

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**« Επίπεδα Dickkopf-related protein 3 (DKK3) στο χρόνια  
υποσκληρίδιο αιμάτωμα: μία κλινική μελέτη »**

**ΚΑΣΑΠΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ**

ΑΘΗΝΑ  
01 – 2022

## Περιεχόμενα

Περίληψη στα ελληνικά .....	2
Περίληψη στα αγγλικά .....	4
Εικόνες/πίνακες .....	5
<b>Εισαγωγή .....</b>	<b>6</b>
Ορισμός .....	6
Επιδημιολογία.....	6
Ιστορική αναδρομή .....	6
Παθοφυσιολογία .....	9
Αιτιολογία – Προδιαθεσικοί παράγοντες.....	16
Πρόγνωση .....	16
Κλινική συμπτωματολογία .....	17
Διαγνωστικός έλεγχος.....	18
Θεραπεία.....	22
<b>Η DKK3 στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα.....</b>	<b>28</b>
Εγκεφαλονωτιαίο υγρό .....	28
Νευροεκφυλιστικές νόσοι.....	29
Όγκοι εγκεφάλου .....	29
Ψυχικές νόσοι .....	30
Αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια.....	30
<b>Η DKK3 εκτός του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος.....</b>	<b>31</b>
<b>Πιθανός ρόλος της DKK3 πρωτεΐνης στη δημιουργία ή την εξέλιξη του CSDH.....</b>	<b>32</b>
<b>Η πρωτεΐνη Beta-Trace στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα.....</b>	<b>35</b>
<b>Σκοπός της μελέτης – Ερευνητικά ερωτήματα – Υποθέσεις εργασίας.....</b>	<b>37</b>
<b>Υλικό -Μεθοδολογία.....</b>	<b>38</b>
<b>Αποτελέσματα .....</b>	<b>42</b>
<b>Συζήτηση .....</b>	<b>47</b>
<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>50</b>

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Το χρόνια υποσκληρίδιο αιμάτωμα (CSDH) αποτελεί μία από τις πιο συχνές παθολογίες στη Νευροχειρουργική. Ως πιθανοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί έχουν αναγνωριστεί η αγγειογένεση, η ινωδόλυση και η φλεγμονή. Επιπλέον, η τραυματική ρήξη της αραχνοειδούς μήνιγγας και η διαφυγή εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY) έχουν προταθεί ως παθογενετικοί μηχανισμοί στο χρόνια υποσκληρίδιο αιμάτωμα.

**Σκοπός:** Η συγκεκριμένη πιλοτική μελέτη θα προσπαθήσει να ενισχύσει έναν από τους πιθανούς παθογενετικούς μηχανισμούς του CSDH. Η ανίχνευση και η μέτρηση της DKK3 στο αιμάτωμα ασθενών οι οποίοι υποβλήθηκαν σε χειρουργική αντιμετώπιση θα ενισχύσει πιθανότατα τη θεωρία περί διαφυγής – παρουσίας ENY στην κοιλότητα του CSDH καθώς πρόκειται για μία πρωτεΐνη με τεκμηριωμένη παρουσία στο ENY. Ταυτόχρονα θα αναζητηθεί η πιθανή συσχέτιση των επιπέδων της DKK3 και της Beta - trace (β-TP) η οποία ήδη αποτελεί έναν δείκτη ανίχνευσης του ENY με παρουσία στο CSDH.

**Υλικό και μέθοδος:** Στην μελέτη συμπεριλήφθηκαν 15 ασθενείς μέσης ηλικίας 79,6 ετών με το 53.3% να είναι άνδρες. Η DKK3 αναζητήθηκε σε 30 δείγματα συνολικά (15 δείγματα αιματώματος και 15 δείγματα ορού), ενώ η β-TP αναζητήθηκε μόνο στα 15 δείγματα αιματώματος. Η μέθοδος ανίχνευσης που χρησιμοποιήθηκε είναι η Elisa.

**Αποτελέσματα:** Η DKK3 πρωτεΐνη ανιχνεύθηκε σε δείγματα ορού και αιματώματος ασθενών, ενώ οι τιμές της συσχετίστηκαν με την παρουσία της Beta trace πρωτεΐνης. Από τις μετρήσεις προέκυψε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων DKK3 στο αιμάτωμα σε σύγκριση με τον ορό ασθενών, ενώ ακολούθως επιβεβαιώθηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα της β-TP στο αιμάτωμα σχετίζονται με τα αυξημένα επίπεδα της DKK3.

**Συμπεράσματα:** Η παρουσία της DKK3 στο υγρό του υποσκληρίδιου αιματώματος μπορεί να μας οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι πιθανώς το ENY αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα στη δημιουργία ή την αύξηση του CSDH καθώς η DKK3 έχει ήδη (τουλάχιστον βιβλιογραφικά) επιβεβαιωθεί ως ένας δείκτης ανίχνευσης του ENY. Η ταυτόχρονη ανίχνευση και αύξηση των επιπέδων της β-TP στο ίδιο αιμάτωμα φαίνεται να ενισχύει τον προαναφερόμενο παθοφυσιολογικό μηχανισμό καθώς η παρουσία της στο τόσο στο ENY όσο και το CSDH είναι ήδη τεκμηριωμένη.

## Summary

**Introduction:** Chronic subdural hematoma (CSDH) is one of the most common pathologies in Neurosurgery. Angiogenesis, fibrinolysis and inflammation have been identified as possible pathophysiological mechanisms. In addition, traumatic rupture of the arachnoid membrane causing cerebrospinal fluid (CSF) leaks has been proposed as a pathogenic mechanism in CSDH.

**Purpose:** To further test the CSF leak pathogenic hypothesis in CSDH by establishing, for the first time, the levels of the CSF marker DKK3 in the hematoma of patients who have undergone surgery. Whether the levels of DKK3 and the CSF marker Beta – trace ( $\beta$ -TP) correlate in CSDH was also investigated.

**Materials and Methods:** The study included 15 patients with a mean age of 79.6 years with 53.3% being male. DKK3 was quantified in 30 samples in total (15 hematoma samples and 15 serum samples), while  $\beta$ -TP was quantified in only 15 hematoma samples. The protein levels were detected by means of Elisa.

**Results:** DKK3 protein was detected in serum and hematoma samples of patients. The analysis showed a statistically significant increase in DKK3 levels in the hematoma compared to the patients' serum. It was also shown that elevated levels of  $\beta$ -TP in the hematoma were associated with elevated levels of DKK3.

**Discussion:** The presence of DKK3 in the subdural hematoma fluid provides further support for the hypothesis that CSF is an important factor in the pathogenesis and/or the increase of CSDH.

## Εικόνες

**Εικόνα 1.** Αλγόριθμος ανάπτυξης υποσκληρίδιου αιματώματος

**Εικόνα 2.** Αλγόριθμος ανάπτυξης υποσκληρίδιου υγρώματος και πιθανούς μετατροπής σε χρόνιο υποσκληρίδιο αιμάτωμα

**Εικόνα 3.** Ταξινόμηση υποσκληρίδιων αιματομάτων με βάση την απεικονιστική μορφολογία

**Εικόνα 4.** Ταξινόμηση των υποσκληρίδιων αιματομάτων με βάση την ένταση σήματος στις ακολουθίες της μαγνητικής τομογραφίας

**Εικόνα 5.** Ιστόγραμμα συχνοτήτων των επιπέδων της DKK3 (ng/ml) στο υγρό του αιματώματος και του ορού, των μετρήσεων της β-TP (μg/ml) στο αιμάτωμα των ασθενών, καθώς και της ποσοστιαίας μεταβολής (%) των επιπέδων της DKK3.

## Πίνακες

**Πίνακας 1.** Ιστορική αναδρομή του CSDH

**Πίνακας 2.** Κατάταξη των CSDH με βάση την πυκνότητά τους σε σχέση με τον εγκέφαλο

**Πίνακας 3.** Διαμεσολαβητές στην παθοφυσιολογία του CSDH

**Πίνακας 4.** Κατανομή των δημογραφικών χαρακτηριστικών των ασθενών του δείγματος

**Πίνακας 5.** Κατανομή των επιπέδων της DKK3 (ng/ml) στο υγρό του αιματώματος και του ορού των ασθενών (N=15), των μετρήσεων της β-TP (μg/ml) στο αιμάτωμα των ασθενών, καθώς και της ποσοστιαίας μεταβολής (%) των επιπέδων της DKK3.

**Πίνακας 6.** Αποτελέσματα διερεύνησης της αύξησης των επιπέδων DKK3 στο αιμάτωμα σε σύγκριση με τον ορό ασθενών με CSDH.

**Πίνακας 7.** Αποτελέσματα συσχέτισης των επιπέδων A. DKK3 στο αιμάτωμα και B. στον ορό ασθενών με CSDH, καθώς και του λόγου A/B και β-TP.

## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **Ορισμός**

Ως υποσκληρίδιο αιμάτωμα ορίζεται η συλλογή αίματος ανάμεσα στη σκληρά και την αραχνοειδή μήνιγγα του εγκεφάλου, ενώ ως χρόνιο χαρακτηρίζεται το υποσκληρίδιο αιμάτωμα που εμφανίζεται τουλάχιστον 21 ημέρες μετά την αρχική αιμορραγία.

### **Επιδημιολογία**

Το χρόνιο υποσκληρίδιο αιμάτωμα είναι μία από τις πιο συχνές παθολογίες στην καθημερινή πρακτική της Νευροχειρουργικής. Η συχνότητα του κυμαίνεται περίπου από 1.7–20.6 / 100.000 / έτος στο γενικό πληθυσμό, αλλά με πολύ μεγαλύτερη επίπτωση στις ηλικίες > 65 φτάνοντας σε 60-80 / 100.000 / έτος. Οι άνδρες επίσης εμφανίζουν υψηλότερη επίπτωση σε σχέση με τις γυναίκες σε αναλογία 2:1 [1]. Η επίπτωση του CSDH έχει σαφέστατα αυξηθεί τα τελευταία χρόνια και αποδίδεται αφενός στην ηλικιακή αύξηση του πληθυσμού και στην αύξηση της χρήσης των αντιπηκτικών / αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων [1-6].

### **Ιστορική αναδρομή**

Η πρώτη καταγεγραμμένη αναφορά χρόνιου υποσκληρίδιου αιματώματος (chronic subdural hematoma – CSDH) ήταν αυτή του Ελβετού παθολογοανατόμου Johannes Wepfer το 1657 [7]. Ανακάλυψε μία μεγάλη αιμορραγική κύστη κάτωθεν της σκληράς μήνιγγας σε έναν ασθενή που κατέληξε από εγκεφαλικό επεισόδιο (“apoplectic stroke”). Το 1747, ο Ιταλός ανατόμος Giovanni Battista Morgagni, περιέγραψε μία ανάλογη παθολογία (“apoplectic” stroke), ενώ το 1751 ο Σκωτσέζος χειρουργός James Hill ήταν ο πρώτος που περιέγραψε κраниοτομία για υποσκληρίδιο αιμάτωμα σε ένα κορίτσι που έπεσε από άλογο. Λόγω προοδευτικά επιδεινούμενων πονοκεφάλων και εμέτων, προχώρησε σε τρυπανισμό του κρανίου και αφαίρεση αίματος ‘μαύρου’ χρώματος [8]. Ο M. Houssard, το 1817, περιέγραψε

με μεγαλύτερη ακρίβεια τη φύση της παθολογίας, μιλώντας για αιμάτωμα που περικλείεται σε μεμβράνες, ενώ αντίστοιχα ο Γάλλος φυσιολόγος Antoine Laurent Jessé Bayle το 1826 τόνισε για πρώτη φορά τις υποτροπιάζουσες αιμορραγίες ως πιθανό μηχανισμό [9]. Το 1857, ο Virchow ήταν ο πρώτος που περιέγραψε, την πιο ακριβή έως τότε, παθοφυσιολογία του εν λόγω αιματώματος. Έκανε λόγο για μία χρόνια αιμορραγική παχυμηνιγγίτιδα, και ενώ υπέδειξε ως πιθανή αρχική αιτία του υποσκληρίδιου αιματώματος το τραύμα, απέδωσε την παθολογία αυτή καθαυτή στη χρόνια φλεγμονή της σκληράς μήνιγγας. Περιέγραψε την ιστολογική συμπεριφορά και το σχηματισμό των νεομεμβρανών ως μία διαδικασία χρόνιας φλεγμονής της μήνιγγας που ακολουθείται από σχηματισμό ινώδους και πολλαπλασιασμό τριχοειδών αγγείων από τη μήνιγγα με τελικό αποτέλεσμα την εξαγγείωση του αίματος στον υπαραχνοειδή χώρο [10,11]. Η θεωρία του Virchow περί φλεγμονής της μήνιγγας παρέμεινε ευρέως αποδεκτή ως το 1914 οπότε και ο Άγγλος χειρουργός Wilfred Trotter τόνισε την τραυματική αιτιολογία του χρόνιου υποσκληρίδιου αιματώματος. Στη συνέχεια, ακολουθώντας την αναφορά των Harvey Cushing και TJ Putman το 1925, καθιερώθηκε ο όρος χρόνια υποσκληρίδιο αιμάτωμα αντί του όρου χρόνια εσωτερική αιμορραγική παχυμηνιγγίτιδα [11]. Θα μπορούσε να πει κανείς ότι το CSDH ξεκίνησε ως εγκεφαλικό επεισόδιο τον 17ο αιώνα, άλλαξε σε φλεγμονώδη νόσο τον 19ο αιώνα και τελικά κατέληξε ως τραυματική βλάβη τον 20ο αιώνα (Πίνακας 1).



