO		IZQUIERDO	
DEDOS SUPERPUESTOS		DERECHO		IZQUIERDO		
MARCHA		DERECHO		IZQUIERDO		
ESPECIFIQUE PATRON DE MARCHA	NO				SI	
CABEZA Y PARES CRANEALES						

SIMETRICA					
FACIE CARACTERÍSTI CA	SI		NO	ESPECIFIQUE	
ESPECIFIQUE			SI	NO	
CAVIDAD ORAL					
TÓRAX Y COLUMNA VERTEBRAL					

ABDOMEN	

**EXTREMIDADES
SUPERIORES**

**EXTREMIDADES
INFERIORES**

OBSERVACIONES

**DIAGNOSTICO
(S)**

--

**EXAMENES DE
LABORATORIO
Y GABINETE**

--

**PLANES DE
ESTUDIO**

--

**TRATAMIENTO
INTEGRAL POR
OBJETIVOS**

--

--

MEDICO RESPONSABLE (NOMBRE Y FIRMA)
--

RESIDENTE (S) NOMBRE Y FIRMA

ANEXO 2.

Extracción de DNA genómico

Para la extracción de DNA genómico a partir de sangre total, tanto de los pacientes como de los controles, se realizó mediante el empleo del kit comercial no enzimático Gentra Puragen de la marca Quiagen. Se colocaron 300 μL de sangre total en un microtubo de 1.5 mL. Se adicionó 900 μL de solución de lisis de eritrocitos. Se homogenizó por inversión 1 minuto a temperatura ambiente (15 a 25°C). Se centrifugó a 3000 rpm, 30 segundos a temperatura ambiente. Se decantó el sobrenadante y se repitió el proceso con la solución de lisis de eritrocitos 2 o 3 veces más hasta obtener un paquete celular blanco, agitando en vortex para resuspender el paquete celular en cada lavado. Se dispensaron 300 μL de solución de lisis celular y se agitó en vortex vigorosamente por 10 segundos. Se incubó 24 horas a temperatura ambiente. Posterior a la incubación, se le adicionó 150 μL de solución de precipitación de proteínas y se agitó vigorosamente en vortex por 20 segundos. Se colocó la muestra en refrigeración (4°C), 5 minutos. Se centrifugó a 8000 rpm, 3 minutos a 4°C. Se extrajo el sobrenadante cuidadosamente y se transfirió a otro microtubo de 1.5 mL. Se dispensaron 500 μL de isopropanol frío al 20 sobrenadante. Se centrifugó a 14000 rpm, 5 minutos a 4°C. Se decantó el sobrenadante cuidadosamente. Se adicionó 500 μL de etanol al 70% frío y se mezcló por inversión. Se centrifugó a 14000 rpm, 3 minutos a 4°C. Se decantó el sobrenadante cuidadosamente. Se dejó secar al aire colocando un papel absorbente sobre el microtubo. Se adicionó 100 μL de agua inyectable y se agitó en vortex 5 segundos para resuspenderse.

Determinación de la concentración, pureza e integridad del DNA obtenido

La cuantificación y pureza del DNA se realizó midiendo la absorbancia a 260 y 280nm, considerando que 1U A260 equivale a 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de DNA de doble cadena y que las proteínas presentan un máximo de absorción a 280nm. EL cociente de A260/A280 debe ser de 1.65 – 1.9 (56). Una vez determinadas la concentración y pureza, el DNA se almacenó en congelación (-20°C), hasta su uso.

La integridad del DNA se determinó sometiendo las muestras a electroforesis en geles de agarosa al 1 % en regulador TAE (Tris Base 40mM, ácido acético 20mM y EDTA 1mM). Las bandas se visualizaron tiñendo los geles con bromuro de etidio (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Análisis del Factor V Leiden mediante PCR tiempo real

Evaluamos el polimorfismo G1691A (rs 6025) localizado en el exón 10 del Factor V (FV), la secuencia tanto de los primers como de las sondas se encuentra en la tabla 1:

Primers	Sondas
F CCTCTGGGCTAATAGGACTACTTCTAAT	VIC CCTGTATTCCTTGCCTGTC
R AGAATTTCTGAAAGGTTACTTCAAGGACAA	FAM CTGTATTCCTCGCCTGTC

F Secuencia del primers directo.
R Secuencia del primers invertido

VIC = Secuencia del notificador 1.
FAM = Secuencia del notificador 2,

Las características del equipo en donde se efectuó la PCR tiempo real y las condiciones de amplificación se describen a continuación:

Características:

Nombre del equipo: 7500 Fast Real-Time PCR System.

