

Jasna Leniček Krleža*

PEDIJATRIJSKI MOŽDANI UDAR IZ LABORATORIJSKE PERSPEKTIVE

Sažetak

Moždani udar kod djece uvelike se razlikuje od moždanog udara odrasle populacije. U radu je opisana definicija, podjela, učestalost, klinička slika, dijagnostika, čimbenici rizika i pristup djetetu s moždanim udarom. Iako nema dijagnostički značaj, laboratorijska dijagnostika u skrbi djeteta s moždanim udarom neizostavna je karika u iznalaženju rizičnih čimbenika koji su doveli do moždanog udara zbog provođenja pravilnog i pravovremenog liječenja te planiranja rehabilitacije i preventivne terapije s krajnjim ciljem sprečavanja opeptovanog moždanog udara. Od najučestalijih čimbenika rizika, laboratorijskoj dijagnostici uglavnom pripadaju laboratorijski testovi koji će pomoći u dijagnostici pedijatrima uže specijalizacije za pojedine bolesti (urođene srčane greške, bolesti srpastih stanica, hemolitičke anemije, koagulopatije, metaboličke bolesti, infekcija, trombofilija). Trombofilija u djece s moždanim udarom i njihovih roditelja tema je koja je obrađena u radu na temelju literaturnih podataka i vlastitih rezultata u zadnja dva desetljeća. Na temelju tih rezultata prikazan je i prijedlog laboratorijske dijagnostike trombofilije u pedijatrijskoj laboratorijskoj medicini.

Ključne riječi: moždani udar, dijete, čimbenici rizika, trombofilija, laboratorijska medicina

1. Uvod

Svjetska zdravstvena organizacija (*The World Health Organization*, MONICA Project, 1988) definira moždani udar kao ubrzani razvoj znakova žarišnih poremećaja moždane funkcije sa simptomima koji traju najmanje 24 sata i/ili vode ka smrti, bez vidljivog uzroka osim uzroka vaskularnog podrijetla. Ta je definicija daleko od idealne za djecu, jer djeca sa simptomima koji su kompatibilni s prolaznim ishemijskim napadajem mogu imati moždani udar što je vidljivo slikovnim tehnikama mozga unatoč prolazne naravi njihovih simptoma. Slijedom toga, pedijatrijski moždani udar definira se kao svaki neurološki događaj koji uključuje i napadaj, a povezan je s

* dr. sc. Jasna Leniček Krleža, spec. med. biokemije, Odjel za medicinsku biokemiju i hematologiju, Zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinika za dječje bolesti Zagreb

akutnim infarktom prikazan magnetskom rezonancom (Sedman et al., 2007, Dlamini et al., 2009).

Smatra se da je dijagnoza moždanog udara kod djece rijetka zbog znatno niže učestalosti u odnosu na odraslu populaciju. Objavljene populacijske studije daju različite podatke o stopi učestalosti moždanog udara. Ipak, učestalost moždanog udara bez obzira na uzrok procjenjuje se za odrasle na 175–200 / 100 000, a za djecu u dobi iznad mjesec dana od 1,3–13 / 100 000 na godinu. Također, odnos ishemijskog i hemoragičnog uzroka moždanog udara u odraslih i djece se razlikuje. U odrasloj populaciji, 80–85% slučajeva je ishemijski moždani udar, dok se kod djece ishemijski moždani udar u odnosu na hemoragijski pojavljuje u 55 % slučajeva (Lynch et al., 2002; Agrawal et al., 2009).

Prema Rivkin et al. (2016) incidencija moždanog udara viša je kod novorođenčadi (25 do 40 / 100 000 rođenih), a najveća je kod prerano rođenih (do 100/100 000 rođenih). Procjenjuje se da se incidencija perinatalnog ishemijskog moždanog udara (PAIS) kreće od 17 – 63 / 100 000 živorođene djece (Kenet et al., 2004; Laugesaar et al., 2007). Bez obzira na incidenciju, moždani udar kod djece jedan je od deset vodećih uzroka smrti, a najveća smrtnost je u dobi do jedne godine starosti djeteta (Heron et al., 2013). Preživljavanje moždanog udara kod djece ima za posljedicu invaliditet u djetinjstvu i doživotni morbiditet. Moždani udar kod djece događa se u svim dobnim skupinama, od novorođenačke i dojenačke dobi, djetinjstva do puberteta kao i u mladih odraslih osoba. Osnovna podjela moždanog udara je prema uzroku nastanka pri čemu se dijeli se na ishemijski i hemoragični, dok podjela prema vremenu nastanka dijeli moždani udar djece na pedijatrijski moždani udar i perinatalni moždani udar. Pedijatrijski ishemijski moždani udar uključuje arterijski moždani udar i cerebralnu sinovensku trombozu koje karakterizira nalaz arterijske ili venske ishemije u dobi od 29 dana nakon poroda do 18 godina života. Nacionalni institut za zdravlje (Raju i National Institute of Child Health and Human Development and the National Institute of Neurological Disorders and Stroke, 2007) postavlja radnu definiciju ishemijskog perinatalnog moždanog udara (IPS) kao vaskularni događaj koji uzrokuje žarišni prekid prokrvljenosti, a javlja se između 20. tjedna fetalnog života do 28. dana nakon rođenja, što je potvrđeno slikovnim tehnikama ili neuropatološkim nalazom.