Πίνακας 1. Ιστορική αναδρομή χρόνιου υποσκληρίδιου αιματώματος		
Έτος	Συγγραφέας	Περιγραφή
1657	Wepfer	Πρώτη περιγραφή CSDH - Μεγάλη αιμορραγική κύστη κάτωθεν της σκληράς μήνιγγας
1747	Morgagni	Αναφερόμενη περίπτωση CSDH
1751	Hill	Κρανιοτομία για CSDH
1817	Houssard	Περιγραφή παθολογίας CSDH – Αιμάτωμα με μεμβράνες
1826	Bayle	Πιθανός μηχανισμός CSDH –Υποτροπιάζουσες αιμορραγίες
1857	Virchow	Η πιο ακριβής περιγραφή της παθολογίας – Χρόνια φλεγμονή
1914	Trotter	Προτείνει την τραυματική αιτιολογία του αιματώματος
1925	Putnam, Cushing	Συστηματική περιγραφή, παθοφυσιολογία και θεραπεία
1932	Gardner	Προτείνει ως μηχανισμό CSDH τη θεωρία της ωσμωτικής πίεσης
1934	Zollinger, Gross	Προτείνουν ως μηχανισμό CSDH τη θεωρία της ογκοτικής πίεσης
1955	Gitlin	Προτείνει τη θεωρία διάχυσης
1971	Weir	Αντικρούει την ωσμωτική θεωρία του Gardner
1975	Sato, Suzuki	Προτείνει τη θεωρία των επαναλαμβανόμενων μικροαιμορραγιών
1976	Ito, Yamamoto	Μηχανισμός ινωδόλυσης, ινωδολυτικά ένζυμα στο CSDH
1979	Yamada	Πρώτη αναφορά μετατροπής SDG σε CSDH
1980	Weir	Αντικρούει την ογκοτική θεωρία των Zollinger και Gross
1981	Markwalder	Υποστηρίζει τη θεωρία των επαναλαμβανόμενων μικροαιμορραγιών μετά από βιβλιογραφική ανασκόπηση
1987	Ohno	50% των ασθενών με SDG θα αναπτύξουν CSDH
1994	Lee	Παθογένεση του τραυματικού υποσκληρίδιου υγρώματος
1996	Lee	Συσχέτιση μεταξύ των υποσκληρίδιων συλλογών
1998	Lee	Προέλευση του CSDH
2004	Lee	Φυσική ιστορία χρόνιου υποσκληρίδιου αιματώματος

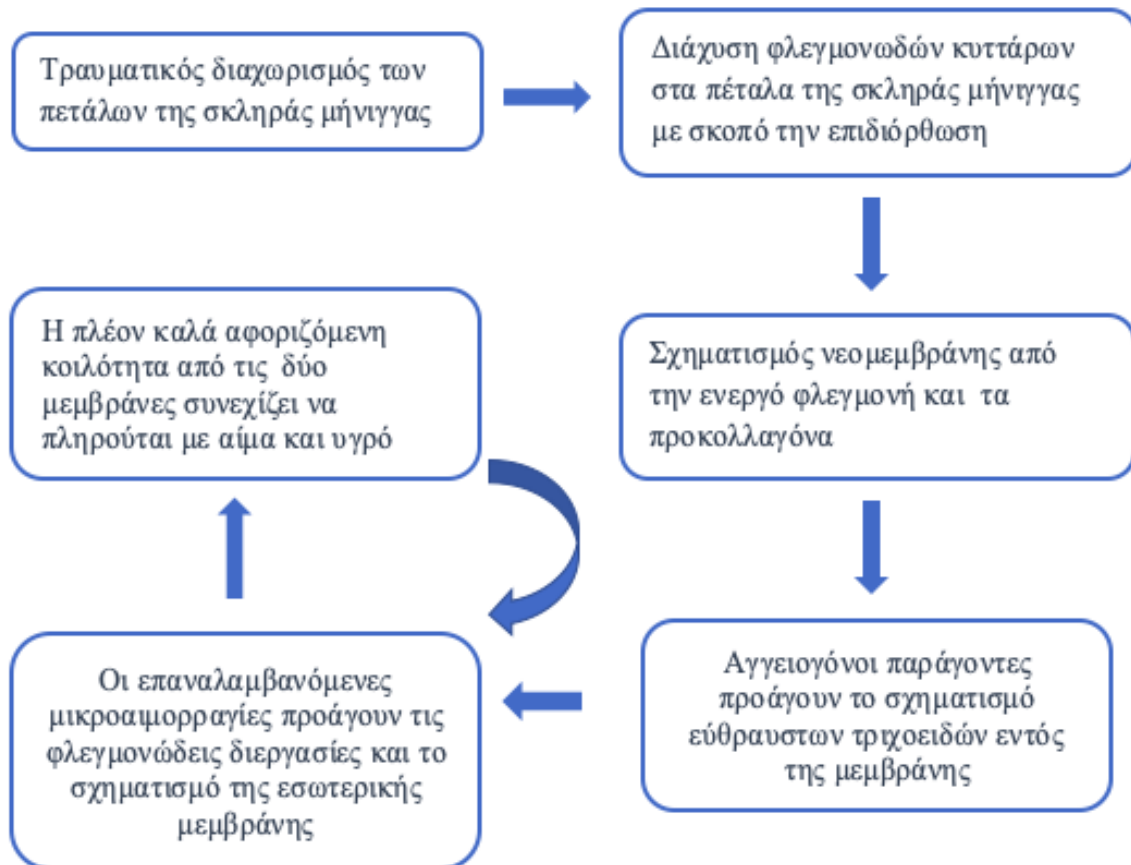
## Παθοφυσιολογία

Εάν και η τραυματική βλάβη παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση του CSDH, φαίνεται ότι ακόμα μένουν αναπάντητα αρκετά ερωτήματα σχετικά με τη δημιουργία του αιματώματος. Αρχικά οι πρώτοι ερευνητές ήταν πεπεισμένοι ότι το CSDH ήταν το προοδευτικό αποτέλεσμα ενός οξέου υποσκληρίδιου αιματώματος που είτε παρέμεινε ασυμπτωματικό είτε δεν διαγιγνώστηκε ποτέ. Και αυτό γιατί δεν υπήρχε σαφής εξήγηση για το λανθάνον διάστημα από την κάκωση της κεφαλής έως την έναρξη των συμπτωμάτων. Όπως προαναφέρθηκε, ο Bayle το 1826 πρότεινε την χρόνια επαναιμορραγία ως μηχανισμό παθογένεσης. Το 1925, οι Putman και Cushing διατύπωσαν τη θεωρία ότι η υποτροπιάζουσα αιμορραγία ήταν αυτή που προκαλούσε την προοδευτική μεγέθυνση του αιματώματος. Ωστόσο, το 1932 ο WJ Gardner πρότεινε ότι η επέκταση του αρχικού υποσκληρίδιου θρόμβου συνέβαινε από ωσμωτική έλξη εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY, cerebrospinal fluid - CSF) από το αίμα εντός των ημιδιαπερατών μεμβρανών του αιματώματος (ωσμωτική θεωρία CSF/CSDH) [12]. Ενώ η ωσμωτική θεωρία διατυπώθηκε το 1932 από τον Gardner, το 1934 οι Robert Zollinger και Robert Gross, τροποποίησαν τη θεωρία του Gardner διατυπώνοντας ότι η ωσμωτική πίεση στον υποσκληρίδιο αιμάτωμα διατηρούνταν από τη σταδιακή αποσύνθεση των ερυθροκυττάρων σε ογκομετρικά δραστικές ουσίες. Έτσι σταδιακά, μετά από ένα λανθάνοντα χρόνο, αρκετό υγρό θα απορροφούνταν από το πλάσμα διά των αγγείων της μήνιγγας, με αποτέλεσμα την πίεση του εγκεφαλικού παρεγχύματος και την ακόλουθη κλινική συμπτωματολογία (ωσμωτική θεωρία serum/CSDH) [13]. Η ωσμωτική θεωρία παρέμεινε στο προσκήνιο για περίπου 40 έτη, έως ότου ο Bryce Weir δημοσίευσε το 1971 μία μελέτη με 23 ασθενείς με CSDH αποδεικνύοντας ότι οι πρωτεΐνες στο πλάσμα, το ENY και το CSDH δεν διαφοροποιούνται και άρα δεν στοιχειοθετείται η ωσμωτική θεωρία των Gardner και Zollinger / Gross [14]. Αργότερα ο ίδιος το 1980, σε μία νέα μελέτη με 20 ασθενείς με CSDH ήρθε εκ νέου να επιβεβαιώσει ότι οι πρωτεΐνες σε φλεβικό αίμα και CSDH δεν διαφέρουν ουσιαστικά και άρα έμμεσα να αμφισβητήσει εκ

νέου τη θεωρία των Zollinger / Gross [15]. Παρά ταύτα ο Weir δεν κατάφερε να εξηγήσει το μηχανισμό αύξησης του αιματώματος. Οι προσπάθειες να αναπαραχθεί CSDH σε πειραματόζωα (ποντίκια, αρουραίοι, γάτες, σκύλοι και πίθηκοι) προκειμένου να τεκμηριωθεί ένας πιθανός παθοφυσιολογικός μηχανισμός, συνήθως έως τώρα αποτυγχάνει [16]. Η έγχυση αυτόλογου αίματος στον υποσκληρίδιο χώρο ποντικών ή σκύλων ενώ αποτελεί φαινομενικά μία καλή μέθοδο δημιουργίας CSDH, αποτυγχάνει είτε γιατί μία μικρή ποσότητα απορροφάται είτε γιατί μία μεγαλύτερη ποσότητα σκοτώνει το ζώο. Το 1972 ο Satoru Watanabe χρησιμοποίησε μία μέθοδο ώστε να αναπαραγάγει μία κλινική μορφή CSDH. Μετά από την επώαση αίματος με ENY, δημιουργήθηκε ένα ιδιόρρυθμο πήγμα το οποίο όταν εγχύθηκε στον υποσκληρίδιο χώρο των σκύλων ή των πιθήκων μεγάλωσε σταδιακά. Ιστολογικά, η κάψουλα του αιματώματος ήταν συγκρίσιμη με αυτήν του CSDH στους ανθρώπους [17]. Ωστόσο σε μία αντίστοιχη πειραματική προσπάθεια από τον Apfelbaum το 1974, δεν αναδείχθηκε αιτιολογική συσχέτιση του ENY στην δημιουργία του CSDH [18]. Η προσπάθεια να αποσαφηνιστεί η φύση του CSDH συνεχίστηκε με τη μελέτη της δομής των νεομεμβρανών και του περιεχομένου του αιματώματος. Το 1975 οι Sato και Suzuki βρήκαν επαναλαμβανόμενες μικροαιμορραγίες από τα τριχοειδή αγγεία της έξω μεμβράνης του CSDH, και θεώρησαν αυτές τις αιμορραγίες ως υπεύθυνες για την αύξηση του CSDH [19]. Οι Ito και Yamamoto το 1976 παρουσίασαν το ρόλο της τοπικής ινωδόλυσης στη δημιουργία του CSDH, ενώ οι ίδιοι το 1978 ανέδειξαν την παρουσία ινωδολυτικών ενζύμων στα τοιχώματα του αιματώματος [20,21]. Το 1981 ο Markwalder σε μία ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, υποστήριξε τη θεωρία των επαναλαμβανόμενων μικροαιμορραγιών από τη μεμβράνη του αιματώματος ως τον πιο πιθανό μηχανισμό αύξησης του CSDH. Η ανασκόπησή του σχετικά τη θεωρία της επαναλαμβανόμενης αιμορραγίας έγινε ευρέως αποδεκτή [22]. Ωστόσο, τα ασυμπτωματικά οξέα SDHs θεωρούνταν ύποπτα ως αίτια των

χρόνιων SDHs έως και το 1985 [23]. Έως το τέλος του 20<sup>ου</sup> αιώνα συνέχισαν να υπάρχουν αντιπαραθέσεις σχετικά με την αιτία και τη φυσική ιστορία του CSDH.