Modelo: 7500 Fast

Marca: Applied Biosystems

Software: 7500 Version 2.0

Nota: Los ensayos personalizados de genotipado TaqMan SNP pueden ser realizados en un sistema 7500 Fast usando reactivos estándar y protocolos de ciclo estándar.

Condiciones de Amplificación:

Pre-PCR Read (Holding Stage): 60°C, 1min.

Holding Stage: 95°C, 20seg.

Cycling Stage: 40 ciclos de 95°C, 3 seg y 60°C, 30 seg.

Post-PCR Read (Holding Stage): 60°C, 1min.

Las mezclas de reacción se llevaron a cabo con los siguientes componentes

Elementos	Concentraciones
	1X
Máster mix	3 uL
Sonda (40X)	0.15 uL
Agua destilada	1.85 uL
DNA (20ng/uL)	1.0 uL

El equipo genotifica simultáneamente las muestras de DNA de la placa. En primer lugar, normaliza la fluorescencia de los fluorocromos notificadores con respecto a la fluorescencia del fluorocromo de referencia pasivo en cada pocillo. A continuación, traza las intensidades normalizadas (R_n) de los fluorocromos del notificador en cada pocillo en una gráfica de discriminación alélica, lo que contrasta las intensidades de ambas sondas específicas de alelo. Por último, agrupa de manera algorítmica los datos de las muestras y asigna un genotipo a las muestras de cada agrupación de acuerdo con su posición en la gráfica.

El resultado del equipo nos proporciono gráficos que midieron la intensidad de fluorocromos, por lo que la sonda que amplificó fue el fluorocromo que estuvo en mayor cantidad.

ANEXO 3

Estudio bioquímico de la Proteína C Activada.

Se toma muestra de 4.5 ml de sangre a la que se añade 0.5 ml de citrato. Se obtiene el plasma y se realiza el estudio mediante Kit comercial APCTM Resistance V de la marca IL Diagnostic en equipo automatizado IL Technichron. El plasma de la muestra se prediluye con plasma reactivo, el cual contiene todas las proteínas que actúan en la formación y regulación de la trombina, con excepción del factor V. Los resultados son expresados como una proporción, del tiempo obtenido para la formación del coágulo de la muestra con CaCl₂/APC entre el tiempo obtenido para la formación del coágulo de la muestra solo con CaCl₂.

Las referencias son las siguientes:

- Normal: > 2.2
- Equívoco: 2.0-2.2
- Anormal: < 2.0

ANEXO 4**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO. CASOS PEDIÁTRICOS.**

México , D.F. a de 20 .

A Quien Corresponda:

Por medio de la presente, hago de su conocimiento que he dado mi consentimiento para que mi hijo (a) participe en el proyecto:

ESTUDIO DE LA MUTACIÓN (G-1691-A) DEL FACTOR V DE LEIDEN Y DE LA RESISTENCIA A LA PROTEINA C ACTIVADA EN UN GRUPO DE PACIENTES CON PARÁLISIS CEREBRAL INFANTIL TIPO HEMIPARESIA ESPÁSTICA Y SUS MADRES, DEL INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

a cargo de la Dra. Martha Griselda del Valle Cabrera y la Dra. Ma. de la Luz Arenas Sordo, que se realiza en el Instituto Nacional de Rehabilitación, lo cual he aceptado en forma libre y voluntaria. Puedo contactarlas vía telefónica al 59-9910-00 extensiones 13504 y 19402 respectivamente.

Previamente, se me ha explicado en forma satisfactoria que la finalidad es saber si existen características genéticas que sean las causantes del tipo de parálisis infantil que sufre mi hijo(a). Lo anterior se realizará a través del estudio específico (molecular) del gen del factor V de Leiden, en búsqueda de la mutación (cambio en el gen). Para tal efecto, es necesaria la toma de una muestra de sangre de 3 ml por medio de punción venosa, con un riesgo mínimo, como lo es la formación de un hematoma (moretón). Entiendo que de esta investigación se derivará como beneficio el mejor conocimiento de la enfermedad. El material hereditario (DNA) que se obtiene de la sangre no se utilizará con otra finalidad que la de estudios de coagulación.

Asimismo, se me ha explicado que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de la participación de mi hijo (a), y que estoy en libertad de negarme a participar en el presente estudio, en tal caso la atención que recibo en esta Institución no se verá afectada. Solamente se requerirá de mi participación cuando done la sangre necesaria para el estudio.

