



**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA**  
**FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA**  
**DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE PEDIATRICHE**  
**XXIII CICLO**  
**COORDINATORE: PROF. G. SORGE**

---

**DOTT. CASTELLANO CHIDO DANILLO**

**STROKE ISCHEMICO ARTERIOSO PERINATALE:  
VALUTAZIONE CLINICA E DEI FATTORI DI RISCHIO ASSOCIATI**

**TESI DI DOTTORATO**

**ANNO ACCADEMICO 2010-11**

**TUTOR  
PROF. G.SORGE**

## **INTRODUZIONE**

Si definisce “stroke” un deficit neurologico focale o globale a rapida insorgenza, della durata superiore a 24 ore e ad eziopatogenesi vascolare. I fenomeni transitori di sofferenza cerebrale focale che regrediscono in meno di 24 ore vengono definiti “attacchi ischemici transitori” o TIA. Gli episodi stroke-like sono invece caratterizzati da un deficit neurologico focale della durata superiore a 24 ore, in assenza di patologie vascolari. Nel 50-60% dei casi lo stroke è di tipo ischemico, mentre nei restanti casi è di natura emorragica e secondario a malformazioni arterovenose, aneurismi, traumi, disordini emocoagulativi (1).

Lo stroke ischemico perinatale, in occasione di un Workshop Internazionale svoltosi nel 2006, è stato definito come “un gruppo di condizioni eterogenee in cui vi è un’ interruzione focale del flusso ematico cerebrale secondaria a trombosi o embolia arteriosa o venosa cerebrale, tra le 20 settimane di vita fetale fino al 28° giorno post-natale, confermata da studi neuroradiologici o neuropatologici” (2).

Sono state suggerite tre sottocategorie di stroke ischemico perinatale:

- “stroke ischemico fetale”: diagnosticato prima della nascita mediante tecniche di diagnostica per immagini fetale o nel neonato nato morto tramite esami neuropatologici;
- “stroke ischemico neonatale”: diagnosticato dopo la nascita e prima del 28° giorno di vita post-natale (anche in caso di parto pretermine);
- “stroke ischemico perinatale presunto”: diagnosticato in bambini oltre i 28 giorni di età, in cui si presume (ma non è certo) che l’evento ischemico sia avvenuto tra la 20<sup>a</sup> settimana di vita fetale ed il 28° giorno post-natale. Tale definizione si basa sull’ipotesi che un infarto avvenuto in epoca successiva sarebbe sintomatico nel momento stesso dell’evento ischemico.

Lo stroke ischemico è generalmente correlato a fenomeni tromboembolici e riconosce da un punto di vista etiopatogenetico una origine multifattoriale; i principali quadri clinici comprendono lo stroke ischemico arterioso e la trombosi cerebrale dei seni venosi (3, 4).

Con un'incidenza che varia da 1/2800 a 1/5000 nati vivi, lo stroke ischemico arterioso perinatale è la più frequente forma di infarto cerebrale in età pediatrica.

L'elevata morbilità (60% dei casi) e la ricorrenza (10-25%) hanno negli ultimi anni sensibilizzato il mondo scientifico allo studio dei fattori di rischio congenito e acquisito e alla ricerca di nuove strategie terapeutiche, oltre che di prevenzione e di riabilitazione.

Lo stroke perinatale interessa quasi esclusivamente il neonato a termine ed è responsabile del 10-15% dei casi di convulsione neonatale (5). L'aumentata vulnerabilità allo stroke e alle trombosi presente sia nella madre, dove il rischio è 34 volte superiore nel periodo che va da due giorni prima ad 1 giorno dopo il parto, che nel neonato, è probabilmente secondaria ad una fisiologica e protettiva iperattivazione dei meccanismi di coagulazione durante il parto.

L'infarto ischemico cerebrale perinatale è stato per la prima volta descritto in letteratura da Sir William Osler il quale nel 1892 riportò 15 bambini affetti da emiparesi congenita, nei quali non vi

erano evidenze di traumi o di infezioni pregresse; successivamente 5 anni dopo Sigmund Freud aggiunse altri 61 soggetti alla precedente descrizione (6, 7).

I meccanismi attraverso cui lo stroke avviene comprendono i tromboembolismi a partenza dai vasi intra o extracranici, dal cuore o dalla placenta; la stragrande maggioranza degli infarti interessa il territorio dell'arteria cerebrale media con una netta prevalenza dell'emisfero di sinistra. La distribuzione e l'estensione dell'area ischemica differisce notevolmente in rapporto all'età gestazionale; infatti i prematuri (34°-36° settimana) tendono a presentare lesioni multifocali che interessano le branche terminali corticali o lenticolostriate della cerebrale media, mentre i neonati a termine hanno una occlusione della branca principale.

Tra i fattori di rischio (vedi tabella 1) vengono considerate le cardiopatie congenite, i disordini acquisiti e congeniti della coagulazione, le infezioni, i traumi, il cateterismo dei vasi ombelicali, l'asfissia, la disidratazione, le patologie materne (malattie autoimmuni, infezioni, esposizione a cocaina,

trasfusione fetto-fetale) e quelle placentari (trombosi, infezione, emorragie, distacco intempestivo) (8). Con il termine trombofilia genetica si definisce una condizione ereditaria complessa nella quale si ha una storia familiare positiva, un esordio in età giovanile ed una ricorrenza di eventi cerebrovascolari. Oltre ai deficit di proteina S, di proteina C e di antitrombina, i principali fattori genetici di ipercoagulabilità sono rappresentati dalla resistenza alla proteina C attivata o fattore V di Leiden, dal gene della protrombina e dalla variante termolabile dell'enzima metilene-tetraidrofolato-reduttasi (MTHFR) (9). La resistenza alla proteina C attivata è un disordine secondario ad una mutazione puntiforme (G1691A) del gene del fattore V di Leiden, un cofattore essenziale per l'attivazione della protrombina a trombina. Il suo effetto procoagulante viene fisiologicamente inibito dalla proteina C attivata che normalmente lo taglia in tre parti; una mutazione del gene del fattore V determina quindi una resistenza alla proteina C attivata che si traduce in un'aumentata attività procoagulante rispetto la popolazione generale, in particolare in una maggiore tendenza

alle trombosi venose. In Italia la frequenza degli eterozigoti è del 2-3% e la mutazione in omozigosi si presenta con una incidenza di 1:5000.

Il polimorfismo del gene per la protrombina (G20210A) è una variante genica associata ad elevati livelli di protrombina o fattore II funzionale nel plasma, che determina un aumentato rischio di trombosi, specie venose. La frequenza genica della variante è bassa, con una percentuale di eterozigoti del 2-3%, mentre rara è la mutazione in omozigosi.

Elevati livelli di omocisteina plasmatica vengono attualmente considerati fattori di rischio per malattia vascolare, in particolare trombosi arteriosa, per un meccanismo mediato dai gruppi sulfidrilici sull'endotelio dei vasi. Ciò è stato dimostrato nei soggetti portatori di un polimorfismo genetico dell'enzima metilene tetraidrofolato reduttasi (MTHFR) coinvolto nel metabolismo del tetraidrofolato. Questa mutazione, nota come C677T può essere presente sia in eterozigosi (42-46%) che in omozigosi (10-12%) e può quindi determinare un aumentato rischio cerebrovascolare (10).