Budući da je trenutak vaskularnog događaja koji dovodi do IPS-a gotovo uvijek nepoznat, predloženo je da se klasifikacija IPS-a temelji na gestacijskoj ili postnatalnoj dobi pri dijagnozi. Predložene su tri podkategorije IPS-a: a) fetalni ishemijski moždani udar dijagnosticiran prije rođenja korištenjem fetalnih metoda snimanja; 2) neonatalni ishemijski moždani udar dijagnosticiran nakon rođenja i prije 28. dana života i 3) pretpostavljeni perinatalni ishemijski moždani udar (*presumed IPS*), dijagnosticiran u dojenčadi nakon 28. postnatalnog dana u kojem se pretpostavlja da se događaj dogodio između 20. tjedna fetalnog života do 28. dana nakon poroda.

Uzroci i faktori rizika za ishemijski moždani udar dječje dobi drugačiji su u odnosu na odrasle. Od stotinjak čimbenika rizika koji se povezuju s moždanim udarom u djece, objavljena literatura opisuje sljedeće najčešće čimbenike rizika: prirodene srčane mane, hemolitičke anemije, vaskularne bolesti, neki urođeni metabolički poremećaji, trauma, infekcije, trombofilija, bolesti majke i poremećaji placente te perinatalna asfiksija. Klinički se prezentiraju konvulzijama i to tipičnim parcijalnim motornim konvulzijama, najčešće jednog ekstremiteta. Oko 10 % novorođenačkih konvulzija uzrokovano je ishemijskim moždanim udarom u terminske djece, preostali udio djece s perinatalnim moždanim udarom je asimptomatski u novorođenačkom razdoblju, a tijekom dojenačke dobi pojavi se odstupanje u neuromotornom razvoju (*presumed IPS*) i to najčešće u smislu hemipareze.

Dijagnoza se postavlja ultrazvučnom pretragom mozga, Transfontanelskim obojenim doplerom, a potvrđuje se tehnikama magnetske rezonancije: magnetskom angiografijom, venografijom te difuzijskim tehnikama, koje otkrivaju ishemiju prije kompjuterizirane tomografije (CT) ili magnetske rezonantne angiografije (MRA).

Posljedice perinatalnog moždanog udara su značajne i uključuju kognitivna i senzorička oštećenja kao što su mentalna retardacija, cerebralna paraliza i epilepsija te različiti stupnjevi kognitivnih oštećenja. Ishod perinatalnog moždanog udara ovisi i o vaskularnoj distribuciji oštećenja. Tako, infarkti glavne grane srednje moždane arterije (MCA) te lentikulostrijatalne grane MCA uzrokuju teška neurorazvojna odstupanja zbog oštećenja kapsule interne i bazalnih ganglija (tzv. „talamička atrofija“) sa senzoričkim poremećajima. Prognoza je kod velikih i multiplih lezija loša, dok je kod malih i izoliranih lezija bolja. Djeca s lezijama iste težine i lokalizacije imaju bolju prognozu negoli odrasli. To je posljedica „plasticiteta mozga“ kod djece, tj. mogućnosti mozga u razvoju da preostali, zdravi dio mozga preuzme funkciju oštećenoga. Stoga je i oporavak bolji što je dijete mlađe (Đuranović et al., 2012). Unatoč opsežnim istraživanjima potencijalnih čimbenika rizika, do 30 % djece nema utvrđen uzrok moždanog udara (Ganesan et al., 2003).

Iz svih navedenih razloga važno je znati brzo procijeniti i prepoznati te učinkovito liječiti dijete s moždanim udarom. Prema uzoru na primarne centre za moždani udar kod odraslih koji uključuju multidisciplinarni tim za hitni prijem i što ranije liječenje bolesnika s moždanim udarom, za djecu je također važno vrijeme kao i multidisciplinarni pristup djetetu s moždanim udarom što uključuje hitne pedijatrijske zdravstvene ustanove sekundarne i tercijarne zdravstvene zaštite s obučanim timovima za postavljanje dijagnoze, uzroka, liječenja i rehabilitacije djece s moždanim udarom (Ravkin et al., 2016).

Iako nedostaju sustavna istraživanja temeljena na dokazima kako bi na temelju njih bilo moguće izraditi smjernice, u posljednjih nekoliko godina objavljeno je nekoliko protokola i smjernica za upravljanje moždanim udarom kod djece (Roach et

al., 2008; Rafay et al., 2010; Ravkin et al., 2016; *Stroke in childhood – clinical guideline for diagnosis, management and rehabilitation*, 2004). Postojeće smjernice za većinu se područja (izuzetak je bolest srpastih stanica) temelje na konsenzusu stručnjaka primjenjujući Delphi metodu (Royal College of Paediatrics and Child Health, 2017, Appendix 5).