Σύμφωνα με τα νεότερα δεδομένα, στην παθοφυσιολογία της ανάπτυξης του CSDH έχουν αναγνωριστεί μηχανισμοί αγγειογένεσης, ινωδόλυσης και φλεγμονής. Η προκύπτουσα φλεγμονή οδηγεί σε σχηματισμό νέας μεμβράνης μέσω ίωσης, ενώ ταυτόχρονα τα αγγειογόνα ερεθίσματα, μέσω της προκύπτουσας αγγειογένεσης, οδηγούν στη δημιουργία εύθραυστων αιμοφόρων αγγείων εντός των τοιχωμάτων της μεμβράνης, επιτρέποντας τη διαρροή ερυθρών αιμοσφαιρίων, λευκών αιμοσφαιρίων και πλάσματος στην κοιλότητα του αιματώματος. Επιπλέον, οι ινωδολυτικές διεργασίες αποτρέπουν το σχηματισμό θρόμβων με αποτέλεσμα τη συνέχιση της αιμορραγίας [2,24,25]. Έχει εντοπιστεί αφθονία φλεγμονωδών κυττάρων και δεικτών εντός των μεμβρανών και του υποσκληρίδιου υγρού. Τα κύτταρα και οι δείκτες αυτοί είναι πιθανό να συμβάλλουν στη διάδοση μιας φλεγμονώδους απόκρισης η οποία διεγείρει τη συνεχιζόμενη ανάπτυξη της μεμβράνης και τη συσσώρευση υγρών, καθώς η ίδια η μεμβράνη έχει αναγνωριστεί ως πηγή εξαγγείωσης υγρών και αιμορραγίας. Τέλος, το τραυματικό σχίσσιμο του αραχνοειδούς μήνιγγας προκαλεί επίσης διαρροή εγκεφαλονωτιαίου υγρού στην κοιλότητα του αιματώματος, αυξάνοντας το μέγεθός του με την πάροδο του χρόνου [2,24,25]. [Εικόνα 1].



**Εικόνα 1. Αλγόριθμος ανάπτυξης υποσκληρίδιου αιματώματος**

Τα υποσκληρίδια αιμάτωμα ταξινομούνται ανάλογα με το χρόνο εμφάνισης σε οξέα (έως 72 ώρες), υποξέα (3-21 ημέρες) και χρόνια (>21 ημέρες) [2,24,25]. Το οξύ υποσκληρίδιο αιμάτωμα είναι ένα πήγμα αίματος χωρίς μεμβράνες, το υποξύ αιμάτωμα είναι ρευστοποιημένο αιμάτωμα με μία μόνο εξωτερική μεμβράνη, ενώ το CSDH είναι ένα ρευστοποιημένο αιμάτωμα που περιβάλλεται από νεοσχηματιζόμενες μεμβράνες. Το υποσκληρίδιο ύγρωμα (subdural hygroma - SDG), σε αντίθεση με τις προαναφερθείσες παθολογίες, δεν είναι αιμάτωμα αλλά διαυγές ή ξανθοχρωματικό ENY. Η παθογένεση του τραυματικού SDG πρώτη φορά τεκμηριώθηκε από τον Lee KS το 1994 [26]. Σύμφωνα με την εν λόγω θεωρία για να δημιουργηθεί το υποσκληρίδιο ύγρωμα θα πρέπει να υπάρχει δυνητικά αρκετός υποσκληρίδιος χώρος και ταυτόχρονα διαχωρισμός των πετάλων της σκληράς μήνιγγας (dural border cell – DBC layers). Ο διαχωρισμός του DBC συνήθως συμβαίνει

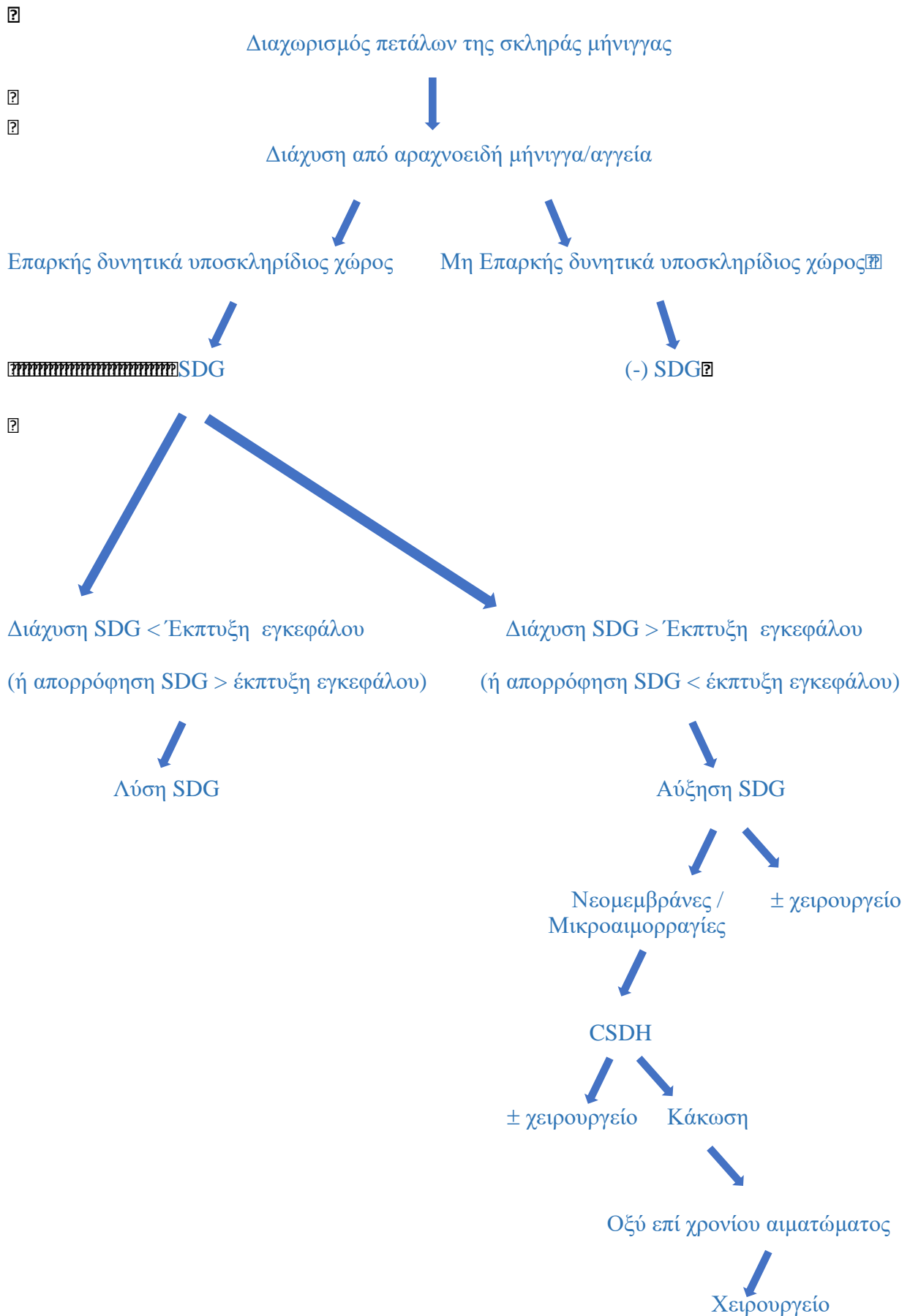
μετατραυματικά αλλά μπορεί να συμβεί μετά από κρανιοτομία, αφυδάτωση, συρρίκνωση του εγκεφάλου λόγω ηλικίας ή αυξημένης παροχέτευσης ENY. Αφορά συνήθως στις ακραίες ηλικιακές ομάδες (<5 έτη και >50 έτη) όπου ο υποσκληρίδιος χώρος δυνητικά παραμένει αυξημένος. Το SDG προκύπτει από ENY εκ διαχύσεως και στις περισσότερες των περιπτώσεων απορροφάται αυτόματα με την έκπτυξη του εγκεφάλου ή όταν η απορρόφησή του υπερβαίνει τη διάχυσή του. Ωστόσο, όταν ο εγκέφαλος παραμένει συρρικνωμένος ή όταν η διάχυση του ENY υπερβαίνει την απορρόφησή του, το SDG μεταπίπτει σε CSDH με τον μηχανισμό που προαναφέρθηκε. Πιο συγκεκριμένα, άμεσα μετά το διαχωρισμό τους, τα κυτταρικά στρώματα της σκληράς μήνιγγας πολλαπλασιάζονται [27-30]. Ινοβλάστες κάνουν την εμφάνισή τους το πρώτο 24ωρο και σχηματίζουν την εξωτερική μεμβράνη η οποία γίνεται ορατή την πρώτη εβδομάδα, και την εσωτερική μεμβράνη η οποία γίνεται ορατή περίπου την τρίτη εβδομάδα. Αυτές οι νεομεμβράνες περικλείουν το υποσκληρίδιο αιμάτωμα. Εν συνεχεία, λαμβάνει χώρα η νεοαγγείωση, ειδικά στην εξωτερική μεμβράνη, και ακολούθως η αιμορραγία από τα νεοσύστατα αυτά αγγεία [31]. Επομένως το SDG μεταπίπτει σε CSDH ως αποτέλεσμα των συνεχόμενων μικροαιμορραγιών από τις νεομεμβράνες. Η πρώτη καταγεγραμμένη αναφορά μετατροπής του SDG σε CSDH διατυπώθηκε από τον Yamada το 1979, ενώ ο Ohno το 1987 παρατήρησε ότι περίπου το 50% των ασθενών με SDG θα αναπτύξουν CSDH [32,33]. Πρότειναν ότι το χρόνια υποσκληρίδιο αιμάτωμα συνήθως αναπτύσσεται ως αποτέλεσμα τραυματικού SDG. Αντίστοιχη διαδικασία μετατροπής έχει περιγραφεί σε πολλές δημοσιευμένες εργασίες [34-43].

Οι ασθενείς με CSDH είναι επιρρεπείς σε πτώσεις. Εάν χτυπήσουν το κεφάλι τους, ακόμα και εάν η πρόσκρουση είναι ασήμαντη, μπορεί να προκληθεί τραυματισμός των γεφυρικών φλεβών του εγκεφάλου ή των εύθραυστων αγγείων των νεομεμβρανών. Επαναλαμβανόμενες κακώσεις κεφαλής μπορεί να οδηγήσουν σε οξεία αιμορραγικά στοιχεία τα οποία μπορούν να λειτουργήσουν ως μηχανισμός αύξησης του ήδη υπάρχοντος CSDH.

Με τους επαναλαμβανόμενους τραυματισμούς της κεφαλής, όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, μπορούν επίσης να δημιουργηθούν τα SDG τα οποία στη συνέχεια θα μετατραπούν σε CSDH. Επιπλέον, εάν και τα ASDH έχουν τη χειρότερη πρόγνωση, μπορούν να μετατραπούν σε CSDH με την προϋπόθεση ότι υπάρχει ικανός δυνητικά υποσκληρίδιος χώρος ή ότι η αρχική ποσότητα αίματος είναι μικρή [44].

Αξίζει να σημειωθεί ότι το CSDH δεν είναι μία στατική βλάβη, αλλά μία βλάβη που εξελίσσεται [45]. Οποιοσδήποτε δυνάμεις συρρικνώνουν το εγκεφαλικό παρέγχυμα ευοδώνουν το σχηματισμό αιματώματος, ενώ οι δυνάμεις που διογκώνουν τον εγκέφαλο μπορούν να εμποδίσουν τη δημιουργία αιματωμάτων. Η αρχική λεπτή νεομεμβράνη, ωριμάζει, οργανώνεται ή ακόμα και ασβεστοποιείται με την πάροδο του χρόνου [45]. Τα CSDH μεγεθύνονται όταν συμβαίνει επαναιμορραγία, ενώ κάποια από αυτά θα υποχωρήσουν αυτόματα όταν η απορρόφησή τους ή η έκπτυξη του εγκεφάλου υπερβεί την επαναιμορραγία [46]. Όταν οι νεομεμβράνες ωριμάζουν, τα νεοαγγεία δεν είναι πλέον εύθραυστα [45]. Η ωρίμανση των μεμβρανών και η σταθεροποίηση της νεοαγγείωσης είναι τα δύο στοιχεία που θα επιφέρουν τελικά τη λύση του αιματώματος [45,47].

Συμπερασματικά, η δημιουργία του CSDH είναι ποικίλης αιτιολογίας. Μπορεί να δημιουργηθεί αυτόματα, ή να εξελιχθεί από ένα SDG ή ένα ASDH. Αν και το τραύμα μπορεί να προκαλέσει διαχωρισμό των πετάλων της σκληράς μήνιγγας, συχνά σε ένα μεγάλο ποσοστό αυτών των αιματωμάτων δεν υφίσταται τραυματισμός [48]. Μια ακόμα σημαντική προϋπόθεση στη δημιουργία των CSDH είναι η παρουσία δυνητικά ικανού υποσκληρίδιου χώρου σε προχωρημένες ηλικίες λόγω εγκεφαλικής ατροφίας. Στην τελευταία περίπτωση τίθεται το ερώτημα εάν το CSDH αποτελεί τραυματική ή εκφυλιστική νόσο [Εικόνα 2].