Per quanto riguarda gli aspetti clinici dello stroke perinatale, si identificano due gruppi di pazienti. Un primo gruppo comprende quei neonati che presentano alla nascita o nei primi giorni di vita una sintomatologia ingravescente caratterizzata da crisi convulsive spesso associate a turbe del sensorio, ipotonia ed apnea, e nei quali le indagini neuroradiologiche (ecografia cerebrale, TC ed RM) documentano un infarto cerebrale. In un secondo gruppo di pazienti, la diagnosi di stroke perinatale viene posta tardivamente (diagnosi retrospettiva), intorno al 6-8° mese di vita in seguito al riscontro clinico di anomalie di lato (emiparesi) o alla comparsa di crisi convulsive parziali (11).

Lo scopo di questo studio retrospettivo è quello di valutare i fattori di rischio congenito ed acquisito, gli aspetti clinici, i dati di laboratorio e strumentali in bambini affetti da infarto cerebrale perinatale, ricoverati dal gennaio 1996 al settembre 2011 presso l'U.O. di Clinica Pediatrica del Dipartimento di Pediatria dell'Università di Catania.

## **MATERIALI E METODI**

Sono stati selezionati 10 pazienti, 4 maschi e 6 femmine. I criteri di inclusione per questo studio erano:

- 1) Bambini con diagnosi presunta di stroke perinatale e con presentazione clinica precoce (crisi convulsive) o tardiva (anomalie di lato, crisi convulsive).
- 2) Indagine neuroradiologica (TC o RM encefalo) che documentava la presenza di patologia vaso-occlusiva a carico delle arterie cerebrali.

Sono stati esclusi dallo studio i soggetti con storia di traumi recenti, quelli affetti da meningoencefalite, tumori e drepanocitosi. Di ogni paziente è stata fatta una valutazione anamnestica per la ricerca di eventuali fattori di rischio familiare, ed in particolare ostetrico (cardiopatie congenite, anomalie congenite e/o secondarie della coagulazione, infezioni, traumi, patologie materne, disordini placentari). È stata presa in considerazione l'età gestazionale, l'età di esordio della sintomatologia e l'età alla diagnosi. In relazione a ciò sono state

distinte due categorie, quella in cui la diagnosi di evento cerebrovascolare acuto è stata posta nei primi giorni di vita e quella in cui la diagnosi è stata fatta retrospettivamente, intorno al primo anno di vita. Sono stati valutati i principali segni e sintomi di esordio. Oltre allo studio neuroradiologico effettuato mediante ecografia cerebrale, TC e/o Risonanza Magnetica (RM), e angio RM che ha permesso di identificare la presenza in tutti i soggetti di infarti nel territorio dell'arteria cerebrale media, è stato effettuato uno screening metabolico (aminoacidemia, isoelettrofocusing sialotransferrina), infettivologico (TORCH) oltre ad un assetto emocoagulativo completo (PT, PTT, fibrinogeno, dosaggio della proteina S, proteina C e dell'antitrombina III). E' stata inoltre eseguita la ricerca dei principali disturbi tromboembolici congeniti (in particolare il fattore V di Leiden, il fattore II G20210A e la variante della metilene-tetraidrofolato riduttasi) oltre al dosaggio dell'omocisteinemia con metodo HPLC.

## **RISULTATI**

Dei 10 bambini studiati (6 femmine e 4 maschi) l'età media alla diagnosi era di 256 gg, pari a 8 mesi e 15 gg (range: 1 giorno - 2 anni) e l'età media attuale è di 6 anni e 9 mesi (range: 3 anni - 10 anni). Nella tabella 2 vengono riassunti i principali dati clinico-anamnestici.

In due pazienti la diagnosi di infarto cerebrale è stata posta in epoca neonatale (rispettivamente al primo e al terzo giorno di vita) mentre nei restanti otto è stata effettuata in quasi tutti entro il primo anno di vita (range: 5 mesi - 2 anni); solamente in due bambini la diagnosi è stata più tardiva, in particolare all'età di 18 mesi e di 2 anni.

Per quanto riguarda l'età gestazionale, 8 bambini erano nati a termine ed in particolare due alla 38°, uno alla 39° e cinque alla 40° settimana di gestazione; gli altri due soggetti erano di poco pretermine, nati alla 36 ° settimana, con un peso superiore ai 2500 grammi. Dei 10 bambini, 4 (40 %) hanno presentato asfissia alla nascita, motivo per cui sono stati sottoposti a rianimazione in sala parto; 2 di questi appartenenti al gruppo delle diagnosi in

epoca neonatale sono nati alla 40° e 36° settimana di gestazione, mentre gli altri due, con diagnosi tardiva di stroke, sono nati alla 40° e 38° settimana di gravidanza.

Dalla valutazione anamnestica, si è evidenziato che in tre bambini era presente familiarità per patologie cerebrovascolari, e di questi in due vi era una storia di stroke insorto in età adulta mentre il fratello di un paziente era deceduto all'età di 2 anni in seguito ad emorragia cerebrale da causa imprecisata. La madre di una bambina era affetta da sclerosi multipla ed un'altra era omozigote per il gene C677T dell'enzima MTHFR.

Uno studio accurato dei fattori di rischio gestazionali ha documentato che tre gravidanze su dieci erano decorse fisiologicamente, in due vi erano state minacce d'aborto nel primo trimestre ed in una minacce di parto pretermine. Due gravidanze erano decorse con gestosi, un'altra con diabete gestazionale, una con oligoidramnios ed infine una con infezione da candida.

## **Aspetti clinici e strumentali**

Come si evince dalla tabella 2, nei due pazienti in cui la diagnosi è stata posta nei primi giorni di vita, i sintomi di esordio sono state le crisi convulsive, di tipo focale in uno e tonico-cloniche generalizzate nell'altro. Nel gruppo degli otto pazienti con diagnosi tardiva di stroke perinatale, 6 (il 60% di tutti casi) hanno presentato come sintomo di esordio anomalie di lato e/o di postura da riferire ad una emiparesi, una bambina di 5 mesi oltre all'emiparesi era affetta da crisi convulsive del tipo spasmi infantili, ed infine una bambina di 6 mesi ha manifestato crisi convulsive sempre del tipo spasmi in flessione.

Per quanto riguarda i dati neuroradiologici, tutti i pazienti sono stati sottoposti ad esame RM encefalo, e in 5 di questi è stato eseguito anche l'esame angio RM. E' stata evidenziata la presenza di esiti di una trombosi dell'arteria cerebrale media di sinistra in 9 soggetti su 10 (pari al 90% dei casi), e di questi ben sette presentavano una ostruzione della branca principale dell'arteria, mentre in due bambini, nati rispettivamente alla 36° e alla 40° settimana, è stata documentata una trombosi dei rami terminali della cerebrale media. Soltanto in una bambina di 9

mesi, affetta da emiparesi sn, si è rilevata la presenza di una vasta area malacica stabilizzata da ostruzione della branca principale della cerebrale media di destra.

Nella figura 1 la Risonanza Magnetica dell'encefalo documenta la presenza di un esteso focolaio "triangolare" malacico in regione fronto-temporo-insulo-parietale sinistra da trombosi della branca principale della cerebrale media.