2. Uloga laboratorijske medicine u upravljanju moždanim udarom kod djece

Premda nema ulogu u postavljanju dijagnoze, uloga laboratorijske medicine neizostavna je karika u upravljanju djecom s moždanim udarom. Prema objavljenim smjernicama za dijagnostiku, upravljanje i rehabilitaciju djece s moždanim udarom (2017), laboratorijska uloga započinje prijemom djeteta s moždanim udarom ili sumnjom na moždani udar na način da procijeni težinu trenutnog stanja djeteta i omogućiti pravilnu hitnu suportivnu terapiju. U prvoj razini potrebno je odrediti kapilarno ili venski acidobazičnu ravnotežu i plinove u krvi, kompletnu krvnu sliku (KKS) koagulacijske pretrage (protrombinsko vrijeme, aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, fibrinogen), elektrolite, glukozu, ureju, C-reaktivn protein, enzime jetre (alanin i aspartat aminotransferazu (ALT, AST), gama glutamil transferazu (GGT), alkalnu fosfatazu (AF) te urin, urinokulturu i hemokulturu. Hitne laboratorijske pretrage, ovisno o težini stanja djeteta i brzini postizanja stabilnog stanja, potrebno je ponoviti prema protokolu praćenja. Postavljanjem dijagnoze moždanog udara i uzroka (ishemija ili hemoragija) određuje se daljnji tijek zbrinjavanja djeteta. Laboratorijska medicina i drugi dijagnostički postupci u sljedećoj razini trebaju ispitati i utvrditi čimbenike rizika koji su doveli do ishemije/hemoragije kako bi se pravilno usmjerilo liječenje i/ili profilaksa koja bi spriječila opetovani moždani udar, ali i laboratorijsko praćenje koje ovisi o primjenjenoj terapiji. Laboratorijska medicina u tu svrhu treba potvrditi ili isključiti najčešće čimbenike rizika (hemolitičku anemija, bolest srpastih stanica, koagulopatije, trombofilije, infekcije, metaboličke poremećaje). Trombofilija je termin kojim se uglavnom služimo kako bi se odredio poremećaj hemostaze koji povećava sklonost nastanka tromboze. Nešto novija definicija trombofilije definira se kao sklonost nastanka arterijske i venske tromboze zbog predisponirajućih čimbenika koji mogu biti genetički određeni, stečeni ili oboje (Leniček Krleža, 2005). Najčešći istraživani protrombotički čimbenici rizika za moždani udar kod djece prikazani su u tablici 1 (Leniček Krleža, 2013; Coen Herak, 2012; Grabowski et al., 2012).

Tablica 1. Najčešći protrombotički čimbenici rizika u perinatalnom ishemijskom moždanom udaru i njihov doprinos protrombotičkom stanju.

Protrombotički čimbenik rizika	Patofiziološka uloga
Protein C (nedostatak)	O vitaminu K ovisan glikoprotein, aktiviran proteolitički inaktivira Va, VIIIa te djeluje protuzgrušavajuće
Protein S (nedostatak)	Kofaktor proteina C, ovisan o K vitaminu
Antitrombin III (nedostatak)	Multifunkcionalni serpin koji inhibira aktivirane čimbenike koagulacije (IIa, IXa, Xa, XIa)
Faktor V Leiden	Točkasta mutacija na genu za FV uzrokuje rezistenciju aktiviranog proteina C što dovodi do povećanog stvaranja trombina
Faktor II G20210A	Točkasta mutacija na genu za FII koja se povezuje sa povišenjem FII i time doprinosi hiperkoagulabilnom stanju
Metilen-tetrahidrofolat reduktaza C766T	Mutacija u genu za MTHFR koja dovodi do oslabljene aktivnosti ovog enzima što ima za posljedicu povišenje homocisteina koji ima protrombotičko svojstvo
Homocistein (povišenje)	Povišene vrijednosti po nekoliko osnova doprinose hiperkoagulabilnom stanju
Lipoprotein (a) (povišenje)	Zbog strukturalne sličnosti sa plazminogenom kompetitivno inhibira vezu sa fibrinom i time se smanjuje plazmin
Antifosfolipidna antitijela	Heterogena skupina cirkulirajućih poliklonalnih imunoglobulina koja direktno mijenjaju naboj neutralnih fosfolipidnih komponenti staničnih membrana ili proteina.
Inhibitor aktivatora plazminogena-1 4G/5G	Polimorfizam udružen sa povišenom razinom PAI-1 što predstavlja rizik za tromboembolijske bolesti
Faktor XIII-A Val34Leu	FXIII je transglutaminaza koja stabilizira fibrinski ugrušak, polimorfizam FXIII-A Val34Leu, čini fibrin osjetljivijim na fibrinoličku razgradnju
Humani trombocitni aloantigen-1	Polimorfizam u genu za IIIa podjedinicu GPIIa-IIIa trombocitnog receptora koji je odgovoran za adheziju trombocita i stvaranje ugruška.

3. Protrombotički čimbenici rizika

Protrombotičke čimbenike rizika potrebno je promatrati kroz pojam razvojne hemostaze. Hemostatski sustav je dinamičan, započinje *in-utero* te se postupno razvija od fetalnog, preko novorođenačkoga, dječjeg i adolescentnog, do odrasle i starije životne dobi. Referentne vrijednosti u razdoblju od rođenja i tijekom ranog djetinjstva izražavaju se kao postotak od vrijednosti odraslih uz vjerojatnost od 95 %. Odstupanja od tih vrijednosti, koja doprinose hiperkoagulabilnom stanju, predstavljaju protrombotičke čimbenike rizika. U protrombotičke čimbenike rizika ubrajamo i ostale

indirektne čimbenike koji na bilo koji način mogu utjecati na komponente hemostat-skog sustava tako da njihova promjena vodi ka razvoju tromboze.

Dinamika i strukturalno formiranje ugruška različito je kod djece u usporedbi s odraslima. Iako je malo istraživanja usmjereno na trombocite novorođenčadi i djece, neonatalni trombociti su hiporeaktivni, pa možemo reći da postoji razlika njihovim membranskim proteinima. Nadalje, postoji nekoliko razlika u hemostazi pedijatrijskih bolesnika: smanjene razine o vitamina K-ovisnih čimbenika (II, VII, IX i X) što ima za posljedicu i razlike u konačnom sastavu ugruška te smanjena razina trombi-na i antiplasmina dok su razine PAI povećane. Prirodni inhibitori antitrombina (PC, PS) također su niži u novorođenčkom razdoblju. Tijekom eliminacije ugruška, plazminogen kod djece je smanjen u odnosu na odrasle, a TPA je povećan iako je nejasan razlog ovog pomaka. Postoje i razlike u stijenkama krvnih žila novorođenčeta gdje je zastupljenost glukozaminoglikana veća, što predstavlja blokadu za molekule heparina i time doprinosi stvaranju ugruška (Bowers et al., 2011).