Nombre	Firma
Testigo. Nombre y firma Teléfono:	Testigo. Nombre y firma Teléfono:

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO. CONTROLES PEDIÁTRICOS.

México , D.F. a de 20 .

A Quien Corresponda:

Por medio de la presente, hago de su conocimiento que he dado mi consentimiento para que mi hijo (a) participe en el proyecto:

ESTUDIO DE LA MUTACIÓN (G-1691-A) DEL FACTOR V DE LEIDEN Y DE LA RESISTENCIA A LA PROTEINA C ACTIVADA EN UN GRUPO DE PACIENTES CON PARÁLISIS CEREBRAL INFANTIL TIPO HEMIPARESIA ESPÁSTICA Y SUS MADRES, DEL INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

a cargo de la Dra. Martha Griselda del Valle Cabrera y la Dra. Ma. de la Luz Arenas Sordo, que se realiza en el Instituto Nacional de Rehabilitación, lo cual he aceptado en forma libre y voluntaria. Puedo contactarlas vía telefónica al 59-9910-00 extensiones 13504 y 19402 respectivamente.

Previamente, se me ha explicado en forma satisfactoria que la finalidad es saber si existen características genéticas que sean las causantes de la parálisis cerebral infantil tipo hemiparesia espástica, para lo que se requiere compararlas con personas sin la enfermedad, como es el caso de mi hijo(a). Lo anterior se realizará a través del estudio molecular del gen del factor V de Leiden, en búsqueda de la mutación (cambio en el gen) y con la determinación bioquímica de la proteína C activada. Para tal efecto, es necesaria la toma de una muestra de sangre de 3 ml por medio de punción venosa, que se realizará al mismo tiempo de la toma de sangre que tiene que realizarse para fines del tratamiento de mi hijo(a). Entiendo que de esta investigación se derivará como beneficio el mejor conocimiento de la PCI. El producto biológico, hereditario (DNA) que se obtendrá de la sangre no se utilizará con otra finalidad que la de estudios de coagulación.

Asimismo, se me ha explicado que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de la participación de mi hijo (a), y que estoy en libertad de negarme a participar en el presente estudio, en tal caso la atención que recibo en esta Institución no se verá afectada. Solamente se requerirá de la participación de mi hijo, cuando done la sangre necesaria para el estudio.

Nombre	Firma
Testigo. Nombre y firma Teléfono:	Testigo. Nombre y firma Teléfono:

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO. CASOS MADRES DE LOS PACIENTES.

México , D.F. a de 20 .

A Quien Corresponda:

Por medio de la presente, hago de su conocimiento que la que suscribe, he dado mi consentimiento para participar en el proyecto:

ESTUDIO DE LA MUTACIÓN (G-1691-A) DEL FACTOR V DE LEIDEN Y DE LA RESISTENCIA A LA PROTEINA C ACTIVADA EN UN GRUPO DE PACIENTES CON PARÁLISIS CEREBRAL INFANTIL TIPO HEMIPARESIA ESPÁSTICA Y SUS MADRES, DEL INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

a cargo de la Dra. Martha Griselda del Valle Cabrera y la Dra. Ma. de la Luz Arenas Sordo, que se realiza en el Instituto Nacional de Rehabilitación, lo cual he aceptado en forma libre y voluntaria. Puedo contactarlas vía telefónica al 59-9910-00 extensiones 13504 y 19402 respectivamente.

Previamente, se me ha explicado en forma satisfactoria que la finalidad es saber si existen características genéticas que sean las causantes del tipo de parálisis cerebral infantil que sufre mi hijo(a). Lo anterior se realizará a través del estudio molecular del gen del factor V de Leiden, en búsqueda de la mutación (cambio en el gen). Para tal efecto, es necesaria la toma de una muestra de sangre de 3 ml por medio de punción venosa, con un riesgo mínimo, como lo es la formación de un hematoma (moretón). Entiendo que de esta investigación se derivará como beneficio el mejor conocimiento de la enfermedad. El producto biológico, hereditario (DNA) que se obtendrá de la sangre no se utilizará con otra finalidad que la de estudios de coagulación.

Asimismo, se me ha explicado que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación, y que estoy en libertad de negarme a participar en el presente estudio, en tal caso la atención que mi hijo recibe en esta Institución no se verá afectada. Solamente se requerirá de mi participación cuando done la sangre necesaria para el estudio.