Nella figura 2 (RM) si evidenzia la presenza di cavità cistiche pluriconcamerate stabilizzate da esiti di trombosi dell'arteria cerebrale media di sinistra. La figura 3 (RM) rivela una marcata ipotrofia dell'emisfero cerebrale sinistro da ostruzione dei rami terminali della cerebrale media.

La valutazione clinica attuale ha evidenziato la presenza in tutti i soggetti di emiparesi, anche se in un bambino di 5 anni era lieve ed interessava soltanto la gamba di destra. Altri segni e sintomi neurologici osservati erano il ritardo mentale (da lieve a moderato) in 6 pazienti su 10 e le turbe del comportamento in un bambino di 10 anni consistenti in disturbi di tipo ossessivo-compulsivo.

E' stato studiato il rapporto tra epilessia e stroke arterioso perinatale; su 10 bambini, soltanto tre (30%), rispettivamente dell'età attuale di 3, 4 e di 5 anni non avevano presentato crisi convulsive, pur in presenza di anomalie elettroencefalografiche di tipo focale. Tra gli altri 7 bambini, una paziente dell'età di 10 mesi aveva presentato crisi convulsive febbrili complesse (emilateralizzate), tre erano affetti da sindrome degli spasmi infantili, due bambini presentavano una epilessia parziale complessa ed un paziente oltre che da una forma focale era affetto da crisi "riflesse".

Al follow-up che variava dai 6 mesi ai 9 anni dalla diagnosi (media 5 anni e 6 mesi), nessuno dei bambini con una storia di stroke perinatale sia sintomatico che tardivo ha presentato infarti cerebrali ricorrenti nelle età successive.

### **Esami di laboratorio e profilo coagulativo**

Tutti i pazienti dello studio sono stati sottoposti ad esami di laboratorio routinari di primo livello compresi emocromo, glicemia, funzionalità epatica e renale che non hanno evidenziato alterazioni significative; è stato inoltre eseguito uno screening infettivologico (TORCH), metabolico (mediante dosaggio degli aminoacidi plasmatici ed isolettrofocusing delle sialotranferrine) ed ecocardiografico doppler risultato nella norma. Dalla valutazione emocoagulativa completa (PT, PTT, fibrinogeno, antitrombina III, proteina S, proteina C) non si sono riscontrate alterazioni significative della coagulazione, ad eccezione di una paziente dell'età di 8 anni che presenta un deficit parziale di proteina C con valori intorno al 35-40%; la ricerca inoltre degli anticorpi anti-cardiolipina e del lupus anticoagulante ha dato esito negativo in tutti i pazienti.

### **Fattori di rischio protrombotico**

Sono stati ricercati la mutazione G1691A di Leiden nel gene del fattore V della coagulazione (gene F5 cr. 1q23), la mutazione G20210A nel gene del fattore II della coagulazione (gene F2 cr.

4q28), i polimorfismi PAI-1 4G nel gene dell'Inibitore dell'attivazione del plasminogeno di tipo 1 (cr. 7q21.3-q22), la mutazione C677T nel gene dell'enzima Metilenetetraidrofolato reduttasi o MTHFR (cr. 1p36.3) con amplificazione genica e tipizzazione mediante PCR-SSO su DNA estratto dai leucociti di sangue periferico. E' stato eseguito anche il dosaggio dell'omocisteinemia mediante HPLC, dei folati e della vitamina B12.

Nella tabella 3 sono riassunti i principali dati relativi all'assetto coagulativo ed ai fattori di rischio protrombotico (12). In nessun paziente è stata trovata la mutazione né allo stato eterozigote che in omozigosi del fattore V di Leiden; riguardo alla mutazione nel gene della protrombina, in una paziente dell'età attuale di 4 anni è stata riscontrata la mutazione in eterozigosi.

La ricerca dei polimorfismi nel gene PAI-1 4G ha permesso di identificare cinque soggetti omozigoti (50 %) ed un eterozigote. Infine la ricerca della mutazione C677T relativa all'enzima MTHFR ha portato alla identificazione di quattro soggetti omozigoti, di un eterozigote e di un eterozigote composto; nei quattro pazienti omozigoti per l'MTHFR e anche negli altri

bambini dello studio è stato effettuato il dosaggio della omocisteina plasmatica mediante HPLC che non ha evidenziato aumenti al di sopra dei valori di riferimento (v.n. < 14-15  $\mu\text{mol/l}$ ), oltre a quello dei folati e della vitamina B12, anch'essi risultati nella norma. In conclusione, da una valutazione complessiva dei fattori di rischio presunti e conosciuti (familiari, materni, gestazionali, perinatali, protrombotici) emerge che tre bambini su 10 presentavano 4 fattori di rischio ed in particolare una bambina familiarità per stroke, eterozigote per il fattore II, omozigote per il PAI-1 4G e per la mutazione C677T; una bambina asfissia neonatale, gestosi, deficit parziale di proteina C ed omozigosi C677T ed un bambino asfissia, familiarità per stroke, gestosi ed omozigosi PAI-1 4G. Tre pazienti su 10 presentavano tre fattori di rischio; un bambino familiarità per emorragia cerebrale nel fratello, gestazionale ed omozigote C677T, una bambina familiarità per trombofilia genetica, gestazionale ed omozigote PAI-1 4G ed una paziente asfissia, diabete gestazionale ed omozigote PAI-1 4G. Un bambino presentava due fattori di rischio (gestazionale e omozigote PAI-1 4G), due soggetti un solo

fattore di rischio, asfissia neonatale in uno ed omozigote C677T  
nell'altro ed una bambina non mostrava alcun fattore di rischio.

## **DISCUSSIONE**

I due giorni che precedono e quello che segue il parto rappresentano un periodo di tempo cruciale per il rischio di stroke sia nella madre che nel bambino, il cui sistema coagulativo è immaturo e quindi più suscettibile alla formazione di trombi. Questi vengono determinati, come puntualizzato da Virchow più di 150 anni fa (13), da alcuni fattori quali l'ipercoagulabilità dei costituenti ematici, le alterazioni delle pareti vasali e la stasi del flusso sanguigno. Tutte le tre condizioni possono essere rilevanti nello stroke perinatale, il quale presenta oltre a fattori di rischio comuni allo stroke del bambino più grande e dell'adulto, dei fattori di rischio peculiari.

Lo stato coagulativo è infatti influenzato dalla presenza dell'emoglobina fetale, dalla concentrazione delle proteine fetali, dagli alti livelli di ematocrito e dall'aumento della viscosità ematica; inoltre il rapporto fra proteine coagulanti ed anticoagulanti varia in relazione all'età gestazionale e a quella postnatale, con l'attivazione della coagulazione sia nel feto che nella madre nel periodo più vicino alla nascita. Le patologie

placentari, in particolare le infezioni, attraverso un'alterazione del pattern microbiologico possono influenzare il flusso madre-placenta-feto e quindi essere concausa di eventi cerebrovascolari (8).

Nella valutazione dei fattori di rischio è proprio il contributo di quelli materni ed ostetrico-gestazionali che determina un diverso approccio clinico-anamnestico allo stroke perinatale rispetto a quello di età successive.