Različiti protrombotički čimbenici istraživani su u moždanom udaru dječ-je dobi. Dobro definirani protrombotički čimbenici su: nedostatak prirodnih an-tikoagulansa proteina C (PC), proteina S (PS) i antitrombina (AT), zatim polimor-fizmi čimbenika koagulacije faktor V (FV) Leiden i faktor II (PT) G20210A. Ostali protrombotički čimbenici su homocistein (Hcy), polimorfizam MTHFR, lipoprote-in (a) [Lp (a)] i antifosfolipidna antitijela (APLA). Novi potencijalni protrombotički čimbenici rizika su inhibitor aktivatora plazminogena-1 (PAI-1) 4G/5G, Faktor XIII Val34Leu polimorfizam te humani trombociti alloantigen-1 (HPA-1). Njihov dopri-nos u patofiziologiji IPS-a nije definiran (Zadro i Coen Herak, 2012).

Nedavno je međunarodna studijska grupa za moždani udar u djece objavila rezultate istraživanja čimbenika rizika po geografskim područjima (Mackay et al., 2011). U toj studiji, protrombotički čimbenici rizika sudjeluju u etiologiji moždanog udara djece sa 38 % slučajeva u Europi, što je najviša zastupljenost na međunarodnoj razini (Azija: 0 %, SAD: 13 %, Kanada: 6 %, Australija: 2 %, Južna Amerika: 8 %). U svim ispitivanim regijama približno 90 % slučajeva ima zabilježen bar jedan protrom-botički čimbenik rizika, a u 52 % slučajeva prisutno je više faktora rizika.

Ti podaci govore u prilog važnosti poznavanja vlastitih incidencija bolesti i frekvencija te skupine rizičnih čimbenika na nacionalnoj osnovi kako bi se mogla dono-siti procjena o trombofiliji i njenom udjelu u etiologiji pedijatrijskog moždanog uda-ra. U Hrvatskoj je incidencija ishemijskog moždanog u pedijatrijskoj populaciji 0,67 slučajeva na 100 000 djece na godinu (Leniček Krleža, 2009). U istoj studiji, perinatal-ni moždani udar je predstavljao 50 % slučajeva. Približno jedna trećina slučajeva pe-dijatrijskog moždanog udara nije imala zabilježen nijedan protrombotički čimbenik rizika, približno 30 % slučajeva je imala prisutan samo jedan protrombotički čimbe-nik rizika, dok je u 36 % slučajeva zabilježeno dva ili više istovremeno prisutnih pro-

trombotičkih čimbenika rizika. Odnosi i udjeli pojedinih protrombotičkih čimbenika rizika kod pedijatrijskog i perinatalnog moždanog udara u našem istraživanju (Leniček Krleža et al., 2013) bit će navedeni kod opisa pojedinih čimbenika i u odnosu na objavljenu literaturu.

3.1. Nedostatak prirodnih antikoagulansa: antitrombina III, proteina C i proteina S

Antitrombin III je serin esteraza koja inaktivira aktivirane čimbenike zgrušavanja XII, XI, IX i X. Protein C je glikoprotein koji se aktivira pomoću thrombomodulin-trombin kompleksa na površini endotela stanice, čime postaje serin proteaza sa anti-koagulantom i profibrinolitičkom aktivnosti. U prisutnosti PS, aktivirani PC inaktivira trombinom aktivirani FV i FVIII. Osim toga, aktivirani PC tvori komplekse sa PAI-1 i na taj način smanjuje slobodni PAI-1 čime se smanjuje inhibicija tkivnog aktivatora plazminogena (TPA). TPA je odgovoran za pretvorbu plazminogena u enzim plazmin. Uloga nasljednih nedostataka prirodnih inhibitora koagulacije u razvoju perinatalnog ishemičnog moždanog udara u literaturi ostaje sporna.

Metaanaliza (Kenet et al., 2010) koja uključuje ishemijski moždani udar od novorođenačke dobi do adolescencije (tek je jedna studija: Kurnik et al. (2003) uključila samo IPS) nalazi učestalost nedostatka ATIII 0,8 %, PC 5,3 %, PS 1,8 %. Naši rezultati u 12/36 djece s IPS (33 %) ima snižene aktivnosti PC i/ili PS dok ni jedan slučaj nije zabilježen s sniženim aktivnostima ATIII. Učestalost prirodnih inhibitora koagulacije u pedijatrijskom moždanom udaru (0–18 godina) ima učestalost od 25,5 %.

3.2. Najučestaliji polimorfizmi čimbenika koagulacije: FV Leiden i FII G20210A

FV Leiden naziv je polimorfizam faktora V zgrušavanja koji je nastao zamjenom gvanina s adeninom na poziciji 1691 gena za čimbenik V. Rezultira rezistencijom na aktivirani protein C te na taj način je onemogućena antikoagulacijska aktivnost PC što povećava rizik za nastajanje ugruška. Prema nekim studijama heterozigoti pokazuju 7 puta, a homozigoti i do 80 puta veći rizik za nastanak tromboze. Učestalost tog polimorfizma regionalno se značajno razlikuje. Metaanaliza (Kenet et al., 2010) u pedijatrijskoj populaciji s ishemijskim moždanim udarom pokazuje učestalost od 15,3 % (homo- i hetero-zigoti) dok objavljeni podaci za pedijatrijski ishemijski moždani udar (0–18 godina) u Hrvatskoj imaju učestalost od 12,2 %, a za IPS 11,5 % (Zadro i Coen Herak, 2012; Coen Herak et al., 2009). Naši rezultati pokazuju nešto nižu učestalost, tek 2/36 (5,6 %) slučajeva kod djece sa IPS i 4,3 % za pedijatrijski moždani udar.