Nombre

Firma

Testigo. Nombre y firma

Testigo. Nombre y firma

Teléfono:

Teléfono:

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO. CONTROLES DE LAS MADRES DE LOS PACIENTES.

México, D.F. a de 20 .

A Quien Corresponda:

Por medio de la presente, hago de su conocimiento que la que suscribe, he dado mi consentimiento para participar en el proyecto:

ESTUDIO DE LA MUTACIÓN (G-1691-A) DEL FACTOR V DE LEIDEN Y DE LA RESISTENCIA A LA PROTEINA C ACTIVADA EN UN GRUPO DE PACIENTES CON PARÁLISIS CEREBRAL INFANTIL TIPO HEMIPARESIA ESPÁSTICA Y SUS MADRES, DEL INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

a cargo de la Dra. Martha Griselda del Valle Cabrera y la Dra. Ma. de la Luz Arenas Sordo, que se realiza en el Instituto Nacional de Rehabilitación, lo cual he aceptado en forma libre y voluntaria. Puedo contactarlas vía telefónica al 59-9910-00 extensiones 13504 y 19402 respectivamente.

Previamente, se me ha explicado en forma satisfactoria que la finalidad es saber si existen características genéticas que sean las causantes del tipo de parálisis cerebral infantil hemiparesia espástica, para lo que se requiere compararlas con personas sin la enfermedad. Mi caso corresponde a ser control de la madre de los pacientes, ya que yo no tengo hijos con ese padecimiento. Lo anterior se realizará a través del estudio molecular del gen del factor V de Leiden, en búsqueda de la mutación (cambio en el gen). Para tal efecto, es necesaria la toma de una muestra de sangre de 3 ml por medio de punción venosa, con un riesgo mínimo, como lo es la formación de un hematoma (moretón). Entiendo que de esta investigación se derivará como beneficio el mejor conocimiento de la enfermedad. El producto biológico, hereditario (DNA) que se obtendrá de la sangre no se utilizará con otra finalidad que la de estudios de coagulación.

Asimismo, se me ha explicado que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación, y que estoy en libertad de negarme a participar en el presente estudio, en tal caso la atención que recibo en esta Institución no se verá afectada. Solamente se requerirá de mi participación cuando done la sangre necesaria para el estudio.

Nombre

Firma

Testigo. Nombre y firma

Testigo. Nombre y firma

Teléfono:

Teléfono:

Genetic Testing and Molecular Biomarkers

Genetic Testing and Molecular Biomarkers: <http://mc.manuscriptcentral.com/genetic-testing>

LEIDEN V FACTOR AND SPASTIC CEREBRAL PALSY IN MEXICAN CHILDREN

Journal:	<i>Genetic Testing and Molecular Biomarkers</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Articles
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Arenas-Sordo, Maria de la Luz; Instituto Nacional de Rehabilitación, Genetics Zavala-Hernandez, Cesar; Instituto Nacional de Rehabilitacion, Clinical laboratory Casiano-Rosas, Cesar; Instituto Politecnico Nacional, Haematopathology laboratory Reyes-Maldonado, Elba; Instituto Politecnico Nacional, Haematopathology laboratory Ríos-Castañeda, Luis; Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Neurochemistry Hernandez-Zamora, Edgar; Instituto Nacional de Rehabilitacion, Genetics Del Valle-Cabrera, Martha; Sistema Nacional DIF, Rehabilitation Yamamoto-Furusho, Jesus; Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutricion, Gastroenterology
Keyword:	Factor V Leiden

SCHOLARONE™
Manuscripts

1
2
3 LEIDEN V FACTOR AND SPASTIC CEREBRAL PALSY IN MEXICAN
4 CHILDREN
5
6
7
8
9

10 María de la Luz Arenas-Sordo* MSc, César Zavala-Hernández† PhD, César
11 Casiano-Rosas† MSc, Elba Reyes-Maldonado† PhD, Luis C Ríos-Castañeda‡
12 PhD, Edgar Hernández-Zamora* PhD, Martha G Del Valle-Cabrera# MD, Jesús
13 K Yamamoto- Furusho** PhD.
14
15
16
17
18
19