In un recente studio riportato da Lee e coll, eseguito su una coorte di 199.176 nati tra il 1997 ed il 2002 in una zona geografica compresa nel nord della California, sono stati selezionati 40 neonati con stroke arterioso perinatale, per una incidenza di circa 20 su 100.000 (14). La gran parte dei soggetti affetti era nata a termine (85%), e tra i fattori di rischio prepartum ed intrapartum quelli più significativi rispetto ai controlli erano la primiparità (73% vs 44%), le cardiopatie fetali (46% vs 14%), il taglio cesareo in emergenza (35% vs 13%), la corioamnioite (27% vs 11%), la rottura prolungata delle membrane (26% vs 7%), il prolungamento della fase espulsiva (25% vs 4%), l'utilizzo del vacuum (24% vs 11%), la preeclampsia (19% vs 5%) e

l'oligoidramnios (14% vs 3%). Gli autori concludevano che la presenza di più fattori determinava un aumento significativo del rischio di stroke. I dati riportati nella nostra casistica si avvicinano a quanto riportato nel Journal of American Medical Association e confermano la quasi esclusività della patologia nel neonato a termine (80%); riguardo all'ordine di genitura, la primiparità è stata riportata in cinque soggetti (50%) e alla modalità di espletamento del parto il ricorso al taglio cesareo si è verificato in 7 soggetti su 10, ma soltanto in 4 di questi tale procedura è stata eseguita in urgenza. Tra i possibili fattori di rischio ostetrico-gestazionali abbiamo riscontrato le minacce di aborto e di parto pretermine, la gestosi, il diabete gestazionale e l'oligoidramnios.

Un altro dato è quello relativo alla marcata prevalenza di infarti nell'emisfero cerebrale di sinistra con addirittura 9 casi su 10 nella nostra casistica (pari al 90%); secondo alcuni Autori ciò potrebbe essere dovuto alla persistenza del dotto arterioso di Botallo che, per le differenze emodinamiche, favorirebbe il passaggio del trombo a sinistra (15), anche se non si può comunque escludere una asimmetria vascolare legata alla posizione anatomica della carotide

comune di sinistra o un differente grado di maturazione e vulnerabilità di un emisfero rispetto all'altro (16, 17).

In numerosi lavori della letteratura è stata rilevata una prevalenza del sesso maschile rispetto al femminile (16); Golomb e coll. hanno condotto uno studio epidemiologico sullo stroke perinatale (arterioso e venoso) ed hanno identificato 66 bambini con str. arterioso di cui 41 (62%) maschi, e 32 con trombosi seno venosa di cui 25 (78%) di sesso maschile. Una spiegazione di questi risultati potrebbe essere la maggiore taglia dei maschi rispetto le femmine, anche se non si può escludere che i maschi possano più facilmente presentare quei sintomi che portano ad una diagnosi di infarto cerebrale (18). Nei nostri dati non si evince una prevalenza del sesso maschile rispetto al femminile con 6 femmine affette su 10.

Gli aspetti clinici dello stroke perinatale sono stati oggetto di numerose osservazione scientifiche; il dato più interessante è la presenza di due gruppi di pazienti, uno con presentazione acuta e "diagnosi in epoca neonatale" ed un secondo, molto più cospicuo, asintomatico nei primi giorni di vita e con "diagnosi retrospettiva". Da una recente ricerca eseguita su 231.582 neonati americani, sono

stati selezionati 38 bambini con infarto arterioso perinatale, per una incidenza di 17 casi su 100.000 nati, pari a 1:5900. Di questi, 12 (32%) avevano manifestato segni o sintomi in epoca neonatale, e in particolare 11 avevano presentato crisi convulsive tra le prime 12 ore di vita e il 10° giorno, mentre un neonato era affetto da marcata ipotonia. Il gruppo dei pazienti con diagnosi tardiva era predominante con 26 soggetti su 38 (68%): 18 avevano presentato anomalie di postura ad un emilato, 3 ritardo della deambulazione, 4 crisi convulsive e 1 crisi di apnea. Trentasei soggetti (95%) avevano sviluppato una emiplegia, un bambino con infarti bilaterali era quadriplegico ed uno presentava una paralisi di tipo coreo-atetotico.

La diagnosi ritardata era più comune nei bambini con compromissione motoria più grave, mentre i soggetti del gruppo neonatale avevano più probabilità di sviluppare l'epilessia rispetto a quelli con diagnosi retrospettiva. Erano stati osservati ritardo mentale, difficoltà dell'apprendimento e disturbi del comportamento. Riguardo infine al rapporto con l'epilessia, dei 18 bambini affetti (47%), sei presentavano una epilessia intrattabile e due la sindrome di West, mentre relativamente all'emisfero

interessato, vi era una predominanza del 70% per il sinistro, con coinvolgimento della arteria cerebrale media nel 90% dei casi (19). I nostri dati non differiscono molto da questi ultimi; vi è infatti una notevole prevalenza delle diagnosi retrospettive (80% dei casi) con le anomalie di lato come sintomo di esordio della patologia. In letteratura non si conoscono i motivi per cui lo stroke spesso non si esprime da un punto di vista clinico nei primi giorni di vita, ma solo tardivamente e con gli esiti a distanza. Ciò probabilmente dipende dal fatto che molti eventi cerebrovascolari avvengono prima del parto, in utero (11), e che quindi possano instaurarsi dei meccanismi di compenso vascolari non noti.

Il capitolo più interessante, che negli ultimi anni è stato ed è ancora oggetto di numerose discussioni è quello dello studio dei fattori congeniti di rischio protrombotico. L'identificazione di un fattore di rischio specifico in un bambino con stroke può essere di aiuto sia per l'individuazione delle cause e dei rischi di ricorrenza che per la prevenzione di forme sistemiche di trombosi oltre che per uno screening familiare (20). In realtà da un'attenta revisione della letteratura si evidenzia come i dati più recenti non sono sempre omogenei e concordi tra loro; infatti accanto ad alcuni studi caso-

controllo che hanno documentato una associazione tra stroke e anomalie protrombotiche (21-22), esistono pure dati della letteratura poco significativi a riguardo (23).

I principali fattori studiati sono il deficit di proteina C e di proteina S, il deficit di antitrombina, l'aumento delle lipoproteine, il fattore V di Leiden, la mutazione nel gene della protrombina, la variante dell'enzima MTHFR e gli inibitori dell'attivatore del plasminogeno. Le più frequenti associazioni riscontrate nello stroke pediatrico (inteso come arterioso e venoso) riguardano il deficit di proteina C, il fattore V di Leiden e le lipoproteine; in uno studio molto recente eseguito su 59 soggetti con stroke ischemico arterioso e/o con poroencefalia, è stato documentato nel 63% dei pazienti la presenza di almeno un fattore di rischio protrombotico e nel 28% l'associazione di più fattori; quelli più significativi erano il deficit di antitrombina, l'aumento delle lipoproteine (> 30 mg/dl), la mutazione nel gene della protrombina e la variante dell'enzima MTHFR (12). Il deficit di antitrombina III è stato documentato dalla deVeber nel 13% di bambini con stroke (20), anche se in altri studi non è stata riscontrata una associazione significativa (24). Le lipoproteine sono strutturalmente analoghe al plasminogeno in

quanto al suo effetto sulla coagulazione ed un loro aumento dei livelli plasmatici è stato riportato da alcuni autori come possibile fattore di rischio nello stroke perinatale e pediatrico (25). La mutazione del fattore V di Leiden rappresenta la causa più comune di disordine protrombotico nella razza bianca, ed è stata correlata con lo stroke arterioso e venoso in età pediatrica soprattutto se in associazione ad altri fattori di rischio endogeni ed acquisiti (26). Anche la mutazione nel gene del fattore II (sia in omozigosi che in eterozigosi) è associata ad un aumentato rischio di eventi cerebrovascolari in particolare a trombosi venose (25). Per quanto riguarda l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno, il possibile ruolo protrombotico del polimorfismo PAI-1 4G è risultato essere abbastanza controverso negli studi precedenti, anche se i dati recenti sembrano suggerire che il genotipo 4G/4G non rappresenti un fattore di rischio maggiore nella etiologia dello stroke ischemico pediatrico (27).