Mutacija gena za FII G20210A nastaje uslijed zamjene gvanina s adeninom na poziciji 20210 dijela gena koji se ne prepisuje u protein. Ta mutacija povezana je s povećanom koncentracijom protrombina što povećava rizik za nastanak tromboze.

Mehanizam povećanja aktivnosti protrombina nije poznat. Homozigotni nosioci FII 20210A mutacije vrlo su rijetki, dok heterozigotni nosioci FII 20210A mutacije pokazuju dva do tri puta povećan rizik za nastanak tromboze. Učestalost u pedijatrijskoj populaciji s ishemijskim moždanim udarom prema metaanalizi Kenet et al. (2010) za homo- i hetero-zigote iznosi 5,1 %. U Hrvatskoj, objavljeni rezultati za ishemijski moždani udar (0–18 godina) pokazuju učestalost FII G20210A od 3–4 %, a za IPS 0 % (Leniček Krleža et al., 2013; Zadro i Coen Herak, 2012; Coen Herak et al., 2009).

3.3. Homocistein i polimorfizam metilen-tetrahidrofolat reduktaze (MTHFR C677T)

Povišene vrijednosti Hcy potiču protrombotičko stanje utjecajem na stijenke krvnih žila, koagulacijski sustav i funkciju trombocita. Glavni patofiziološki mehanizam je oštećenje i disfunkcija endotela krvnih žila, dok ostali mogući mehanizmi uključuju inaktivaciju PC i aktiviranje unutarnjeg puta zgrušavanja, najvjerojatnije vezanjem Hcy na trombomodulin čime se snizuje koncentracija aktiviranog PC što za posljedicu ima povećanje aktivnosti FV, dok se vezanjem Hcy na heparan-sulfat povećava aktivnost FXII čime započinje unutarnji put zgrušavanja krvi. U kombinaciji s LDL, Hcy stvara agregate za makrofage i stvara tzv. pjenaste stanice, preteču aterosklerotičnog plaka. Sudjeluje u stvaranju dušičnog oksida (NO) – endotelnog opuštajućeg čimbenika (*relaxing factor*), povećava viskoznost krvi, a time i tlak u njima, sudjeluje u aktivaciji i agregaciji trombocita, a cisteinski ostaci ukupnog Hcy u plazmi stupaju u reakciju s fibrinom.

Hcy sudjeluje i potiče sintezu DNA kao i stvaranje kolagena u stanicama glatke muskulature žila, potiče stvaranje kolesterola u jetrenim stanicama kao i hipometilaciju DNA limfocita. Smatra se da postoji višestruki utjecaj Hcy i to ne samo na razini krvnih žila već da postoji i stanični utjecaj u pozadini (Graham et al., 1997). Za nastanak blage hiperhomocisteinemije najčešće su odgovorne snižene koncentracije folne kiseline, vitamina B12 (rjeđe B6) ili ukupnih proteina. Heterozigotni nosioci genetskih poremećaja u sintezi enzima metilentetrahidrofolat reduktaze (MTHFR), cistation β -sintetaze (CBS) ili metionin sintetaze (MS) također mogu imati za posljedicu blagu hiperhomocisteinemiju.

Polimorfizam MTHFR C677T predstavlja protrombotički čimbenik rizika tek uz povišene vrijednosti Hcy. Međutim, homozigotni oblik prema objavljenoj metaanalizi bi mogao biti neovisan čimbenik rizika za pedijatrijski moždani udar (Kenet et al., 2010) gdje učestalost MTHFR C677T za ishemijski moždani udar dječje dobi (0–18 godina) iznosi 16,2 %, a prema studiji Coen Herak et al. (2009) 18,2 %. Prema istoj studiji, u Hrvatskoj učestalost MTHFR C677T je za pedijatrijski ishemijski moždani udar 15,2 %. Za IPS prema Kurnik et al. (2003) učestalost MTHFR C677T iznosi 13 %, a u Hrvatskoj 15,4 %. Naši rezultati su pokazali da relativno velika učestalost

snižene koncentracije folne kiseline kao i prisutnost polimorfizma C667T MTHFR koji se mogu dovesti u vezu, nemaju nužno za posljedicu i povećanje koncentracije Hcy. Niska folna kiselina prema našim rezultatima u oko 40 % slučajeva može biti posljedica prisutne mutacije gena za MTHFR, dok je u oko 60 % slučajeva posljedica nedovoljnog unosa ili malapsorpcije. Približno jedna petina takvih slučajeva će imati za posljedicu i povećanje koncentracije Hcy te ovu skupinu čimbenika rizika u etiologiji moždanog udara djece čini manje značajnom (Leniček Krleža et al., 2012).

3.4. Lipoprotein (a)

Protrombotička aktivnost Lp(a) posljedica je njegove strukture koja je slična plazminogenu. Lp(a) veže i imobilizira fibrinogen i fibrin i tako inhibira plazminogen da se veže na svoj supstrat. Nadalje, kompetitivno se natječe s plazminogenom za receptore na površini endotelnih stanica i trombocita. Na taj način onemogućava lizu ugruška i doprinosi trombozi, a visoki afinitet za fibrin doprinosi nastajanju aterosklerotičnog plaka. Iako Lp(a) čestica pokazuje visoki protrombotički potencijal, rezultati istraživanja povezanosti s moždanim udarom su oprečni. Metaanaliza Kenet et al. (2010) pokazuje učestalost povišenih vrijednosti Lp(a) kod djece (0–18 godina) s ishemijskim moždanim udarom u 28,2 % slučajeva, dok objavljena učestalost u IPS-u je 30,4 % (21). Naši rezultati kod djece s moždanim udarom pokazuju učestalost od 31,9 % (Leniček Krleža et al., 2013).