**Εικόνα 2. Αλγόριθμος ανάπτυξης υποκληρίδιου υγρώματος και πιθανούς μετατροπής σε χρόνια υποσκληρίδιο αιμάτωμα**



## **Αιτιολογία – Προδιαθεσικοί παράγοντες**

Το CSDH συμβαίνει συνήθως σε ηλικιωμένους ασθενείς μετά από τραυματική βλάβη εγκεφάλου. Λιγότερα συχνά το CSDH μπορεί να προκληθεί αυτόματα σε συνάρτηση με προδιαθεσικούς παράγοντες όπως η κατάχρηση αλκοόλ, η λήψη αντιαιμοπεταλιακής / αντιπηκτικής αγωγής, η καρδιαγγειακή νόσος (υπέρταση, αρτηριοσκλήρυνση), οι επιληπτικές κρίσεις, οι προϋπάρχουσες αραχνοειδείς κύστες και οι διαταραχές πήκτικότητας σε έδαφος αιματολογικών νόσων (θρομβοπενία, αιμορροφιλία, ηπατικές βλάβες, νεφροπάθειες κ.ά. [1-3]. Οι αγγειακές βλάβες επίσης μπορούν να εκδηλωθούν με υποσκληρίδια αιμορραγία, συμπεριλαμβανομένων των ανευρυσμάτων και των αρτηριοφλεβωδών επικοινωνιών, αλλά συνήθως εκδηλώνονται με οξεία αιμορραγία η οποία δυνητικά θα μπορούσε να μετατραπεί σε χρόνια συλλογή. Μία χρόνια υποσκληρίδια αιμορραγία μπορεί επίσης να προκύψει δευτερογενώς από ένα οξύ/υποξύ υποσκληρίδιο αιμάτωμα που είτε αντιμετωπίστηκε συντηρητικά είτε παρέμεινε μετεγχειρητικό υπόλειμμα και μετέπεσε σε φάση χρονιότητας, καθώς επίσης και μετά από επεμβάσεις εγκεφάλου. Τέλος, το CSDH μπορεί να παρουσιαστεί στα πλαίσια ενδοκράνιας υπότασης, αρχικά ως ύγρωμα που στη συνέχεια αιμορράγησε (ιδιοπαθώς, μετά από οσφουονωτιαία παρακέντηση, μετά από επισκληρίδια αναισθησία, μετά από επέμβαση στη σπονδυλική στήλη, στα πλαίσια υπερλειτουργίας παροχτευτικών συστημάτων εγκεφαλονωτιαίου υγρού, μετά από επεμβάσεις με διαφυγή ENY) [2,3].

## **Πρόγνωση**

Η πρόγνωση του CSDH εξαρτάται από την ηλικία, την GCS κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο και από συνοδές παθήσεις (καρδιολογικές, νεφρολογικές, αιματολογικές κ.ά.) ή φάρμακα που προκαλούν αιμορραγική διάθεση [49]. Σε μία μελέτη, η ηλικία πάνω από τα 65, η GCS 6-12 προεγχειρητικά και το ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη συνδέθηκαν με πτωχή πρόγνωση [50].

Μία άλλη μελέτη κατέδειξε ότι οι ασθενείς άνω των 75, η μετατόπιση της μέσης γραμμής > 10 mm και το πάχος του αιματώματος > 30 mm ήταν σημαντικοί αρνητικοί προγνωστικοί παράγοντες [51].

Η θνησιμότητα του CSDH είναι περίπου 2%. Σε μία αναδρομική μελέτη του 2020 μελετήθηκε η μακροπρόθεσμη θνησιμότητα του CSDH και αναδείχθηκαν ως σημαντικοί επιβαρυντικοί παράγοντες χαρακτηριστικά των ασθενών και όχι χαρακτηριστικά του αιματώματος ή η υποτροπή. Επομένως αυξημένη θνητότητα παρατηρήθηκε σε ασθενείς με πτωχό Rankin score, κατάχρηση αλκοόλ, λήψη αντιπηκτικών φαρμάκων, ηλικία >80, μη τραυματική αιτιολογία CSDH και οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν συντηρητικά. Οι ασθενείς με CSDH είχαν επίσης αυξημένο κίνδυνο θνητότητας λόγω άνοιας [52].

Τέλος, σχετικά με την υποτροπή του CSDH το ποσοστό κυμαίνεται από 5-30% [53]. Ενοχοποιητικοί παράγοντες παραμένουν η μεγάλη ηλικία, η επιβαρυνμένη γενική κατάσταση του ασθενούς, η κατανάλωση αλκοόλ, οι συστηματικές παθήσεις όπως η ηπατική και νεφρική ανεπάρκεια και τα αμφοτερόπλευρα υποσκληρίδια αιματώματα. Ο ρόλος των αντιπηκτικών φαρμάκων δεν έχει τεκμηριωθεί στην υποτροπή, ενώ η θέση και η μορφολογία του CSDH τροποποιούν τον κίνδυνο υποτροπής [3,54].

### **Κλινική συμπτωματολογία**

Η παρουσίαση του CSDH ποικίλει από απουσία συμπτωμάτων έως και την εμφάνιση ποικίλους συμπτωματολογίας όπως η κεφαλαλγία, οι επιληπτικές κρίσεις, οι διαταραχές μνήμης και ομιλίας, η σύγχυση και η μείωση του επιπέδου συνείδησης, η αστάθεια βάδισης με πιθανές πτώσεις επί εδάφους και οι διαταραχές κινητικότητας και αισθητικότητας των άκρων. Επίσης οι ασθενείς μπορούν να παρουσιαστούν με σημεία δευτεροπαθούς παρκινσονισμού [2,3,55].

Η κεφαλαλγία και η σύγχυση αποτελούν τα συχνότερα συμπτώματα σε ποσοστό 90% και 56% αντίστοιχα. Η ημιπάρεση και η πτώση του επιπέδου εγρήγορσης είναι επίσης συχνά και εμφανίζονται σε ποσοστό 58% και 40% αντίστοιχα. Αρκετά συχνά είναι παρούσα και η αστάθεια βάδισης, ενώ με επιληπτικές κρίσεις θα εμφανιστεί ένα 10-20% των CSDH [56].

Σε γενικές γραμμές υπάρχει μία επικράτηση διαφορετικής συμπτωματολογίας ανάλογα με την ηλικία των ασθενών. Σε μεγαλύτερης ηλικίας ασθενείς υπερέχουν η σύγχυση, η υπνηλία, η ημιπάρεση και οι διαταραχές μνήμης, ενώ σε αντίθεση σε νεότερους ασθενείς είναι πιο συνήθη τα συμπτώματα ενδοκράνιας υπέρτασης όπως η κεφαλαλγία και οι έμετοι. [57].

Εν κατακλείδι, η κλινική εξέλιξη του CSDH μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε τρεις βασικές περιόδους: στην αρχική περίοδο του τραύματος, στην λανθάνουσα περίοδο όπου λαμβάνει χώρα η αύξηση του αιματώματος και τέλος, στην κλινική εκδήλωση του αιματώματος. Η αρχική περίοδος μπορεί να παρουσιαστεί μετά από ένα ή πολλαπλά κλινικά ή υποκλινικά τραυματικά γεγονότα που θα οδηγήσουν στον αρχικό σχηματισμό του αιματώματος [6].

### **Διαγνωστικός έλεγχος**

Η αξονική και η μαγνητική τομογραφία αποτελούν τις εξετάσεις εκλογής για τα υποσκληρίδια αιματώματα. Στην αξονική τομογραφία μπορεί να αποτυπωθεί η ηλικία και η οργάνωση του αιματώματος. Τα υποσκληρίδια αιματώματα ταξινομούνται ανάλογα με το χρόνο εμφάνισης σε οξέα (έως 72 ώρες), υποξέα (3-7 ημέρες) και χρόνια (>21 ημέρες) [2,24,25]. Το οξύ υποσκληρίδιο αιμάτωμα απεικονίζεται υπέρπυκνο σε σχέση με το εγκεφαλικό παρέγχυμα (>50-60 HU), ενώ το υποξύ αιμάτωμα είναι ισόπυκνο με τον εγκέφαλο (35-40 HU) κάνοντάς το πολλές φορές δύσκολο να διακριθεί, ιδιαίτερα εάν είναι αμφοτερόπλευρο. Στην περίπτωση που δεν υπάρχει διαθέσιμη μαγνητική τομογραφία, μπορεί να φανεί χρήσιμη η αξονική τομογραφία με σκιαγραφικό για την ανίχνευση έμμεσων απεικονιστικών σημείων στην επιβεβαίωση του αιματώματος. Πιο συγκεκριμένα, οι αύλακες

με εγκεφαλονωτιαίο υγρό δεν φτάνουν στο κρανίο αλλά εξαλείφονται υποσκληρίδια, η πίεση του αιματώματος δημιουργεί εξαφάνιση - παραμόρφωση αυλάκων με συνοδό μετατόπιση της μέσης γραμμής και υπάρχει εμφανής πάχυνση του φλοιού.

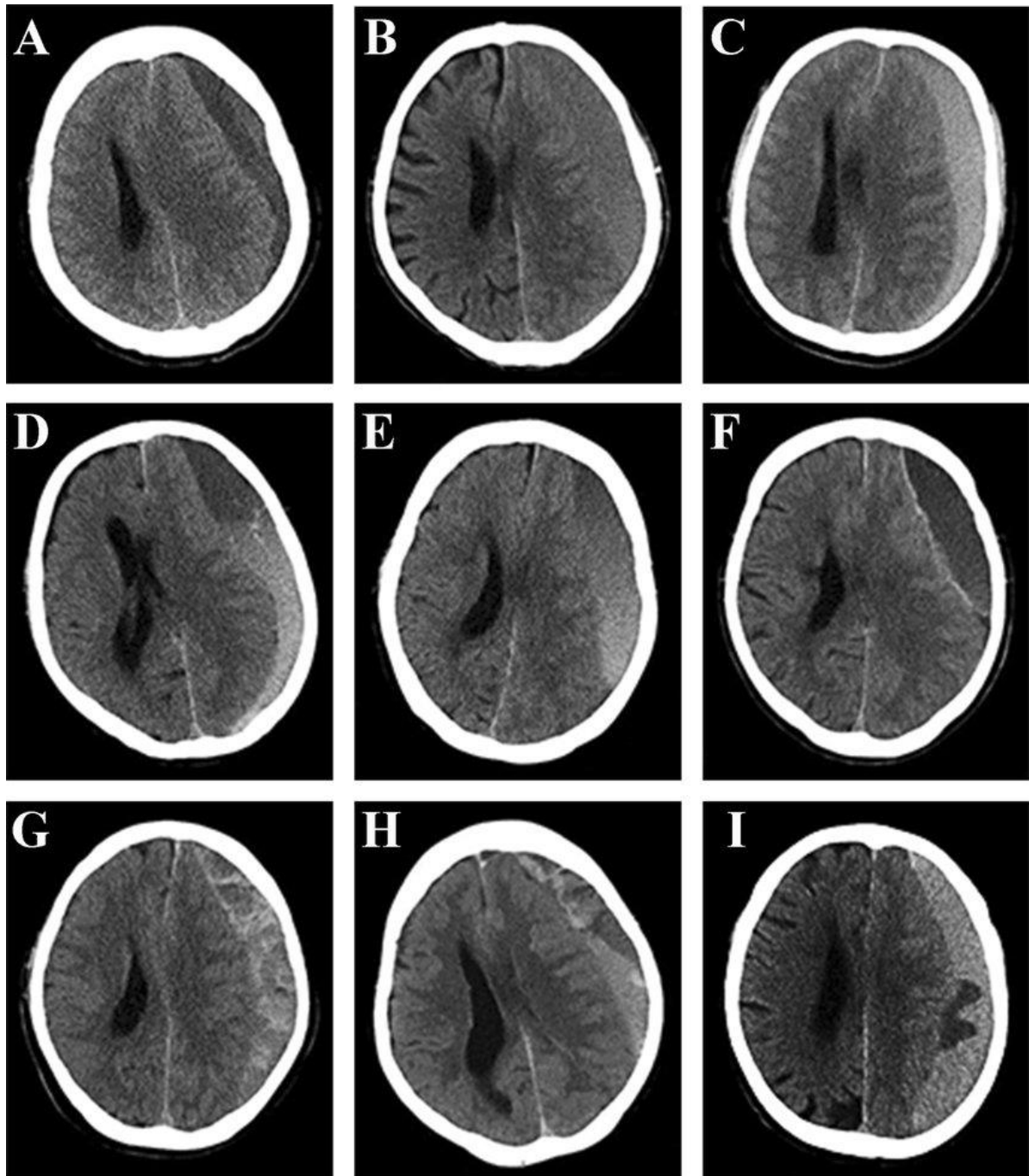
Τέλος το χρόνιο υποσκληρίδιο αιμάτωμα, απεικονίζεται υπόπυκνο σε σχέση με το εγκεφαλικό παρέγχυμα και μπορεί να γίνει ακόμα και ισόπυκνο με το ENY (0 HU), προσομοιάζοντας με υποσκληρίδιο ύγρωμα [48,58,59]. Το οξύ επί χρονίου αιμάτωμα αναφέρεται σε μία δεύτερη αιμορραγία σε ένα ήδη υπάρχον χρόνιο αιμάτωμα, οπότε και παρουσιάζεται στην αξονική ως υπόπυκνο με “φαινόμενο αιματοκρίτη”, δηλαδή εμπεριέχοντας ένα σαφές επίπεδο οξέος αίματος [60]. Το υποσκληρίδιο ύγρωμα δεν είναι αιμάτωμα αλλά διαυγές ή ξανθοχρωματικό ENY, οπότε και απεικονίζεται έντονα υπόπυκνο με το παρέγχυμα [34,35].