I risultati del nostro lavoro indicano che in 6 pazienti su 10 era presente un fattore di rischio congenito e cioè in 4 il genotipo 4G/4G ed in due la variante C677T; un paziente presentava tre fattori associati (eterozigote fattore II, PAI- 1 4G, C677T) ed un

altro due fattori associati (deficit proteina C, C677T), mentre in due soggetti non è stata individuato alcun fattore specifico. In nessuno è stata riscontrata una mutazione nel gene del fattore di Leiden, né il deficit di antitrombina e di proteina S.

Il dato che comunque ci sembra più interessante è l'elevata percentuale di soggetti omozigoti per la mutazione C677T dell'enzima MTHFR (pari al 40%) che presentavano valori di omocisteinemia, di folati e di vitamina B<sub>12</sub> nella norma.

L'omocisteina è un aminoacido solforato che si forma a seguito della perdita del gruppo metilico da parte della metionina, un aminoacido essenziale introdotto con la dieta, e si trova all'inserzione di due importanti vie del metabolismo della metionina, la via della rimetilazione e della transsulfurazione (figura 4). Nella via della rimetilazione, l'omocisteina è riconvertita a metionina attraverso l'azione di un enzima, la metionina sintetasi, che utilizza come cofattore la vitamina B<sub>12</sub> e come donatore di gruppi metilici il 5-metiltetraidrofolato (5-MTHF); l'enzima 5,10-metilenetetraidrofolato riduttasi (MTHFR), che utilizza NADPH come cofattore, è un enzima chiave di questa via metabolica poiché converte il 5,10-metilenetetraidrofolato a 5-metiltetraidrofolato,

donatore del gruppo metilico nella reazione di rimetilazione a metionina. Nella via della transsulfurazione l'omocisteina in eccesso viene invece coniugata con la serina e convertita a cistationina tramite l'azione dell'enzima cistationina  $\beta$ -sintetasi che richiede come cofattore la forma attiva della vitamina B<sub>6</sub>. Un ottimale funzionamento degli enzimi coinvolti nelle due vie metaboliche, insieme con un adeguato apporto di cofattori vitaminici con la dieta (vitamine B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> e folati), è essenziale per il mantenimento dei livelli plasmatici di omocisteina. La variante termolabile dell'enzima MTHFR in omozigosi (genotipo TT) ha un'attività ridotta del 50% e può pertanto determinare iperomocisteinemia, in presenza di bassi livelli di folati. E' ampiamente noto che elevati livelli di omocisteina plasmatica sono in relazione con le patologie cerebrovascolari arteriose, per un meccanismo mediato dai gruppi sulfidrilici sull'endotelio dei vasi. Negli studi effettuati sulle popolazioni, l'incidenza di omozigosi del genotipo TT sembra sovrapponibile in molti gruppi razziali e si avvicina al 10-15%, ed in particolare in Europa è del 10%, nel Nord America dell'11% ed in Israele dell'8% (28).

In un lavoro condotto su gruppi etnici di aree geografiche diverse, è stato tuttavia documentato che il genotipo omozigote TT è particolarmente frequente in alcune aree come nel nord della Cina (20%), nel sud dell'Italia (20-26%) e in Messico (32%). Da una analisi effettuata su 500 neonati di origine campana, provenienti in particolare dalle province di Avellino e Benevento, è emersa una incidenza piuttosto elevata del genotipo TT, pari al 26%, significativamente superiore a quella riportata in altre regioni (ad esempio il Veneto con il 15%). Riguardo invece alla Sicilia i dati epidemiologici riferiti alla zona sud orientale hanno documentato un'incidenza pari al 20.1% per il genotipo TT e del 50% di quello CT (29). Il dato relativo ai neonati siciliani è molto interessante se confrontato con quelli da noi riportati, dove la percentuale dei soggetti TT è significativamente superiore (40% vs 20%).

L'altro punto che merita una ulteriore osservazione è la normalità in tutti e quattro i pazienti omozigoti dei livelli plasmatici di omocisteina, in assenza peraltro di deficit di folati e vitamina B<sub>12</sub>. Ciò non permette di escludere un possibile ruolo nella nostra casistica della omocisteina nella patogenesi dello stroke perinatale, in quanto tutte le determinazioni sono state fatte in epoca

successiva all'evento critico e non riflettono quindi il reale valore della omocisteina stessa al momento dell'infarto.

## **CONCLUSIONI**

Da quanto emerso dai dati della nostra casistica e dalla letteratura più recente (30) emerge una notevole complessità nello studio dei fattori causali.

Nella valutazione complessiva dei fattori di rischio conosciuti e presunti non è possibile fare una netta distinzione tra loro in quanto il peso e l'interazione di ogni singolo fattore è certamente differente da paziente a paziente, e da momento a momento. Ciò rafforza la nostra idea secondo la quale lo stroke pediatrico ed in particolare quello perinatale rappresenta il risultato di una complessa interazione tra numerosi fattori congeniti ed acquisiti (infettivi, traumatici, metabolici, vascolari, etc.), alcuni dei quali noti e altri poco noti o ancora sconosciuti. Da qui la necessità del coinvolgimento di diverse figure specialistiche compresi il ginecologo, il biologo, l'ematologo, il genetista, il pediatra, il

neuropediatra, il neuroradiologo nell'approccio clinico e diagnostico dello stroke pediatrico.

Molti progressi sono stati compiuti negli ultimi anni, ma tanto ancora deve essere fatto per raggiungere una diagnosi etiologica e quindi una più accurata prevenzione e terapia degli eventi cerebrovascolari in età pediatrica.

Figura 1: l'esame RM evidenzia una vasta area malacica di aspetto triangolare nel decorso dell'arteria cerebrale media di sinistra.