20
21
22 *Genetics Department, National Institute of Rehabilitation (INR)
23

24 †National School of Biological Science. IPN
25

26 ‡Clinical Laboratory Department INR
27

28 ††Neurochemical Department. INNN
29

30 #Rehabilitation Board. Sistema Nacional DIF
31

32 **Gastroenterology Department. INNSZ
33
34
35
36
37
38
39

40 Corresponding author

41 María de la Luz Arenas Sordo

42 Av.México-Xochimilco 289. Col, Arenal de Guadalupe Tlalpan 14389.
43

44 México, DF
45

46 Tel. (55) 5999-1000 ext 19402, Fax (55) 56-45-56-03
47

48 mlarenassordo@hotmail.com, marenas@inr.gob.mx, asgk@unam.mx
49
50
51
52
53
54
55
56

57 Running title: Leiden V factor and other risk factors for CP
58
59
60

Abstract

Aim. Cerebral palsy is a persistent motor disorder which appears before the patient is 3yrs. old due to a non progressive interference in the brain's development which takes place before the central nervous system growths is complete. Causes of this have been studied and one which has been proposed for spastic hemiparesis cerebral palsy is the Leiden mutation of V factor coagulation. We want to know if in our population this mutation can cause a cerebral palsy.

Materials and methods. We carried out a study of cases and controls with 94 patients with spastic hemiparesis CP and 120 controls as well as their mothers with their controls.

Results. None of the patients, their mothers or controls, had the Leiden mutation, however, other risk factors were significant. Hypoxia OR 7.189 (2.546, 20.302) $p=0.0001$, smoking OR 16.621 (2.945, 93.818) $p=0.001$, maternal infections (urinary or vaginal) OR 7.040 (2.952, 16.789) $p=0.0001$, weeks of gestation OR 0.866(0.7750, 0.999) $p=0.048$ and maternal age OR 1.114 (1.031, 1.204) $p=0.006$.

Conclusion. Leiden Mutation of factor V, is not an important factor for our Mexican mestizo population, however, there are other important perinatal risk factors.

1
2
3 Introduction.

4
5 The concept of cerebral palsy (CP) has been created to include different
6
7 neurological sequels which affect our motor sphere. In 1958 the first accepted
8
9 definition was published by Mac-Keith and Polani "CP is a persistent motor
10
11 disorder appearing before the age of 3 due to a non progressive interference in
12
13 the development of the brain taking place before the growth of the central
14
15 nervous system (CNS) is complete" (1,2)

16
17 Since then, several definitions have been proposed which blend the original and
18
19 diverse classifications pay attention to etiological criteria, functional or clinical-
20
21 topographic according to the predominant motor alteration and its distribution.
22
23 (2, 3, 4, 5)

24
25
26
27 The meeting to define and classify CP, which took place in Bethesda, in 2004,
28
29 defines it as: "A group of movement development and posture disorders limiting
30
31 activity due to non progressive alterations occurring in the developing brain of
32
33 the fetus or the small child. The motor disorder is frequently accompanied by
34
35 alterations in sensitivity, cognition, communication, perception, behavior and/or
36
37 epileptic crises." (1).

38
39
40 Factor V Leiden mutation, named after the Dutch city in which it was first
41
42 described, is characterized by a mutation, the substitution of adenine for
43
44 guanine in the 1691 (G1691A) nucleotide of chromosome 1 which synthesizes
45
46 an abnormal protein, arginine by glutamic in the 506 position (Arg506Glu),
47
48 conditioning resistance to the anticlotting action of activated C protein
49
50 (APCR). Mutated factor V becomes resistant to the Activated C protein and
51
52 consequently produces more thrombin and a state of hyper clotting first
53
54 described by Dahlback et al. (6,7). Heterozygosis for Leiden Factor V
55
56
57
58
59
60

1
2
3 increases vein thrombosis risk by 7 times and 80 times if it is due to a
4
5 homozigotic state for this factor (8).
6

7 Halliday and cols. came to the conclusion that there could be a relationship
8
9 between the state of the carrier of the mutation both in the products as in their
10
11 mothers which predispose the infant to thrombophilia and cerebral vascular
12
13 accident.
14

15
16 Prevalence of Leiden mutation is very variable in the different populations and
17
18 goes from 5% (10) up to 15% (11). In Mexico there are two studies, one
19
20 mentioning high prevalence (12) and the other opposite (13).
21

22
23 Material and methods.