3.5. Antifosfolipidna antitijela (APLA)

Antifosfolipidna protutijela (APLA) obuhvaćaju heterogenu skupinu cirkulirajućih imunoglobulina koja direktno mijenjaju naboj neutralnih fosfolipidnih komponenti staničnih membrana ili proteina. Svoja protrombotička svojstva ostvaruju preko nekoliko mehanizama koji uključuju oštećenje kompleksa trombomodulin-PC-PS i ATIII, aktivnošću protutijela na endotelne stanice te interakcijom sa fosfolipidima membrane trombocita. Novija ispitivanja patomehanizma APLA opisuju β 2-GP1 kao ključni imunogen u antifosfolipidnom sindromu. Klinički važna APLA uključuju Lupus antikoagulant (LA) i antikardiolipinska protutijela (aCA). Rezultati istraživanja pokazuju da je LA specifični prediktor trombotičkog rizika za razliku od aCA koji je osjetljiviji, ali manje specifičan jer se može naći u različitim stanjima od zdrave populacije do maligniteta, infekcija ili kod unosa različitih lijekova. Da APLA može primarno prouzročiti moždani udar nije utvrđeno. Literaturni podaci kontrolnih istraživanja daju oprečne rezultate. Učestalost APLA u djece s ishemijskim moždanim udarom (0–18 godina) iznosi 7,2 % u Kenetovoj studiji 2010, a u IPS-u 0 % prema studiji Kurnik et al. (2003). Naši rezultati kod djece sa moždanim udarom nisu zabilježila ni jedan slučaj sa LA i aCA dok je zabilježeno 4/36 (11,1 %) slučajeva s pozitivnim

antifosfatidilserinskim antitijelima (aPS) imunoglobulina klase G i to kod djece s perinatalnim moždanim udarom (Leniček Krleža et al., 2013).

Prema našim iskustvima i rezultatima, 12/36 (33,3 %) djece s IPS-om nije imalo prisutan nijedan od navedenih protrombotičkih čimbenika rizika, dok preostalih 66,7 % je imalo jedan ili više istovremeno prisutnih protrombotičkih čimbenika rizika. Ispitano je i 12 majki i samo kod tri je zabilježen protrombotički čimbenik rizika: kod jedne majke nađena su povišena antifosfolipidna antitijela, kod jedne snižena aktivnost PS, a jedna majka je heterozigot za FV Leiden, kao i njeno dijete.

U zadnje dvije godine istraživanja smo proširili na ispitivanje prisutnosti navedenih nasljednih protrombotičkih čimbenika rizika, ali i novih potencijalnih polimorfizama koji bi mogli doprinijeti protrombotičkom stanju. Također, ispitivanja su proširena na majke i očeve djece sa IPS-om te na kontrolnu grupu koja za sada obuhvaća samo djecu. U parova dijete s moždanim udarom – majka i/ili otac u postupku su objave, a obuhvaćaju sljedeće polimorfizme: FV Leiden, FV HR2, FII G20210A, β -fibrinogen-455G>A, FXIII-A Val34Leu, PAI-1 4G/5G, HPA-1, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, ACE I/D i apo E ϵ 2-4. Uočena je velika učestalost polimorfizama PAI-1 4G/5G i ACE I/D u djece i roditelja te ovi rezultati sugeriraju mogućnost njihove uloge u IPS-u. Za FXIII-A Val34Leu i β -fibrinogen-455G>A iako su zastupljeni u 36–60 % djece i roditelja zahtijevaju dodatna istraživanja.