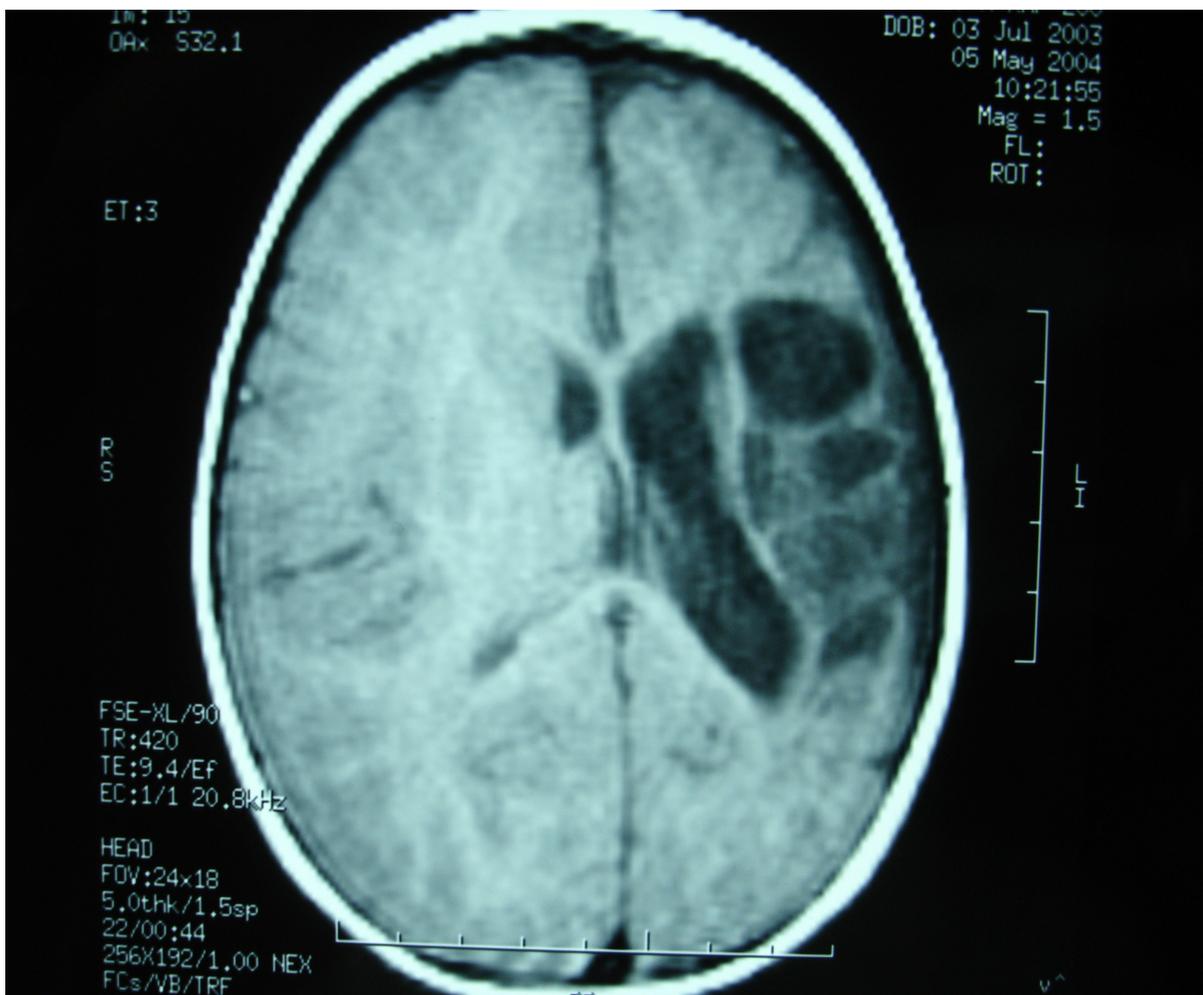


Figura 2: presenza di cavità cistiche pluriconcamerate stabilizzate da esiti di trombosi dell'arteria cerebrale media di sinistra all'esame RM.

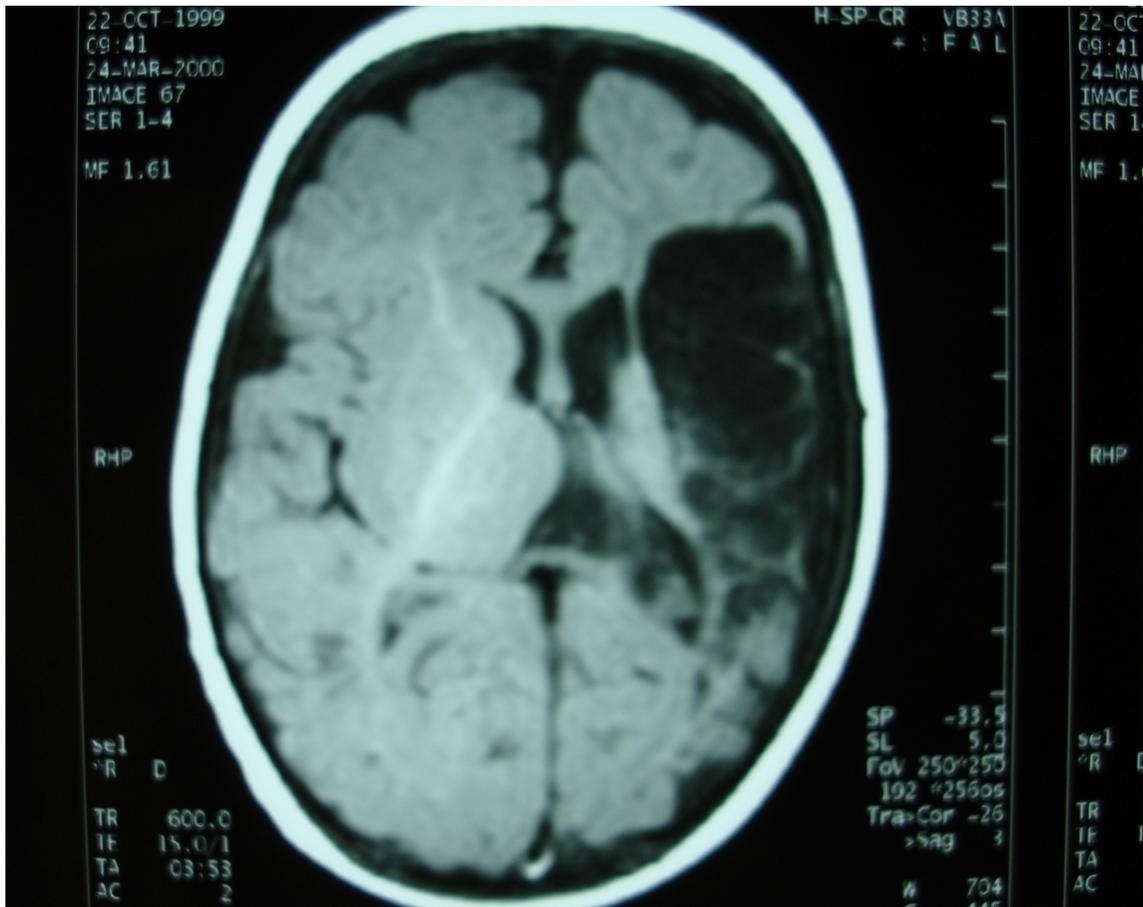
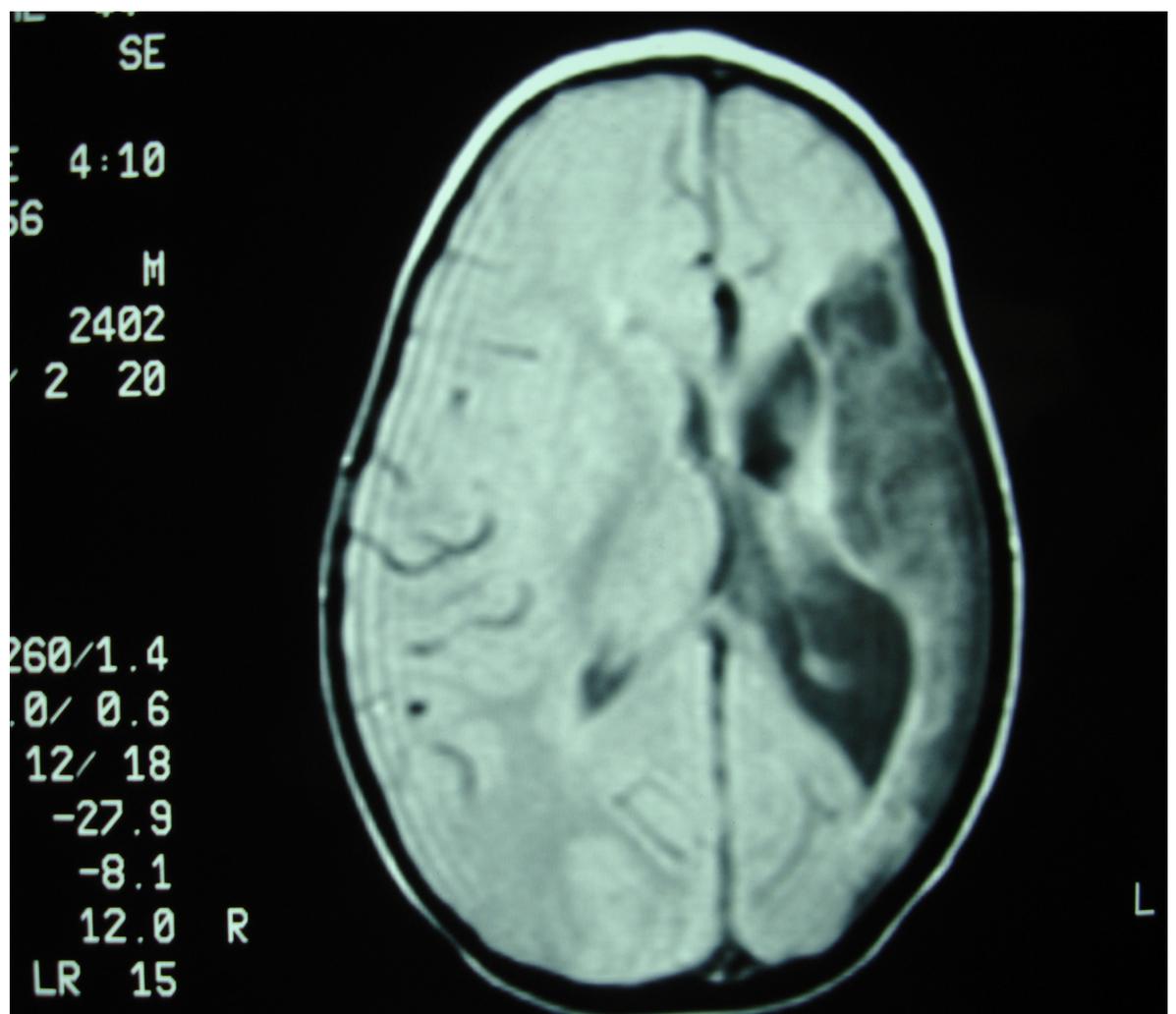