24
25 An observational study was carried out of cases and controls. 94 cases and 120
26
27 controls where gathered from the pediatric population and from the mothers of
28
29 the cases and their controls -130-. Both control groups where of the clinical
30
31 laboratory.
32

33
34 Both, cases and controls were handed a questionnaire of the different variables:
35
36 age, sex, jaundice, hypoxia, weight at birth, Apgar score, alcoholism, smoking
37
38 and infections during pregnancy.
39

40
41 For the molecular and biochemical tests, a 10 ml blood sample was taken. The
42
43 biochemical test consisted in the search for the resistance to activated C protein
44
45 through a commercial APCtm V Resistance kit. (IL Diagnostic brand) in
46
47 automated IL equipment. The molecular test consisted in the search of change
48
49 of bases, through PCR in real time.
50

51
52 Results.

53
54 Of the 94 patients studied, 41 (44%) were girls and 53 (56%) boys. Boy controls
55
56 were 47 (41%) and girls 67 (59%).
57
58
59
60

1
2
3 In all studied cases and controls only in 2 occasions positive APCR appeared
4 with values less than 2. One in a CP patient (1.91), and the mother of a patient
5 (1.88). None of the controls presented it. The Leiden mutation was not found in
6 any of the cases or controls.
7
8

9
10
11 From the other risk factors the following was found: Table No. 1

12
13
14 When these odds ratio were adjusted, we found out the following: Table No. 2

15
16 The second adjustment showed the following: Table 3

17
18 The Hosmer and Lemeshow test showed a $p=0.139$

19
20 Discussion.

21
22 Our study shows, as was found by Majluf-Cruz et al. , that the Leiden factor V
23 polymorphism is not very common in our population (13) since we did not find it
24 in any of the patients, their mothers or controls. Recently our group, with
25 different patients found the same (14). We observe that within our population it
26 is not a risk factor, neither RPCa nor Leiden V factor. However, we do find
27 other factors which continue to be a risk, one of the most important one is to
28 have had a degree of perinatal hypoxia. This always showed a significant
29 difference as has also been mentioned by several authors (15, 16). In general
30 this risk is practically not present in developed countries but it is in developing
31 ones. Another important fact was the gestational weeks. The neurological
32 maturity, parallel to gestational weeks, is a very important point for the
33 development of CP also analyzed by some authors as Beaino et al., Vukojevic
34 et al., Odding et al. (17, 18, 19)

35
36
37 Other risk factors that were found were vaginal and urinary infections of the
38 mothers, with a $p=0.001$, some authors have documented association (20). It is
39 important to consider that medication used also affect although tested
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 medication was mostly used such as ampicillin and intravaginal metronidazole
4
5 ovules.

6
7 Another risk factor we found was tabaquism, little mentioned in relation to CP
8
9 but a lot in reference to the weight of the fetus. Although several authors
10
11 mention weight as a risk factor, our patients never had such a low weight as to
12
13 represent a risk and while adjusting the odds ratio, it was of no significance.
14
15

16 Regarding the gestational weeks, it was very evident this was a protection
17
18 factor. On the other side, the threat of abortion or premature birth lost all
19
20 importance with adjustments. However, it is still a factor indicating a previous
21
22 problem thus we must wait for the patients to present a pathology. (21).
23
24

25 As a conclusion we can say our Mexican mestizo population, Factor V Leiden
26
27 thrombophilia and APCR do not show any relevance since none of the patients,
28
29 mothers or controls presented the mutation contrary to what has been
30
31 described for other populations (22, 23, 24, 25,26) without discarding other
32
33 causes for the cerebral vascular accident, but other risk factors to develop CP
34
35 are still relevant.
36
37
38
39
40
41
42

43 Acknowledgments

44
45 This work received support given to Dr. Elba Reyes-Maldonado by the
46
47 Foundation "Gonzalo Río Arronte" and IL Diagnostic Mexico.

48
49 We thank Dr. Victoria Campos for the equipment facilities and Ms Diane Nadine
50
51 Goslinga Krijnen who helped us with the translation.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

References.

1. Bax M, Goldstein M, Rosenbaum P et al.(2005) Executive Committee for the Definition of Cerebral Palsy. Proposed definition and classification of cerebral palsy, April 2005. *Dev Med Child Neurol* 47(8):571-6.
2. Morris C. (2007) Definition and classification of cerebral palsy: a historical perspective. *Dev Med Child Neurol* 109(Suppl):3-7.
3. Mantovani JF.(2007) Definition and Classification of cerebral palsy: medical-legal and service implications. *Dev Med Child Neurol Suppl* 109: 42.
4. Alberman E, Mutch L. (2007) Commentary on the revised versions on the definition and classification of cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 109: 32
5. O'Shea TM, Klinepeter KL, Dillard RG (1998) Prenatal events and the risk of cerebral palsy in very low birth weight infants. *Am J Epidemiol* 147(4):362-9
6. Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ (1993) Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90(3):1004-1008
7. Svensson PJ, Dahlbäck B (1994) Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis. *N Engl J Med* 330(8):517-22.
8. Pérez Martínez A, Cerezo Bueno MJ, García Peñas JJ et al (2005) Benign intracranial hypertension and heterozygosity for factor V Leiden mutation. *An Pediatr (Barc)* 63(2):172-4.