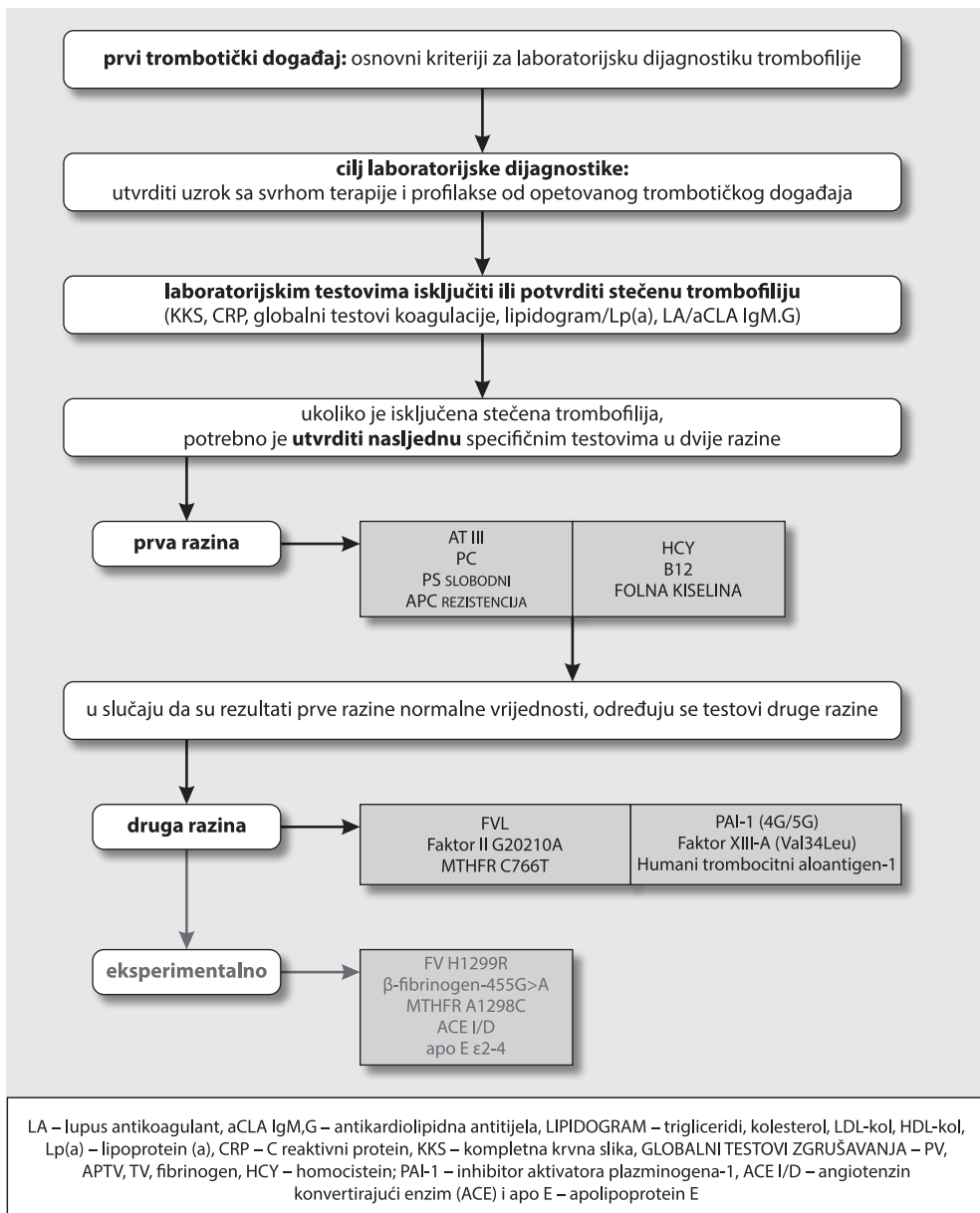
4. Umjesto zaključka

Određivanje protrombotičkih čimbenika rizika kod djece s moždanim udarom obuhvaća relativno skupu dijagnostiku i ostavlja otvoreno pitanje potrebitosti njenog cjelokupnog određivanja u radu neuropedijatra s djetetom koje ima moždani udar. Ta upitnost proizlazi iz novijih objavljenih podataka o ishodu IPS-a: oko 40 % djece s utvrđenim IPS-om imat će normalan neurološki ishod, više od pola (57 %) imat će motorički i/ili kogenitalni neurološki deficit, a svega oko 3 % djece imat će smrtni ishod. Nasuprot tome, stopa recidiva nakon IPS-a manja je od 3 % i to bez uspostavljenog liječenja ili prevencije (Lynch 2009; Lynch et al., 2001).

Vlastita iskustva i prikupljeni podaci kod djece s IPS-om u dobi od dvije godine pokazuju teško neuromotorno odstupanje u 83 % slučajeva (Leniček Krleža, 2013; Đuranović et al., 2013). U tom kontekstu vrijedno je razmatrati ulogu protrombotičkih čimbenika rizika u etiologiji preperinatalnog i neonatalnog ishemijskog moždang udara. Prema podacima o učestalosti našeg istraživanja u prvom koraku određivali bi se uz globalni testovi koagulacije te PC, PS, Lp(a) i APLA, dok bi drugi korak uključivao molekularnu dijagnostiku – genotip za FV Leiden, FII G20210A, MTHFR C677T (uz Hcy, B12, folnu kiselinu) (slika 1, Leniček Krleža, 2005; Leniček Krleža 2013). Testiranja prvog koraka trebala bi se ponoviti u slučaju pozitivnog nalaza tri do šest mje-

seci nakon akutnog moždanog udara. Još je važnija strategija prevencije IPS-a, a ona uključuje i trudnice (ili koje to žele biti), a koje prema svojoj povijesti spadaju u rizičnu skupinu za razvoj tromboze. U prvom koraku laboratorijske dijagnostike trombofilije kod majki prednost imaju nasljedni čimbenici i to prije svega FV Leiden, a od stečenih čimbenika antifosfolipidna antitijela (APLA) i upalni parametri.

Slika 1. Plan laboratorijske dijagnostike trombofilije



Prema našim najnovijim istraživanjima tu su zbog velike učestalosti u našoj populaciji i polimorfizmi FV H1299R, β -fibrinogen-455G>A, MTHFR A1298C, angiotenzin konvertirajući enzim I (ACE I/D) i apolipoprotein E (apo E ϵ 2-4) kao potencijalni kandidati za trombotički događaj. Racionalna bi primjena prema algoritmu postavljenom nakon opsežnijeg i detaljnog istraživanja rizične populacije zasigurno osigurala i financijsku opravdanost laboratorijske dijagnostike trombofilije (Wu et al., 2006; Middeldorp et al., 2011).