Figura 3: l'esame RM encefalo mostra iposviluppo dell'emisfero cerebrale di sinistra da ostruzione dei rami terminali della cerebrale media.





## **Tabella 1**

**Fattori di rischio per stroke perinatale** (da Nelson KB, Lynch JK, The Lancet Neurology 2004)

<b>Cardiopatie</b> (cardiopatie congenite, persistenza dotto arterioso, atresia valvola polmonare)
<b>Patologie ematologiche e/o della coagulazione</b> (policitemia, CID, deficit di proteina S, deficit di proteina C, mutazione del fattore V di Leiden, mutazione del gene della protrombina, omocisteina, lipoproteine, fattore VII)
<b>Malattie infettive</b> (meningoencefaliti, infezioni sistemiche)
<b>Malattie materne</b> (patologie autoimmuni, disordini coagulazione, anticorpi anti .cardiolipina, trasfusione feto-fetale, esposizione a cocaina, infezioni)
<b>Patologie placentari</b> (trombosi, distacco, infezioni, emorragie)
<b>Vasculopatie</b> (displasie vascolari)
<b>Traumi e cateterismo</b>
<b>Asfissia</b>
<b>Disidratazione</b>
<b>Ossigenazione membrane extracorporea</b>

**Tabella 2: principali dati anamnestici e clinici nei bambini affetti da infarto cerebrale arterioso perinatale**

Paziente /Sesso	Età gestaz.	Anamnesi familiare	Anamnesi gestaz.	Stroke	Età alla diagn.	Segni clinici o sintomi alla diagnosi	Età attu.	Stato motorio/ cognitivo	Crisi convulsive
1. F	40° sett. asfissia	neg	Minacce p. pretermine diabete	ACM sn bp	1 gg	Crisi convulsive parziali	8 aa	Emiparesi dx (a. sup) RM lieve	Spasmi infantili
2. M	36° sett. asfissia	Stroke nonno	Gestosi	ACM sn bp	3 gg	Crisi convulsive generalizz.	7 aa	Emiparesi dx RM	Epilessia parziale
3. F	40° sett. asfissia	neg	Gestosi	ACM sn bp	5 m	Spasmi infantili Emiparesi	8 aa	Emiparesi dx RM	Spasmi infantili
4. F	39° sett.	neg	Candidosi	ACM sn bp	10 m	Emiparesi	6 aa	Emiparesi dx	Convulsioni febbrili complesse
5. M	38° sett.	neg	Minacce d'aborto	ACM sn bp	7 m	Emiparesi	3 aa	Emiparesi dx	-
6. F	40° sett.	Sclerosi Multipla madre	neg	ACM dx bp	9 m	Emiparesi	6 aa	Emiparesi sn RM lieve	Epilessia parziale
7. M	40° sett.	Emorragia cerebrale fratello	Minacce d'aborto	ACM sn bp	2 aa	Emiparesi	5 aa	Emiparesi dx	-
8. M	38° sett. asfissia	neg	neg	ACM sn bp	6 m	Emiparesi	10 aa	Emiparesi dx, RM Dist. comp.	Epilessia parziale e riflessa
9. F	36° sett.	Madre omozigote C677T	Oligo-idramnios	ACM sn rt	6 m	Crisi convulsive Spasmi inf.	7 aa	Emiparesi dx RM lieve	Spasmi infantili
10. F	40° sett.	Stroke nonno	neg	ACM sn rt	18 m	Emiparesi	4 aa	Emiparesi dx	-

LEGENDA: ACM: arteria cerebrale media, sn: sinistra, dx: destra, bp: branca principale, rt: rami terminali, gg: giorni, m: mesi, aa: anni, generalizz.: generalizzate, spasmi inf.: spasmi infantili, RM: ritardo mentale, Dist. comp: disturbi del comportamento.