- 1
2
3 9. Halliday JL, Reddihough D, Byron K et al (2000) Hemiplegic cerebral palsy
4 and the factor V Leiden mutation. *J Med Genet* 37(10):787-9.
5
6
- 7 10. Zahed LF, Rayes RF, Mahfouz RA et al (2006) Prevalence of factor V
8 Leiden, prothrombin and methylene tetrahydrofolate reductase mutations in
9 women with adverse pregnancy outcomes in Lebanon. *Am J Obstet*
10 *Gynecol* 195(4):1114-8.
11
12
- 13 11. Svensson PJ, Zöller B, Mattiasson I et al (1997) The factor VR506Q
14 mutation causing APC resistance is highly prevalent amongst unselected
15 outpatients with clinically suspected deep venous thrombosis. *J Intern Med*
16 *241*(5):379-85.
17
18
- 19 12. Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Valdés-Tapia P et al (2005) Primary
20 thrombophilia in Mexico. V. A comprehensive prospective study indicates
21 that most cases are multifactorial. *Am J Hematol* 78(1):21-6.
22
23
- 24 13. Majluf-Cruz A, Moreno-Hernández M, Ruiz-de-Chávez-Ochoa A et al.
25 (2008) Activated protein C resistance and factor V Leiden in Mexico. *Clin*
26 *Appl Thromb Hemost* 14(4):428-37.
27
28
- 29 14. Zavala Hernández C, Hernández Zamora E, Martínez Murillo C et al (2010)
30 Association of resistance to activated protein to presence of Leiden and
31 Cambridge Factor V mutations in mexican patients with primary
32 thrombophilia. *Cir Cir* 78(2):127-32.
33
34
- 35 15. Bringas-Grande A, Fernández-Luque A, García-Alfaro C et al (2002)
36 Cerebral palsy in childhood: 250 cases report. *Rev Neurol* 35(9):812-7.
37
38
- 39 16. González de Dios J, Moya M (1996) Perinatal asphyxia, hypoxic-ischemic
40 encephalopathy and neurological sequelae in full-term newborns. II.
41 Description and interrelation. *Rev Neurol* 24(132):969-76.
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 17. Beaino G, Khoshnood B, Kaminski M et al (2010) Predictors of cerebral
4 palsy in very preterm infants .EPIPAGE Study Group. Dev Med Child
5 Neurol. Jun;52(6):e119-25.
6
7
- 8
9 18. Vukojević M, Soldo I, Granić D (2009) Risk factors associated with cerebral
10 palsy in newborns. Coll Antropol 33(2):199-201.
11
12
- 13 19. Odding E, Roebroek ME, Stam HJ (2006) The epidemiology of cerebral
14 palsy: incidence, impairments and risk factors. Disabil Rehabil 28(4):183-
15 91.
16
17
- 18 20. Mann JR, McDermott S, Bao H et al (2009) Maternal genitourinary
19 infection and risk of cerebral palsy. Dev Med Child Neurol 51(4):282-8.
20
21
- 22 21. Kułak W, Okurowska-Zawada B, Sienkiewicz D et al (2010) Risk factors for
23 cerebral palsy in term birth infants. Adv Med Sci 55(2):216-21.
24
25
- 26 22. Gibson CS, MacLennan AH, Goldwater PN et al (2003) Antenatal causes
27 of cerebral palsy: associations between inherited thrombophilias, viral and
28 bacterial infection, and inherited susceptibility to infection. Obstetrical and
29 Gynecological survey. 58(3): 209-220.
30
31
- 32 23. Nelson KB (2006) Thrombophilias, perinatal stroke and cerebral palsy.
33 Clinical Obstetrics and gynecology. 49(4):875-84.
34
35
- 36 24. Reid S, Halliday J, Ditchfield M et al (2006) Factor V Leiden mutation: a
37 contributory factor for cerebral palsy? Dev Med Child Neurol 48(1):14-9.
38
39
- 40 25. Kenet G, Nowak-Göttl U (2006) Fetal and neonatal thrombophilia. Obstet
41 Gynecol Clin North Am 33(3):457-66.
42
43
- 44 26. Gawish GE (2011) Molecular characterization of factor V leiden G1691A
45 and prothrombin G20210A mutations in Saudi newborns with stroke.
46
47
- 48 Biochem Genet 49(9-10): 601-10
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Tables.