Οι απεικονιστικοί υπότυποι του υποσκληρίδιου αιματώματος στην αξονική τομογραφία εγκεφάλου, όπως περιγράφονται στην εικόνα 2, είναι οι εξής: *ομοιογενές* (υπέρπυκνο, ισόπυκνο, υπόπυκνο), *διαχωρισμένο* (αιμάτωμα διαφορετικής σύστασης και χρόνου σαφώς διαχωριζόμενα μεταξύ τους - σημείο αιματοκρίτη), *διαβαθμισμένο* (η πυκνότητα αιματώματος αλλάζει σταδιακά από υπέρπυκνο σε υπόπυκνο), *δοκιδώδες* (το αιμάτωμα διαχωρίζεται από πολλαπλές υπέρπυκνες μεμβράνες), *μεικτό* (δύο ή περισσότεροι τύποι αιματώματος), *μεμβρανώδες* (γραμμοειδές υπέρπυκνο αιμάτωμα στην εσωτερική μεμβράνη του αιματώματος) [61] [Εικόνα 3].

Οι υπότυποι του CSDH έχουν επίσης προγνωστική αξία καθώς συνδέονται με πιθανή υποτροπή ως ακολούθως: μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής εμφανίζει το ισόπυκνο, το υπέρπυκνο, το μεμβρανώδες και το διαχωρισμένο αιμάτωμα, ενώ μικρότερο κίνδυνο υποτροπής εμφανίζει το υπόπυκνο, το διαβαθμισμένο και το δοκιδώδες αιμάτωμα [62,63].

Η απεικόνιση του υποσκληρίδιου αιματώματος στη μαγνητική τομογραφία είναι σαφέστατα πιο ακριβής αλλά και πιο πολύπλοκη [Πίνακας 2]. Η εμφάνιση του αιματώματος ποικίλει

ανάλογα με το βιοχημικό στάδιο της αιμοσφαιρίνης το οποίο με τη σειρά της ποικίλει με την ηλικία του αιματώματος [Εικόνα 3]. Η πιο ευαίσθητη ακολουθία παραμένει η Flair.

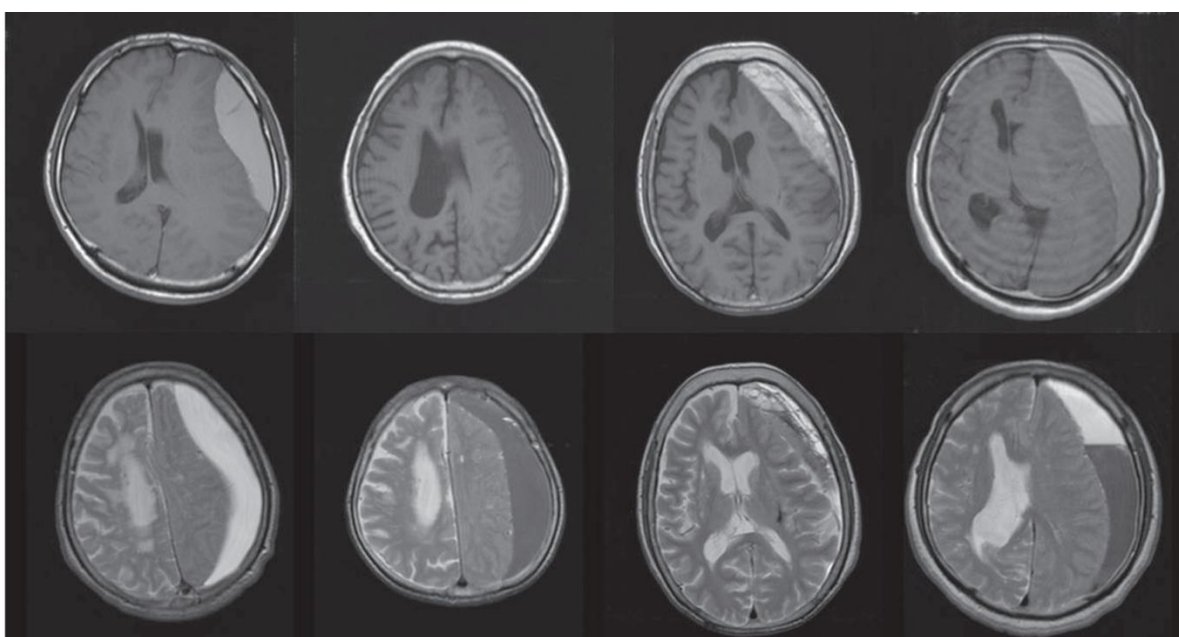


**Εικόνα 3.** Ταξινόμηση υποσκληρίδιων αιματωμάτων με βάση την απεικονιστική μορφολογία του όπως παρουσιάστηκε από τον Nakaguchi και τους συνεργάτες του. Α. Ομοιογενές υπόπυκνο Β. Ομοιογενές ισόπυκνο C. Ομοιογενές υπέρπυκνο D. Διαχωρισμένο E. Διαβαθμισμένο F. Μεμβρανώδες G. Δοκιδώδες H, I. Μεικτού τύπου (Nakaguchi et al., 2001)

Η προεγχειρητική απεικόνιση του αιματώματος στην T1 ακολουθία, ιδιαίτερα η T1 ισόπυκνη - υπόπυκνη μορφολογία, φαίνεται να αποτελεί έναν υψηλό δείκτη πιθανούς υποτροπής (18.2% έναντι 5.2% σε σχέση με τις άλλες ακολουθίες) [64].

	T1	T2
Οξύ	ίσης έντασης	χαμηλής έντασης
Υποξύ	υψηλής έντασης (μεθαιμοσφαιρίνη)	ποικίλει, συνήθως υψηλής έντασης
Χρόνιο	χαμηλής έντασης (σταθερό) υψηλής έντασης (επαναιμορραγία ή φλεγμονή)	χαμηλής έντασης (σταθερό) υψηλής έντασης (επαναιμορραγία)

**Πίνακας 2.** Κατάταξη των CSDH με βάση την πυκνότητά τους σε σχέση με το εγκεφαλικό παρέγχυμα στις T1, T2 ακολουθίες.



**Εικόνα 4.** Ταξινόμηση των χρόνιων υποσκληρίδιων αιματωμάτων με βάση την ένταση σήματος στις ακολουθίες της μαγνητικής τομογραφίας, όπως παρουσιάζεται από τον Goto και τους συνεργάτες του. T1 ακολουθία (πάνω σειρά) και T2 ακολουθία (κάτω σειρά). Από αριστερά προς τα δεξιά: Υψηλής έντασης αιμάτωμα, ίσης ή χαμηλής έντασης αιμάτωμα, μικτής έντασης αιμάτωμα, διαχωρισμένο αιμάτωμα (Goto et al., 2015)

## Θεραπεία

Η αντιμετώπιση του χρόνιου υποσκληρίδιου αιματώματος εξαρτάται από την χωροκατάκτηση και το νευρολογικό έλλειμμα που ασκεί η συλλογή, και επομένως συνδέεται άμεσα με το μέγεθος του αιματώματος. Μικρά αιματώματα που δεν προκαλούν συμπτώματα μπορούν να

αντιμετωπιστούν συντηρητικά και να παρακολουθούνται με διαδοχικές αξονικές τομογραφίες εγκεφάλου. Συλλογές που προκαλούν συμπτώματα πρέπει να αντιμετωπίζονται χειρουργικά στην πλειονότητα των περιπτώσεων [65].

Χωρίς καμία θεραπευτική παρέμβαση, μόνο λίγα χρόνια αιματώματα θα υποχωρήσουν [39,45], ενώ περίπου το 40% των ασθενών τελικά θα αναρρώσουν μετά από φαρμακευτική αγωγή χωρίς χειρουργική παρέμβαση [66,67]. Ωστόσο, το 20% των ασθενών που αντιμετωπίζεται συντηρητικά, θα εμφανίσει κλινική επιδείνωση και θα υποβληθεί τελικά σε χειρουργική επέμβαση [65].

Η χρήση κορτικοστεροειδών αποτελεί την πιο συχνή φαρμακευτική αγωγή είτε ως μονοθεραπεία, τουλάχιστον στο αρχικό στάδιο παρακολούθησης, είτε επικουρικά σε υποτροπή μετά από χειρουργείο [65]. Η χρήση κορτιζόνης φαίνεται να μειώνει την τοπική φλεγμονή και τη νεοαγγειογένεση [24,68,69].

Σε μία συστηματική ανασκόπηση του 2012, που συνολικά συμπεριλήφθηκαν 5 μελέτες παρατήρησης, αναζητήθηκε η αποτελεσματικότητα των κορτικοστεροειδών, τόσο ως μονοθεραπεία όσο και ως συμπληρωματική θεραπεία στη χειρουργική αντιμετώπιση των CSDH. Η θεραπεία με κορτικοστεροειδή ± χειρουργείο συγκρίθηκε είτε μόνο με την απλή παρακολούθηση των CSDH είτε μόνο με τη χειρουργική αντιμετώπιση των CSDH αξιολογώντας παράγοντες όπως η θνησιμότητα, η νευρολογική έκβαση, η επανεπέμβαση και οι επιπλοκές. Τα ποσοστά επανεπέμβασης κυμαίνονταν από 3-28%, τα ποσοστά θνησιμότητας από 0-13%, ενώ καλή έκβαση παρατηρήθηκε σε ποσοστά 83-100%. Η

υπεργλυκαιμία ως επιπλοκή παρατηρήθηκε πιο συχνά στους ασθενείς που έλαβαν κορτιζόνη ως θεραπεία.

Συμπερασματικά, στις 5 μελέτες που συμπεριλήφθηκαν τελικά στην ανασκόπηση, αναδείχθηκε ο πιθανός ευεργετικός ρόλος των κορτικοστεροειδών στη θεραπεία του CSDH [70].

Σε μία μελέτη του 2017, μελετήθηκαν συνολικά 27 ασθενείς με υποτροπιάζοντα CSDH. Μόνο τρεις από τους ασθενείς υποβλήθηκαν άμεσα σε επανεπέμβαση. Από τους 24 ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με δεξαμεθαζόνη, οι 17 (70.8%) δεν χρειάστηκε να υποβληθούν σε περαιτέρω θεραπεία, ενώ μόνο 7 χρειάστηκαν ξανά χειρουργείο. Επιπλοκές εμφάνισε το 12.5% των ασθενών που έλαβαν κορτιζόνη (υπεργλυκαιμία, λοίμωξη ουροποιητικού, πνευμονία) [71].

Σε μία άλλη συστηματική ανασκόπηση και μετανάλυση του 2019 συμπεριλήφθηκαν συνολικά 7 μελέτες παρατήρησης που σύγκριναν τουλάχιστον 2 από τις ακόλουθες 3 παραμέτρους: τη χρήση κορτικοστεροειδών ως μονοθεραπεία, τα κορτικοστεροειδή σε συνδυασμό με τη χειρουργική επέμβαση και τη χειρουργική παρέμβαση χωρίς άλλη συνοδό θεραπεία. Η έκβαση κρίθηκε με βάση το νευρολογικό προφίλ, την ανάγκη για επανεπέμβαση, τη θνησιμότητα και τις επιπλοκές. Δεν αναδείχθηκε σημαντική διαφορά στην καλή νευρολογική έκβαση και στις επιπλοκές ανάμεσα στις θεραπευτικές επιλογές. Η ανάγκη για επανεπέμβαση κυμάνθηκε σε ποσοστό 4 έως 58% στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν κορτικοστεροειδή ως μονοθεραπεία, σε ποσοστό 4–12% στην ομάδα των ασθενών που αντιμετωπίστηκαν με κορτικοστεροειδή μαζί με χειρουργική επέμβαση και τέλος σε ποσοστό 7–26% σε αυτούς που αντιμετωπίστηκαν μόνο χειρουργικά. Επομένως η ανάγκη για επανεπέμβαση ήταν χαμηλότερη στους ασθενείς που έλαβαν κορτιζόνη και χειρουργήθηκαν σε σχέση με αυτούς τους ασθενείς που είτε χειρουργήθηκαν είτε έλαβαν κορτιζόνη ως μονοθεραπεία. Η θνησιμότητα κυμαινόταν από 0 έως 4% στους ασθενείς που



αντιμετωπίστηκαν με κορτιζόνη, από 0 έως 13% στην ομάδα των ασθενών που αντιμετώπιστηκαν με κορτικοστεροειδή και χειρουργείο και από 0 έως 44% στους ασθενείς που υπεβλήθησαν αποκλειστικά σε χειρουργική επέμβαση. Η θνησιμότητα αποδείχθηκε χαμηλότερη σε αυτούς που έλαβαν κορτιζόνη και χειρουργήθηκαν σε σχέση με αυτούς τους ασθενείς που μόνο χειρουργήθηκαν.

Εν κατακλείδι, στις 7 μελέτες που συμπεριλήφθηκαν τελικά στην ανασκόπηση, αναδείχθηκε πως η προσθήκη κορτικοστεροειδών στη χειρουργική θεραπεία φαίνεται να συνεισφέρει ευεργετικά στην αντιμετώπιση του CSDH [72].