**Tabella 3: profilo coagulativo e principali fattori di rischio protrombotico nei pazienti con stroke arterioso perinatale**

Paziente /Sesso	Coagulaz. e proteine anti-coagulanti	Lupus anti-coagulante e anti-cardiolipina	Fattore V di Leiden G1691A	Fattore II G20210A	Inibitore attiv. del plasminog PAI-1 4G	Mutazioni MTHFR C677T	Omocisteina Folati Vitamina B12
1. F	N	Neg	ASS.	ASS.	OMOZI-GOTE	ASS.	N
2. M	N	Neg	ASS.	ASS.	OMOZI-GOTE	ETEROZI-GOTE	N
3. F	Deficit parziale proteina C	Neg	ASS.	ASS.	ETEROZI-GOTE	OMOZI-GOTE	N
4. F	N	Neg	ASS.	ASS.	ASS.	OMOZI-GOTE	N
5. M	N	Neg	ASS.	ASS.	OMOZI-GOTE	ASS.	N
6. F	N	Neg	ASS.	ASS.	ASS.	ASS.	N
7. M	N	Neg	ASS.	ASS.	ASS.	OMOZI-GOTE	N
8. M	N	Neg	ASS.	ASS.	ASS.	ASS.	N
9. F	N	Neg	ASS.	ASS.	OMOZI-GOTE	ETEROZI-GOTE COMP	N
10. F	N	Neg	ASS.	ETEROZI-GOTE	OMOZI-GOTE	OMOZI-GOTE	N

Legenda; N: normale, neg: negativo, ASS: assente, COMP: composto

## **BIBLIOGRAFIA**

1. deVeber G and Canadian Paediatric Ischaemic Stroke Study Group. Canadian Paediatric Ischaemic Stroke Registry: analysis of children with arterial ischemic stroke. *Ann Neurol* 2000; 48: 526.
2. Raju TNK, Nelson KB, Ferriero D Linch JK, and the NICHD-NINDS perinatal stroke workshop participants. Ischemic perinatal stroke: summary of a workshop sponsored by the national institute of child health and human development and the national institute of neurological disorders and stroke. *Pediatrics* 2007; 120: 609-616.
3. Kirkham FK. Stroke and cerebrovascular disease in childhood. *Current Pediatrics* 2003; 13: 350-359.
4. Chabrier S, Husson B, Dinomais M, Landrieu P, Nguyen The Tich S. New insights (and new interrogations) in perinatal arterial ischemic stroke. *Thromb Res.* 2011; 127:13-22.
5. Lynch JK, Nelson KB. Epidemiology of perinatal stroke. *Curr Opin Pediatr* 2001; 13: 499-505.
6. Osler W. The cerebral palsies of children. Mac Keith Press Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1987.

7. Freud S. Infantile Cerebral Paralysis. Coral Gables, Florida: University of Miami Press, 1968.
8. Nelson KB, Lynch JK. Stroke in newborn infants. *The Lancet Neurology* 2004; 3: 150-158.
9. F. Greco, G. Incorpora. Le malattie cerebrovascolari. In *Neurologia Pediatrica*, 2° edizione di L. Pavone e M. Ruggieri, capitolo 21, pag. 682-692, Masson 2006.
10. Beck MJ, Berman B. Review of Thrombophilic states. *Clin Pediatr* 2005; 44: 193-199.
11. Golomb MR, MacGregor DL, Domi T, Armstrong DC, McCrindle BW, Mayank S, deVeber GA. Presumed Pre- or Perinatal Arterial Ischemic Stroke: Risk factors and Outcome. *Ann Neurol* 2001; 50: 163-168.
12. Lynch JK, Han CJ, Nee LE, Nelson KB. Prothrombotic factors in children with stroke or porencephaly. *Pediatrics* 2005; 116: 447-453.
13. Virchow R. Phlogose und thrombose im geasssystem. Frankfurt, Staatsdruckerei:1856.

14. Lee J, Croen LA, Backstrand KH, Yoshida CK, Henning LH, Lindan C, Ferriero DM, Fullerton HJ, Barkowich AJ, Wy YW. Maternal and infant characteristics associated with perinatal arterial strokes in the infant. *JAMA* 2005; 293: 723-729.
15. Sreenan C, Bhargava R, Robertson CM. Cerebral infarction in the term newborn: clinical presentation and long-term outcome. *J Pediatr* 2000; 137: 351-355.
16. Trauner DA, Chase C, Walker P, Wulfeck B. Neurologic profiles of infants and children after perinatal stroke. *Pediatr Neurol* 1993; 9: 383-386.
17. Uvebrant P. Hemiplegic cerebral palsy aetiology and outcome. *Acta Paediatr Suppl* 1988; 345: 1-100.
18. Golomb MR, Dick PT, MacGregor DL, Curtis R, Sofronas M, deVeber GA. Neonatal arterial ischemic stroke and cerebral sinovenous thrombosis are more commonly diagnosed in boys. *J Child Neurol* 2004; 19: 493-7.
19. Wu WY, March WM, Croen LA, Grether JK, Escobar GJ, Newman TB. Perinatal stroke in children with motor

impairment: a population-based study. *Pediatrics* 2004; 114: 612-619.

20. deVeber G, Monagle P, Chan A et al. Prothrombotic disorders in infants and children with cerebral thromboembolism. *Arch Neurol* 1998; 55: 1539-1543.

21. Akar N, Akara E, Deda G et al. Factor V1691 G-A, prothrombin 20210 G-A, and methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-T variants in Turkish children with cerebral infarct. *J Child Neurol* 1999; 14: 749-751.

22. Kenet G, Sadetzki S, Murad H et al. Factor V Leiden and antiphospholipid antibodies are significant risk factors for ischemic stroke in children. *Stroke* 2000; 31: 1283-1288.

23. Bonduel M, Sciuccati G, Hepner M et al. Factor V Leiden and prothrombin gene 20210A mutation in children with cerebral thromboembolism. *Am J Hematol* 2003; 73: 81-86.

24. Nowak-Gotti U, Strater R, Heinecke A et al. Lipoprotein and genetic polymorphism of clotting factor V, prothrombin, and methylenetetrahydrofolate reductase are risk factors of spontaneous ischemic stroke in childhood. *Blood* 1999; 94: 3678-3682.

25. Barreirinho S, Ferro A, Santos M, Costa E, Pinto-Basto J, Sousa A, Sequeiros J, Maciel P, Barbot C, Barbot J. Inherited and acquired risk factors and their combined effects in pediatric stroke. *Pediatr Neurol* 2003; 28: 134-138.
26. Lynch JK, Nelson KB, Curry CJ, Grether JK. Cerebrovascular disorders in children with the factor V Leiden mutation. *J Child Neurol* 2001; 16: 735-744.
27. Nowak-Gotti U, Strater R, Kosch A, von Eckardstein A, Schobess R, Luigs P, Nabel P, Vielhaber H, Kurnik K, Junker. The plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 promoter 4G/4G genotype is not associated with ischemic stroke in a population of German children. Childhood Stroke Study Group. *Eur J Haematol* 2001; 66 : 57-62.
28. Sanchez-Marin B, Grasa JM. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T Polymorphism in ischemic vascular disease. *Rev Neurol* 2006; 43: 630-636.
29. Wilcken B, Bamforth F, Li Z, Zhu H, Ritvanen A, Redlund M, Stoll C, Alembik Y, Dott B et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from

over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet* 2003; 40: 619-625.

30. Hunt RW, Inder TE. Perinatal and neonatal ischaemic stroke: A review. *Thrombosis Research* 2006; 118: 39-48.