Table 1. Crude odds ratios for determinants.

Table 2. Adjusted odds ratios for the determinants

Table 3. Saturated model for the determinants

For Peer Review

Authors data

César Zavala Hernández.
Av.México-Xochimilco 289. Col, Arenal de Guadalupe
Tlalpan 14389.DF
cezaher@yahoo.com.mx
Tel. 5999-1000 Ext 16105

César Casiano Rosas
Prolongación de Carpio y Plan de ayala s/n. Col. Santo Tomás
Miguel Hidalgo 11340 DF
cesar_cr82@hotmail.com
Tel. 0445531170259

Elba Reyes Maldonado
Prolongación de Carpio y Plan de ayala s/n. Col. Santo Tomás
Miguel Hidalgo 11340 DF
elbareyesm@gmail.com
Tel. 5729-6000

Luis C Ríos Castañeda
Insurgentes Sur 3877. Col. La Fama. 14269 Tlalpan. DF
crios@correo.xoc.uam.mx
Tel.56063822 Ext 2006

Edgar Hernández Zamora
Av.México-Xochimilco 289. Col, Arenal de Guadalupe
Tlalpan 14389.DF
edgarhz1969@yahoo.com.mx
Tel 5999-1000 ext 19402

Martha G Del Valle Cabrera.
Insurgentes Sur 3700-B. Col. Cuicuilco
04530 Coyoacán, DF
grisedelvalle@hotmail.com
Tel. 0445554315825

Jesús Kazuo Yamamoto Furusho
Vasco de Quiroga 15. Col. Sección XVI
14000 Tlalpan, DF
kazuofurusho@hotmail.com
0445537085809

Reviewers:

Elena Arellano MD. Instituto Nacional de Rehabilitación. Cerebral palsy
department. Mexico City
elenarellanomx@yahoo.com.mx
5999-1000 ext 13501

1
2
3
4 Carlos P. Viñals L MD. Instituto Nacional de Rehabilitación. Cerebral palsy
5 department. Rehabiqba Mexico City.
6 vinalsl@yahoo.com.mx
7
8 Tel. 0445543542361

9
10 Guadalupe Morales O.MD Instituto Nacional de Rehabilitación. Cerebral palsy
11 department. Mexico City
12 gmoraleso@yahoo.com.mx
13 Tel.5999-1000 ext 13502
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Tables.

Table 1. Crude odds ratios for determinants.

Variables	OR	P
jaundice	4.533 (2.17, 9.46)	0.0001
hypoxia	6.751 (3.127, 14.575)	0.0001
seizures	13.263 (2.990, 58.828)	0.0001
tabaquism	7.5 (2.101, 26.767)	0.0001
Infections	3.320 (1.834, 6.011)	0.0001
Pre-eclampsia/eclampsia		0.0001
threatened abortion/premature birth		0.0001
Apgar 3'		0.0001
Apgar 5'		0.0001
Gestational weeks		0.0001
weight		0.714
Maternal age		0.001

Table 2. Adjusted odds ratios for the determinants

Variables	OR	P
weight	1.0 (0.999, 1.001)	0.818
Apgar 3'	1.236 (0.849, 1.797)	0.269
Apgar 5'	0.520 (0.317, 0.854)	0.010
Jaundice	1.394 (0.339, 5.73)	0.645
Gestational weeks	0.847 (0.712, 1.008)	0.062
Hypoxia	6.675 (1.762, 25.284)	0.005
Seizures	0.343 (0.051, 2.32)	0.273
Pre-eclampsia/eclampsia	2.71 (0.736, 9.980)	0.134
Tabaquism	0.077 (0.011, 0.554)	0.011
Infections	0.168 (0.083, 0.449)	0.0001
threatened abortion/premature birth		0.105
Maternal age	1.148(1.049, 1.257)	.003

Table 3. Saturated model for the determinants

	OR	P
Gestational weeks	0.866 (0.7750, 0.999)	0.048
Hypoxia	7.189 (2.546, 20.302)	0.0001
Tabaquism	16.621 (2.945, 93.818)	.001
Infections	7.040 (2.952, 16.789)	0.0001
Maternal age	1.114 (1.031, 1.204)	0.006