Στην πρώτη προοπτική, διπλή τυφλή, τυχαιοποιημένη μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2020, εκτιμήθηκε η επίπτωση της κορτιζόνης στην υποτροπή και την έκβαση των ασθενών με CSDH με την ταυτόχρονη τοποθέτηση υποσκληρίδιου καθετήρα μετεγχειρητικά. Η χρήση κορτιζόνης σε συνδυασμό με την τοποθέτηση υποσκληρίδιου καθετήρα φάνηκε να αποτελούν ασφαλείς μεθόδους που μπορούν να μειώσουν την πιθανότητα υποτροπής [73].

Σε μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη μελέτη που διεξάχθηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο το 2020 (**Dex-CSDH trial**), εκτιμήθηκε η πορεία των ασθενών με συμπτωματικό CSDH αφού τους χώρισαν σε δύο ομάδες, δηλαδή στην ομάδα που έλαβε κορτιζόνη και την placebo ομάδα. Ευνοϊκή έκβαση αναφέρθηκε σε ποσοστό 83.9% των ασθενών που έλαβαν δεξαμεθαζόνη και σε ποσοστό 90.3% των ασθενών που έλαβαν placebo θεραπεία. Επανεπέμβαση λόγω υποτροπής χρειάστηκε το 1.7% των ασθενών στην ομάδα δεξαμεθαζόνης και το 7.1% στην placebo ομάδα. Συμπερασματικά, ανάμεσα στους ασθενείς με CSDH (οι περισσότεροι εκ των οποίων αντιμετώπιστηκαν αρχικά χειρουργικά), η θεραπεία με κορτιζόνη οδήγησε σε λιγότερο ευνοϊκά αποτελέσματα και περισσότερες επιπλοκές σε σχέση με την placebo ομάδα ασθενών, παρόλο που στην ομάδα που χορηγήθηκε δεξαμεθαζόνη υπήρξαν λιγότερες υποτροπές [74].

Σε μία ακόμη πολυκεντρική μελέτη του 2020 στην οποία συμπεριελήφθησαν συνολικά 1313 ασθενείς με CSDH, το συνολικό ποσοστό υποτροπής βρέθηκε στο 10.1%. Ο κίνδυνος υποτροπής μετεγχειρητικά δεν συσχετίστηκε με την ηλικία, τη χρήση αντιπηκτικής / αντιαιμοπεταλιακής αγωγής και την παρουσία ετερόπλευρου ή αμφοτερόπλευρου αιματώματος. Το ποσοστό αυτό ήταν υψηλότερο στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση χωρίς την τοποθέτηση υποσκληρίδιου καθετήρα, ενώ το ποσοστό υποτροπής εμφάνισε σταδιακή αύξηση σε σχέση με την επιλογή της χειρουργικής μεθόδου, δηλαδή την κρανιοστομία, την κρανιοανάτρηση και την κρανιοτομία (9.3, 11.3, και 18.9% αντίστοιχα). Χαμηλότερα ποσοστά υποτροπής παρουσιάστηκαν στους ασθενείς που έλαβαν αγωγή με κορτιζόνη. Συμπερασματικά, βρέθηκε ότι ο κίνδυνος υποτροπής είναι σημαντικά μειωμένος σε ταυτόχρονη χρήση κορτιζόνης και τοποθέτηση υποσκληρίδιου καθετήρα μετεγχειρητικά [75].

Σε μία μελέτη του 2020 συμπεριλήφθηκαν 364 ασθενείς με CSDH οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν συντηρητικά. Η πλειοψηφία των ασθενών αντιμετωπίστηκε συντηρητικά με παρακολούθηση, ενώ σε ένα μικρότερο ποσοστό χορηγήθηκε αγωγή με κορτικοστεροειδή. Δεν αναδείχθηκε σημαντική διαφορά στο ποσοστά των ασθενών που τελικά οδηγήθηκαν στο χειρουργείο ανάμεσα στις δύο υποομάδες [76].

Σε μία πολυκεντρική, προοπτική, τυχαιοποιημένη μελέτη του 2020 (**DECSA-R trial**) δεν αναδείχθηκε διαφορά στην κλινική έκβαση των ασθενών με συμπτωματικό CSDH ανάμεσα σε αυτούς που έλαβαν εξ αρχής αγωγή με κορτικοστεροειδή και σε αυτούς που χειρουργήθηκαν πρώιμα. Εάν και πρόσθετη χειρουργική παρέμβαση απαιτήθηκε στην πλειονότητα των ασθενών, η επέμβαση αποφεύχθηκε σε ένα 17% των ασθενών που έλαβαν δεξαμεθαζόνη. Η συντηρητική θεραπεία ωστόσο, φάνηκε να παρατείνει τη διάρκεια της νοσηλείας, να απαιτεί εντατικότερη απεικονιστική παρακολούθηση και να οδηγεί σε μεγαλύτερα ποσοστά επιπλοκών [77].

Τέλος, σε μια πολυκεντρική, προοπτική, διπλή τυχαιοποιημένη μελέτη του 2021 (**HEMACORT trial**) αναζητήθηκε η επίδραση της κορτιζόνης ως επικουρική θεραπεία στη χειρουργική αντιμετώπιση (υποτροπή του CSDH στο 6μηνο). Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι η χρήση πρεδνιζολόνης μπορεί να μειώσει την πρώιμη ακτινολογική υποτροπή του CSDH, χωρίς όμως να μπορεί να προσδιοριστεί σαφώς ένα ενδεχόμενο κλινικό όφελος [78].

Εκτός από τα κορτικοειδή, στη φαρμακευτική θεραπεία των CSDH έχει χρησιμοποιηθεί και το τρανεξαμικό οξύ. Το εν λόγω φάρμακο αναστέλλει την ινωδόλυση και έχει αιμοστατική και αντιφλεγμονώδη δράση. Χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο στο τραύμα, στη λειτουργική αιμορραγία της μήτρας, την υπερμηνορραγία, τη μη φυσιολογική αιμορραγία κατά τη διάρκεια επεμβάσεων, την ιδιοπαθή νεφρική αιμορραγία καθώς και στη θεραπεία φλεγμονών όπως η αμυγδαλίτιδα και η φαρυγγίτιδα [24,69]. Σε μια αναδρομική μελέτη του 2013 η χρήση του τρανεξαμικού οξέος σε 18 από τους 21 ασθενείς με CSDH αποδείχθηκε αποτελεσματική χωρίς να απαιτηθεί χειρουργική παρέμβαση [79].

Σε μία άλλη μελέτη του 2016 με 14 ασθενείς, παρατηρήθηκε μία μείωση του CSDH της τάξεως του 40.74% μετά από κλειστό σύστημα κρανιοστομίας παρά την κλίνη (bedside Subdural Evacuating Port System). Τα υπολειπόμενα αιματώματα αντιμετωπίστηκαν με τρανεξαμικό οξύ και παρουσίασαν 91.31% περαιτέρω μείωση [80].

Σε μία μελέτη του 2020 χρησιμοποιήθηκε τρανεξαμικό οξύ σε 7 ασθενείς με CSDH οι οποίοι εμφάνιζαν ήπια συμπτωματολογία. Πέντε ασθενείς εμφάνισαν πλήρη ύφεση της συμπτωματολογίας, σε έναν ασθενή απαιτήθηκε χειρουργική αφαίρεση του αιματώματος λόγω νευρολογικής επιδείνωσης, ενώ ένας ασθενής δεν βελτιώθηκε καθόλου [81].

Σε μία προοπτική μελέτη παρατήρησης του 2020 μελετήθηκε η χορήγηση του τρανεξαμικού

οξέος σε 27 ασθενείς με CSDH, εκ των οποίων οι 7 εμφάνισαν μετεγχειρητική υποτροπή.

Σε όλους τους ασθενείς παρατηρήθηκε λύση του αιματώματος, ενώ κανένα αιμάτωμα δεν εμφάνισε αύξηση κατά τη διάρκεια της συντηρητικής θεραπείας [82].

Τέλος, σε μια προοπτική τυχαιοποιημένη πολυκεντρική μελέτη του 2020 μελετήθηκε η προσθήκη τρανεξαμικού οξέος στις τυποποιημένες νευροχειρουργικές επεμβάσεις για ασθενείς με συμπτωματικά CSDH. Πρωταρχικός στόχος αποτέλεσαν τα CSDH που απαιτούσαν επανεπέμβαση σε διάστημα εντός 6 μηνών από το χειρουργείο. Σε αυτούς τους ασθενείς η προσθήκη τρανεξαμικού οξέος μετά από το χειρουργείο δεν φάνηκε να μειώνει τη συμπτωματική μετεγχειρητική υποτροπή του αιματώματος [83].

Στις χειρουργικές τεχνικές περιλαμβάνεται η παροχέτευση του αιματώματος μέσω κranιοανατρήσεων ή κranιοστομίας (twist-drill craniostomy, burr hole craniostomy) είτε η διενέργεια κranιοτομίας (mini or large craniotomy). Επί του παρόντος δεν υπάρχει συναίνεση για τη βέλτιστη θεραπεία καθώς καμία από τις διαθέσιμες θεραπευτικές μεθόδους δεν έχει εκτιμηθεί σε συγκριτικές τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες [84]. Καθώς ο ακριβής παθοφυσιολογικός μηχανισμός δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, περιπλέκει ακόμα περισσότερο την επιλογή για την ορθότερη θεραπευτική αντιμετώπιση. Η κranιοτομία αποτελεί την πιο επεμβατική χειρουργική θεραπεία, με το μεγαλύτερο χειρουργικό χρόνο και πιθανώς τις πιο πολλές επιπλοκές σε σχέση με τις άλλες μεθόδους [85]. Οι περισσότεροι χειρουργοί προβαίνουν πλέον σε κranιοτομία όταν το αιμάτωμα υποτροπιάσει, όταν υπάρχουν οξέα στοιχεία ή όταν πολλαπλές μεμβράνες είναι παρούσες εντός της συλλογής [22,86]. Η παροχέτευση του αιματώματος μέσω πολύ μικρής κranιοανάτρησης (twist-drill craniostomy) παραμένει μία ελκυστική μέθοδος παροχέτευσης καθώς μπορεί να πραγματοποιηθεί παρά την κλίνη με τοπική αναισθησία σε ασθενείς οι οποίοι δεν είναι καλοί υποψήφιοι για ολική αναισθησία και χειρουργείο. Ωστόσο, παραμένει μία μέθοδος με

υψηλότερα ποσοστά υποτροπών σε σχέση με την κλασσική κρανιοανάτρηση [69,87].

Η θεραπεία του CSDH με κρανιοανατρήσεις παραμένει σήμερα ο πιο ευρέως διαδεδομένος τρόπος αντιμετώπισης. Ταυτόχρονα παραμένει και ο πιο αποτελεσματικός τρόπος, καθώς ισορροπεί τα χαμηλά ποσοστά υποτροπής με τα χαμηλά ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας καλύτερα από την κρανιοστομία και την κρανιοτομία [68, 88,89].

### **Η Dickkopf-related protein 3 (DKK3) στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα**

Η οικογένεια Dickkopf κωδικοποιεί εκκρινόμενες πρωτεΐνες και αποτελείται από τέσσερα βασικά μέλη στα θηλαστικά, τους DKK1-4. Οι DKK1-2-4 πρωτεΐνες δεσμεύονται στον υποδοχέα LRP5/6 και αναστέλλουν το νευροαναπτυξιακό μονοπάτι σηματοδότησης Wnt/  $\beta$ -catenin (Wingless and Int-1). Η DDK3 έχει διαφορετική δράση στη σηματοδότηση Wnt, αρκετά περίπλοκη και εξαρτώμενη από το περιβάλλον [90]. Κατά αυτόν τον τρόπο μπορεί είτε να ευοδώνει είτε να καταστέλλει την οδό σηματοδότησης Wnt. Η οδός Wnt παίζει σημαντικό ρόλο στην εμβρυική ανάπτυξη, καθώς και τη συντήρηση και τη διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων στην ενήλικη ζωή (ομοιόσταση ενήλικων ιστών). Μεταβολές των επιπέδων έκφρασης συστατικών του μονοπατιού οδηγούν σε απορρύθμιση της σηματοδότησης και σχετίζονται με την καρκινογένεση [91].

### **Εγκεφαλονωτιαίο υγρό**

Η DKK3 είναι ένας πρωτεϊνικός δείκτης ο οποίος ανευρίσκεται στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) σε σχετικά μεγάλες ποσότητες, συγκριτικά με το δείγμα ορού όπου ανιχνεύεται σε μικρότερα ποσοστά. Επομένως μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης ανίχνευσης ENY σε περιπτώσεις ρινόρροιας ή ωτόρροιας ως αποτέλεσμα χειρουργικής επέμβασης, τραύματος ή αυτόματα. Ιατρογενής εκροή ENY μπορεί να συμβεί μετά από επεμβάσεις στους κόλπους ή στη βάση του κρανίου, καθώς και μετά από ωτολογικές επεμβάσεις. Η αυξημένη ενδοκράνια

πίεση αποτελεί επίσης μία συχνή αιτία αυτόματης ρινόρροιας ή ωτόρροιας και μπορεί να οφείλεται μεταξύ άλλων σε ενδοκράνιους όγκους, υδροκέφαλο, μηνιγγοκήλες κ.ά. Αυτόματη εκροή ENY χωρίς συνοδό ενδοκράνια υπέρταση μπορεί να συμβεί σε περιπτώσεις συγγενών ανωμαλιών με σχηματισμό συριγγίων ENY [92].