Literatura

1. Agrawal, N. et al. 2009. Imaging data reveal a higher pediatric stroke incidence than prior US estimates. *Stroke*, 40: 3415–3421.
2. Bowers, K. J. et al. 2011. Cerebrovascular Disease in Children: Recent Advances in Diagnosis and Management. *Journal of Child Neurology*, 26 (9): 1074–1100.
3. Coen Herak, D. 2012. Izazovi laboratorijske dijagnostike hemostatskih poremećaja u djece. *Paediatrica Croatica*, 56 (Supl 1): 176–181.
4. Dlamini, N. i Kirkham, F. J. 2009. Stroke and cerebrovascular disorders. *Current Opinion in Pediatrics*, 21: 751–761.
5. Đuranović, V. et al. 2012. Cerebrovaskularne bolesti u djece. U: *Zbornik 6. Kongresa Hrvatskog društva za neurovaskularne poremećaje Hrvatskog liječničkog zbora. Pozvana predavanja*, ur. Bašić Kes, V. i Trkanjec, Z. Zagreb.
6. Đuranović, V. et al. 2013. Perinatalni moždani udar – najčešći uzrok unilateralne cerebralne paralize. *Paediatrica Croatica*, 57 (Suppl. 1): 98–105.
7. Grabowski, E. F. et al. 2007. Prothrombotic risk factors in the evaluation and management of perinatal stroke. *Seminars in Perinatology*, 31 (4): 243–249.
8. Graham, I. M. et al. 1997. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *The European Concerted Action Project*, 277: 1775–1781.
9. Herak, D. C. et al. 2009. Inherited prothrombotic risk factors in children with stroke, transient ischemic attack, or migraine. *Pediatrics*, 123 (4): 653–660.
10. Heron, M. 2013. Deaths: leading causes for 2010. *National Vital Statistics Reports*, 62: 1–96.
11. Kenet, G. et al. 2004. Paediatric cerebral sinus vein thrombosis: a multi-center, case-controlled study. *Thromb Haemost*, 92: 713–718.
12. Kenet, G. et al. 2010. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation*, 121 (16): 1838–1847.
13. Laugesaar, R. et al. 2007. Acutely and retrospectively diagnosed perinatal stroke: A population based study. *Stroke*, 38: 2234–2240.
14. Leniček Krleža, J. 2005. Laboratorijska dijagnostika trombofilije. *Paediatrica Croatica*, 49 (2): 95–100.
15. Leniček Krleža, J. et al. 2009. The burden of paediatric stroke and cerebrovascular disorders in Croatia. *International Journal of Stroke*, 4 (5): 390–394.
16. Leniček Krleža, J. 2012. Učestalost polimorfizma C677T gena za metiltetrahidrofolat reduktazu i njegov utjecaj na serumske koncentracije folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina kod djece s ishemijskim moždanim udarom i prolaznim ishemijskim napa-

- dajem. U: *Zbornik 6. Kongresa Hrvatskog društva za neurovaskularne poremećaje Hrvatskog liječničkog zbora*, ur. Bašić Kes, V. i Trkanjec, Z. Zagreb.
17. Leniček Krleža, J. et al. 2013. Multiple presence of prothrombotic risk factors in Croatian children with arterial ischemic stroke and transient ischemic attack. *Croatian Medical Journal*, 54 (4): 346–54.
 18. Leniček Krleža, J. 2013. Protrombotički čimbenici rizika u etiologiji cerebralne paralize uzrokovane ishemijskim moždanim udarom u perinatalnoj dobi. *Paediatrica Croatica*, 57 (Suppl. 1): 106–111.
 19. Lynch, J. K. et al. 2002. Report of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke workshop on perinatal and childhood stroke. *Pediatrics*, 109: 116–123.
 20. Lynch, J. K. i Nelson, K. B. 2001. Epidemiology of perinatal stroke. *Current Opinion in Pediatrics*, 13: 499–505.
 21. Mackay, M. T. et al. 2011. Arterial ischemic stroke risk factors: the International Pediatric Stroke Study. *Annals of Neurology*, 69 (1): 130–140.
 22. Middeldorp, S. 2011. Evidence-based approach to thrombophilia testing. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 31: 275–281.
 23. Rafay, M. F. 2010. Paediatric stroke management guidelines. *Journal of Pakistan Medical Association*, 60 (3): 161–162.
 24. Raju, T. N. 2007. 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*, 120: 609–616.
 25. Rivkin, M. J. et al. 2016. Guidelines for Urgent Management of Stroke in Children. *Pediatric Neurology*, 56: 8–17.
 26. Roach, E. S. et al. 2008. Management of Stroke in Infants and Children. *Stroke*, 39 (9): 2644–2691.
 27. Seidman, C. et al. 2007. Pediatric stroke: current developments. *Current Opinion in Pediatrics*, 19: 657–62.
 28. The Royal College of Paediatrics and Child Health (RCPCH). 2004. *Stroke in childhood – clinical guideline for diagnosis, management and rehabilitation*.
 29. The Royal College of Paediatrics and Child Health (RCPCH). 2017. *Stroke in childhood – clinical guideline for diagnosis, management and rehabilitation*. Drugo izdanje. <https://www.rcpch.ac.uk/sites/default/files/2019-04/Stroke%20guideline%2008.04.19.pdf> Pristupljeno 30. travnja 2019.
 30. The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. WHO MONICA Project Principal Investigators. 1988. *Journal of Clinical Epidemiology*, 41: 105–114.
 31. Wu, O. et al. 2006. Screening for thrombophilia in high-risk situations: systematic review and cost-effectiveness analysis. The Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) study. *Health Technol Assess*, 10 (11): 1–110.
 32. Zadro, R. i Coen Herak, D. 2012. Inherited prothrombotic risk factors in children with first ischemic stroke. *Biochem Med* 22 (3): 298–310.



Paediatric stroke from the laboratory perspective

Abstract

Stroke in children is largely different from an adult stroke. The paper describes the definition, division, frequency, clinical status, diagnostics, risk factors, outcomes and access to child with a stroke. Laboratory diagnosis in the health care of a child with a stroke, although lacking diagnostic value, is an essential link in finding the risk factors that led to the stroke due to the implementation of proper and timely treatment as well as rehabilitation planning and preventive therapy with the goal to prevent stroke reoccurrence. From the most frequent risk factors, laboratory diagnostics mainly belongs to laboratory tests that will help paediatric specialists to diagnose certain diseases (inborn heart failure, sickle cell disease, haemolytic anaemia, coagulopathy, metabolic diseases, infections, thrombophilia). Thrombophilia in children with a stroke and their parents is a topic that was elaborated in the paper based on literary data and the author's own results in the last 2 decades. Based on these results, the proposal for the laboratory diagnosis of thrombophilia in paediatric laboratory medicine was presented.

Key words: stroke, child, risk factors, thrombophilia, laboratory medicine