### Νευροεκφυλιστικές νόσοι

Οι DKK3 φαίνεται να εμπλέκονται στην εμφάνιση των *νευροεκφυλιστικών νόσων*, ως ρυθμιστές του Wnt μονοπατιού. Η δυσλειτουργία του Wnt μονοπατιού σχετίζεται με τη νόσο Alzheimer (AD), ενώ η ενεργοποίηση του ίδιου μονοπατιού καταστέλλει τη νόσο [93,94,95].

Η DKK3 συνυπάρχει με την Αβ πρωτεΐνη στον φλοιό και τον ιππόκαμπο ασθενών με νόσο AD, εκφράζεται στους νευρώνες και στα αιμοφόρα αγγεία του εγκεφάλου των ίδιων ασθενών καθώς και στα λεία μυϊκά κύτταρα των λεπτομηνίγγων του εγκεφάλου [96]. Επίσης, όπως προκύπτει από δύο μελέτες, η DKK3 έχει βρεθεί επίσης σε υψηλά επίπεδα στον ορό και το ENY ασθενών με AD [96, 97]. Σε μία άλλη μελέτη αναδείχθηκε, πως η έκφραση της DKK3 σε ασθενείς με AD ήταν μειωμένη στο εγκεφαλικό παρέγχυμα, ενώ μετά από τη διαγονιδιακή έκφραση της DKK3 σε ποντίκια με AD, παρατηρήθηκε βελτίωση των γνωστικών λειτουργιών, μείωση της συσσώρευσης του αμυλοειδούς β και βελτίωση στο μεταβολισμό της γλυκόζης του εγκεφάλου [98].

### Όγκοι εγκεφάλου

Η DKK3 έχει επίσης διερευνηθεί και συσχετιστεί με *όγκους εγκεφάλου*. Το γονίδιο REIC/Dkk3 έχει αναγνωριστεί να έχει ογκοσταλτικό ρόλο μέσω της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων και της αντικαρκινικής ανοσολογικής ενεργοποίησης. Τα επίπεδα έκφρασης του REIC/Dkk-3 mRNA και ακολούθως της πρωτεΐνης είναι μειωμένα στα κακοήγη γλοιώματα και επομένως το REIC / Dkk-3 γονίδιο μπορεί να αποτελέσει ένα

μοριακό θεραπευτικό στόχο για τη θεραπεία των ασθενών με υψηλής κακοήθειας γλοιώματα [99-100]. Σε μια πρόσφατη μελέτη έχει επίσης αναδειχθεί ότι το γονίδιο microRNA-92b (miR-92b) καταστέλλει την απόπτωση των κυττάρων της γλοίας μέσω μειωμένης έκφρασης της DKK3 [103], ενώ αντιστοίχως η υψηλή έκφραση του MiR-92b στα υψηλής κακοήθειας γλοιώματα (περισσότερο από τα χαμηλής κακοήθειας γλοιώματα) ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση των κυττάρων, στοχεύοντας την DKK3 πρωτεΐνη [104]. Αναλόγως, το γονίδιο miR-25 φαίνεται να προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των κυττάρων γλοίας καταστέλλοντας την πρωτεΐνη DKK3 [105]. Σε σχέση με τα *μηνιγγιώματα* του εγκεφάλου έχει επίσης αναδειχθεί σε δύο μελέτες μια υπερέκφραση της πρωτεΐνης DKK3 [106,107], ενώ μία χαμηλή έκφραση της DKK3 έχει μελετηθεί σε όλους τους υπότυπους του μυελοβλαστώματος, προτείνοντας ένα σημαντικό ρόλο της συγκεκριμένης πρωτεΐνης στην ογκογένεση των *μυελοβλαστωμάτων* [108]. Τέλος, η DKK3 ρυθμίζει την έκφραση του MDR1 μέσω του Akt/NFκB μονοπατιού και αυξάνει τη δράση της *τεμοζολαμίδης* στο *γλοιοβλάστωμα* [109].

### **Ψυχικές νόσοι**

Ακολούθως, έχει αναδειχθεί στη *σχιζοφρένεια* ένα διακριτό μοτίβο κατανομής της DKK3 στον άνω κροταφικό φλοιό (BA22), με κύρια έκφραση στους κύριους πληθυσμούς των νευρώνων του φλοιού, συμπεριλαμβανομένων των πυραμιδικών κυττάρων και των διανευρώνων [110].

### **Αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια**

Σε μία ζωική μελέτη, με *ενδοπαρεγχυματική αιμορραγία* και ακόλουθη μείωση των επιπέδων DKK3, η εξωγενής χορήγηση DKK3 φάνηκε να βελτιώνει την νευρολογική έκβαση των ζώων μέσω μείωσης των επιπέδων ύδατος του εγκεφάλου και ακολούθως του οιδήματος, και επιπλέον των διεργασιών της φλεγμονής [111].

Η DKK3 επίσης, καθώς εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της αρτηριοσκλήρυνσης, έχει μελετηθεί στα *αγγειακά επεισόδια*. Τόσα τα υψηλά, όσο και τα χαμηλά επίπεδα Dkk-3 συνδέθηκαν με αυξημένο κίνδυνο θανάτου και αγγειακών επεισοδίων σε διάστημα 3 μηνών από το αρχικό συμβάν, τονίζοντας τη σημασία της DKK3 στην πρόγνωση του ισχαιμικού επεισοδίου [112].

### **Η DKK3 εκτός του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος**

Η DKK3 πρωτεΐνη αποτελεί επίσης ένα χρήσιμο βιοδείκτη για παθήσεις εκτός νευρικού συστήματος. Οι DKKs πρωτεΐνες είναι κυρίως γνωστές για την ανασταλτική τους δράση στο μονοπάτι σηματοδότησης Wnt, το οποίο όπως προαναφέρθηκε εμπλέκεται στην εμβρυική ανάπτυξη, την καρκινογένεση και τις καρδιαγγειακές παθήσεις [113,114].

Μελέτες με μοντέλα DKK3 σε διαγονιδιακά ποντίκια έχουν προτείνει προστατευτικό ρόλο του DKK3 στην καρδιά, αλλά επιζήμια επίδραση στους νεφρούς [115-120].

Η μέτρηση του DDK3 στα ούρα έχει μελετηθεί και προταθεί ως δείκτης καταπόνησης των νεφρικών σωληναρίων [120], ενώ στους ασθενείς με προυπάρχουσα χρόνια νεφρική νόσο, τα αυξημένα επίπεδα DDK3 στα ούρα μπορούν να αποτελέσουν ένα δείκτη πρόβλεψης κινδύνου για απώλεια της νεφρικής λειτουργίας [121].

Επιπλέον, τα προεγχειρητικά επίπεδα DDK3 στα ούρα στους ασθενείς που υποβλήθησαν σε καρδιοχειρουργική επέμβαση ήταν ενδεικτικά για μετεγχειρητική οξεία νεφρική βλάβη και αυξημένο κίνδυνο για μακροχρόνια απώλεια της νεφρικής λειτουργίας [122].

Σε μια μελέτη ασθενών για την καρδιακή ανεπάρκεια, τα επίπεδα DKK3 στο πλάσμα συσχετίστηκαν με αρκετούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου, συμπεριλαμβανομένης της νεφρικής λειτουργίας, της κολπικής μαρμαρυγής, της αρτηριακής πίεσης και του δείκτη μάζας-σώματος [123].



Τέλος, σε μία άλλη μελέτη τα επίπεδα DKK3 στο πλάσμα συνδέθηκαν με αρκετούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου, συμπεριλαμβανομένης της ηλικίας, των επιπέδων γλυκόζης, του φύλου και του δείκτη μάζας - σώματος. Ωστόσο, τα επίπεδα DKK3 στο πλάσμα γενικά δεν σχετίζονται ανεξάρτητα με την νεοεμφανιζόμενη καρδιαγγειακή νόσο και τη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και μπορεί να έχουν προγνωστική αξία μόνο για τη νεοεμφανιζόμενη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια στα άτομα με τις χαμηλότερες τιμές των απέκκρισης λευκωματίνης στα ούρα [124].

Τέλος, η χαμηλή έκφραση του γονιδίου DKK3 έχει συνδεθεί σε ένα ευρύ φάσμα καρκίνων, όπως ο καρκίνος του παχέος εντέρου, του πνεύμονα, του προστάτη, της ουροδόχου κύστης, του θυρεοειδούς αδένου, και επομένως προτείνεται ως βιοδείκτης για τη διάγνωση και την πρόγνωση πολλών καρκίνων [125-129].

### **Πιθανός ρόλος της DKK3 πρωτεΐνης στη δημιουργία ή την εξέλιξη του CSDH**

Όπως προαναφέρθηκε, στη δημιουργία του CSDH έχουν αναγνωριστεί μηχανισμοί αγγειογένεσης / επαναλαμβανόμενης αιμορραγίας, ίνωσης και φλεγμονής. Η φλεγμονή οδηγεί σε σχηματισμό νέας μεμβράνης μέσω ίνωσης, ενώ ταυτόχρονα τα αγγειογόνα ερεθίσματα προάγουν τη δημιουργία εύθραυστων αιμοφόρων αγγείων εντός των τοιχωμάτων της μεμβράνης. Επιπλέον, οι ινωδολυτικές διεργασίες αποτρέπουν το σχηματισμό θρόμβων με αποτέλεσμα τη συνέχιση της αιμορραγίας. Έχει εντοπιστεί αφθονία φλεγμονωδών κυττάρων και δεικτών εντός των μεμβρανών και του υποσκληρίδιου υγρού. Τα κύτταρα και οι δείκτες αυτοί είναι πιθανό να συμβάλλουν στη διάδοση μιας φλεγμονώδους απόκρισης η οποία διεγείρει τη συνεχιζόμενη ανάπτυξη της μεμβράνης και τη συσσώρευση υγρών, καθώς η ίδια η μεμβράνη έχει αναγνωριστεί ως πηγή εξαγγείωσης υγρών και αιμορραγίας [130]. Οι διαμεσολαβητές φλεγμονής, νεοαγγειογένεσης, ινωδόλυσης και δημιουργίας νεομεμβρανών περιγράφονται στον Πίνακα 3. Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF)

μέσω της οδού MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), η παρουσία των μεταλλοπρωτεϊνών υποστρώματος (MMP 1-2-9), η αγγειοποιητίνη 2 (Ang-2) και το νιτρικό οξείδιο παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία των νεοσύστατων τριχοειδών αγγείων. Η προσταγλανδίνη E2 (PGE2) ρυθμίζει τον VEGF, ενώ τα υψηλά επίπεδα στο υγρό του CSDH συσχετίζονται με το χρονικό διάστημα που μεσολάβησε από το τραύμα. Ο επαγόμενος από την υποξία παράγοντας (HIF-1) ρυθμίζει επίσης τον VEGF ενώ η παρουσία των μεταλλοπρωτεϊνών του υποστρώματος (MMP 1-2-9) συμβάλλει στην επηρεασμένη ακεραιότητα των τριχοειδών. Η παρουσία προκολλαγόνου έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή των νεομεμβρανών υποδηλώνοντας ινοβλαστική δραστηριότητα παρόμοια με αυτή που επιτελεί το υπόλοιπο σώμα στο τραύμα. Ουσίες όπως η θρομβομοντουλίνη, το ιστικό πλασμινογόνο (tPA), το ινώδες και τα προϊόντα αποδόμησης ινώδους (FDPs) σηματοδοτούν την ινωδολυτική δραστηριότητα που λαμβάνει χώρα στο CSDH. Το tPA καταλύει την πρωτεολυτική διάσπαση του πλασμινογόνου σε πλασμίνη, ενώ η πλασμίνη διασπά πρωτεολυτικά την ινική σε FDPs που αναστέλλουν τον υπερβολικό σχηματισμό ινώδους [131- 143].

Διαμεσολαβητές	Δράση στο CSDH
Προκολλαγόνο τύπου 1 και 3	Σχηματισμός νεομεμβρανών
Η βρομβομοντουλίνη, το ιστικό πλασμινογόνο (tPA), το ινώδες και τα προϊόντα αποδόμησης του ινώδους (FDPs)	Ινωδολυτική δραστηριότητα
Ο επαγόμενος από την υποξία παράγοντας (HIF-1) και η προσταγλανδίνη E2 (PGE2)	Ρύθμιση VEGF
Η υπερέκφραση του VEGF (μέσω της οδού MAPK Mitogen-Activated Protein Kinase), οι μεταλλοπρωτεϊνών υποστρώματος (MMP 1,2,9), η αγγειοποιητίνη 2 (Ang-2) και το νιτρικό οξείδιο	Δημιουργία νεοσύστατων τριχοειδών αγγείων
Ιντερλευκίνη 6-8-10, παράγοντας νέκρωσης όγκων α (TNF-α) και χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων (MCP-1).	Φλεγμονώδης αντίδραση

**Πίνακας 3.** Διαμεσολαβητές στην παθοφυσιολογία του CSDH

Οι μηχανισμοί στους οποίους δυνητικά εμπλέκεται η πρωτεΐνη DKK3 και ταυτόχρονα σχετίζονται με τη δημιουργία του CSDH είναι η αγγειογένεση, η φλεγμονώδης αντίδραση και ο παράγοντας VEGF. Σε μία μελέτη του 2019 η DKK3 πρωτεΐνη φάνηκε να διαφοροποιεί τους ινοβλάστες σε λειτουργικά ενδοθηλιακά κύτταρα ικανά να προάγουν τη νεοαγγειογένεση μέσω του παράγοντα VEGF [144]. Σε μία άλλη μελέτη του 2019 αναδείχθηκε πως στα νεφρικά μικροαγγειακά επιθηλιακά κύτταρα, η DKK3 ενίσχυσε το σχηματισμό μυοϊνοβλαστών και τη μετάβαση των ενδοθηλιακών κυττάρων σε μεσεγχυματικά κύτταρα μειώνοντας την αγγειογενετική τους ικανότητα [145].

Η έκφραση της DKK3 στα μακροφάγα των αθηρωματικών πλακών τόσο στη στεφανιαία νόσο όσο και στην υπερλιπιδαιμία, φάνηκε να εμπλέκεται στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης μέσω της ρύθμισης της φλεγμονής και της αδρανοποίησης της οδού Wnt/ $\beta$ -κατενίνης [146]. Σε άλλη μελέτη αναδείχθηκε η DKK3 πρωτεΐνη να διεγείρει τον παράγοντα VEGF και ακολούθως να προκαλεί αγγειογένεση σε καλλιεργημένα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω της ενεργοποίησης της ALK1 (Activin Receptor-Like Kinase 1) [147]. Επιπλέον η DKK3 φάνηκε να έχει ένα νευροπροστατευτικό ρόλο στον οποίο σίγουρα εμπλέκεται ο VEGF παράγοντας [148].

## **Η πρωτεΐνη B-TP στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα**

### **Ανίχνευση στο ENY**

Η πρωτεΐνη *Beta-trace* (*B-TP*) και η  $\beta_2$ -τρανσφερίνη αποτελούν ένα αξιόπιστο ανοσολογικό δείκτη για την ανίχνευση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού [149,150].

Η  $\beta_2$ -τρανσφερίνη ανευρίσκεται αποκλειστικά στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και το υαλοειδές υγρό του οφθαλμού. Έχει το πλεονέκτημα ότι ανιχνεύεται σε ελάχιστο όγκο δείγματος ENY (2  $\mu$ l), ενώ μειονεκτεί στο γεγονός ότι η μέθοδος ανίχνευσής της είναι χρονοβόρος, η ανάλυση δεν είναι δυνατή όταν υπάρχει πρόσμιξη αίματος ενώ, τέλος, δεν υπάρχει γνωστή αναλογία ENY/ορού [149].

Η πρωτεΐνη *B-TP* πλεονεκτεί στο ότι υπάρχει γνωστή αναλογία ENY/ορού (33), ανιχνεύεται και αυτή σε χαμηλό όγκο δείγματος ENY (5 $\mu$ l), μπορεί να μετρηθεί σε δείγματα με ή χωρίς πρόσμιξη αίματος και η μέθοδος ανίχνευσής της είναι ταχεία. Έχει το μειονέκτημα ότι περιέχεται στα ούρα οπότε και αυξάνεται στον ορό ατόμων με νεφρική ανεπάρκεια [149]. Επομένως η  $\beta$ -TP αποτελεί ένα αξιόπιστο δείκτη τεκμηρίωσης ωτόρροιας ή ρινόρροιας [151].

Σε μια αναδρομική στατιστική ανάλυση που διενεργήθηκε σε ένα ανοσολογικό εργαστήριο προέκυψε μάλιστα ένας διαγνωστικός αλγόριθμος ο οποίος έχει ως εξής: η παρουσία του ENY σε ένα δείγμα αποκλείεται όταν η τιμή της β-TP είναι  $< 0.7$  mg/L, ενώ τεκμηριώνεται όταν η τιμή της β-TP είναι  $\geq 1.3$  mg/L. Τιμές β-TP μεταξύ  $0.7$  and  $1.29$  mg/L αποδεικνύουν την παρουσία ENY μόνο εάν η αναλογία β-TP (β-TP δείγματος/ β-TP ορού) είναι  $\geq 2$  [152].

### Παρουσία στο CSDH

Όπως έχει ήδη προαναφερθεί, η παρουσία ENY στον υπαραχνοειδή χώρο έχει ενοχοποιηθεί ως ένας παράγοντας δημιουργίας του CSDH και του SH. Επομένως η ανίχνευση της β-TP στο υποσκληρίδιο υγρό ασθενών με CSDH και του SH υποδηλώνει την παρουσία ENY [153].

Σε μία μελέτη αναδείχθηκε ότι το τραύμα σχετίζεται με τη διαφυγή ENY στον υποσκληρίδιο χώρο σε ασθενείς με CSDH, ενώ η ένταση της κάκωσης φαίνεται να επηρεάζει την ποσότητα διαφυγής του ENY. Η αναλογία της β-TP (β-TP υποσκληρίδιου υγρού/ β-TP ορού) ήταν  $> 2$  σε όλους τους ασθενείς με τραυματικό CSDH. Ακολούθως, η μέση συγκέντρωση της υποσκληρίδιας β-TP αναδείχθηκε υψηλότερη στην ομάδα ασθενών με μηχανισμό υψηλής ενέργειας σε σχέση με την ομάδα ασθενών με μηχανισμό χαμηλής ενέργειας ( $6.1$  mg/L και  $3.9$  mg/L αντίστοιχα) [154].

Τέλος, σε μία άλλη μελέτη αναδείχθηκε μία συσχέτιση μεταξύ της β-TP και της μορφολογίας του CSDH όπως απεικονίζεται στην μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου. Το υψηλής έντασης σήμα του CSDH στην T2 ακολουθία συνδέθηκε με υψηλότερες τιμές β-TP και υψηλότερη αναλογία β-TP (β-TP υποσκληρίδιου υγρού/ β-TP ορού) σε σχέση με το μη υψηλής έντασης σήμα του CSDH στις ίδιες ακολουθίες [155].

## Σκοπός της μελέτης – Ερευνητικά ερωτήματα – Υποθέσεις εργασίας

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης αποτελεί η ανίχνευση και η μέτρηση της DKK3 στο CSDH σε ασθενείς οι οποίοι υποβλήθηκαν σε χειρουργική αντιμετώπιση (κρανιοανατρήσεις, κρανιοτομία) για την παροχέτευση του αιματώματος. Ταυτόχρονα θα μετρηθεί η DKK3 στον ορό των ίδιων ασθενών.

Πρόκειται για μία πιλοτική μελέτη που έχει ως πρωταρχικό στόχο την ανίχνευση της πρωτεΐνης DKK3 στο χρόνια υποσκληρίδιο αιμάτωμα μέσω της μεθόδου Elisa.

Στις υποθέσεις εργασίας της συγκεκριμένης μελέτης περιλαμβάνονται τα εξής:

**1<sup>η</sup>** - εάν θεωρήσουμε πως η πρωτεΐνη DKK3 αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη εγκεφαλονωτιαίου υγρού τότε πιθανώς τα επίπεδά της θα είναι αυξημένα στο αιμάτωμα των ασθενών με CSDH.

**2<sup>η</sup>** - εάν αναδειχθεί η παρουσία DKK3 στο υγρό του αιματώματος θα οδηγηθούμε πιθανώς στη θεωρία περί διαφυγής – παρουσίας ENY στην κοιλότητα του αιματώματος και ακολούθως της αύξησης του μεγέθους του με την πάροδο του χρόνου (ενισχυτικός μηχανισμός αύξησης CSDH). Η παρουσία DKK3 στο CSDH θεωρούμε ότι πιθανώς υποδηλώνει την παρουσία ENY εάν και η παρουσία της πρωτεΐνης δεν μπορεί να αποκλειστεί ότι οφείλεται σε μηχανισμούς νεοαγγειογένεσης ή φλεγμονής. Η παρουσία της Beta – trace στο ίδιο αιμάτωμα ωστόσο μπορεί να ισχυροποιήσει την παρουσία ENY (βλέπε 3<sup>η</sup> υπόθεση)

**3<sup>η</sup>** - θα υποθέσουμε πως υπάρχει συσχέτιση των επιπέδων της DKK3 και της Beta - trace. Η Beta-trace πρωτεΐνη, όπως έχει αποδειχθεί από προηγούμενες μελέτες, αποτελεί έναν δείκτη ανίχνευσης του ENY με παρουσία στο CSDH, επιβεβαιώνοντας τη πιθανή θεωρία περί διαφυγής ENY στη δημιουργία του χρόνιου υποσκληρίδιου αιματώματος [149-151].

## **Υλικό**

Στην μελέτη συμπεριλήφθηκαν 15 ασθενείς μέσης ηλικίας 79,6 ετών με το 53.3% να είναι άνδρες. Η DKK3 αναζητήθηκε σε 30 δείγματα συνολικά (15 δείγματα ENY και 15 δείγματα ορού). Επιπρόσθετα αναζητήθηκε και μετρήθηκε η Beta trace στα 15 δείγματα ENY. Η μέθοδος ανίχνευσης που χρησιμοποιήθηκε είναι η Elisa.

## ***Συλλογή δειγμάτων***

Κατά την είσοδο του ασθενούς στη χειρουργική αίθουσα γινόταν λήψη 10 ml φλεβικού αίματος. Τα 4 ml τοποθετούνταν σε φιαλίδιο με EDTA και τα υπόλοιπα 6 ml αφήνονταν να σχηματίσουν θρόμβο σε φιαλίδιο με επιταχυντή πήξης. Κατά τη διάρκεια της επέμβασης λαμβάνονταν 6-10 ml αιματώματος από την κοιλότητα του αιματώματος πριν την έναρξη των εκπλύσεων ή την ανάμειξη του αιματώματος με αίμα από τους παρακείμενους ιστούς. Το υγρό τοποθετούνταν επίσης σε φιαλίδιο με επιταχυντή πήξης, όμοιο με του αίματος. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρώνταν για 10 λεπτά σε 2000g ώστε να απομακρυνθούν τα κυτταρικά στοιχεία. Το υγρό τοποθετούνταν σε κωνικά φιαλίδια 1ml και αποθηκευόταν σε καταψύκτη στους -80 °C.

## **Μεθοδολογία**

Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η ενζυμική ανοσοδοκιμασία Elisa (enzyme linked immunosorbent assays). Πρόκειται για την κύρια μέθοδο ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης αντιγόνων ή αντισωμάτων σε βιολογικά υγρά κατά την οποία η συγκέντρωση του εξεταζόμενου μορίου προσδιορίζεται από την ποσότητα του έγχρωμου προϊόντος που παράγεται από την αντίδραση ενζύμου-υποστρώματος. Τα κύρια πλεονεκτήματά της σε σύγκριση με άλλες ανοσοδοκιμασίες είναι η υψηλότερη ευαισθησία

της, η επαναληψιμότητά της και η μη χρήση ραδιενέργειας. Τα βασικά στάδια της μεθόδου είναι: (α) η πρόσδεση και ακινητοποίηση αντιγόνου ή αντισώματος σε στερεή επιφάνεια (ανοσοπροσρόφηση), (β) η χρήση ενζυμο- συζευγμένου αντισώματος και (γ) η χρήση χρωμογόνων υποστρωμάτων, τα οποία αντιδρούν με το ένζυμο και παράγουν χρώμα ή φθορισμό επιτρέποντας την ποσοτικοποίηση της αλληλεπίδρασης αντιγόνου-αντισώματος. Στο συγκεκριμένο πρωτόκολλο χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ELISA τύπου *Sandwich* η οποία μετρά το αντιγόνο μεταξύ δύο στρωμάτων αντισωμάτων (αντίσωμα σύλληψης και ανίχνευσης). Το αντιγόνο στόχος ως εκ τούτου πρέπει να περιέχει τουλάχιστον δύο αντιγονικές θέσεις ικανές να συνδέονται με αντισώματα. Μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά αντισώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντισώματα σύλληψης και ανίχνευσης σε συστήματα ELISA τύπου *Sandwich*.

### ***Προετοιμασία δειγμάτων***

Όλα τα δείγματα ήρθαν σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C) πριν από τη χρήση τους για 30 min. Το δείγμα φυγοκεντρήθηκε εκ νέου μετά την απόψυξη και πριν την ανάλυση. Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν.

**DKK3:** Διάλυση του ορού με τον διαλύτη δείγματος σε αναλογία 1:100 και διάλυση του αιματώματος σε αραιώση 1:200.

**Beta-trace:** Διάλυση του αιματώματος με τον διαλύτη δείγματος σε αναλογία 1:100

### ***Προετοιμασία αντιδραστηρίων***

Όλα τα αντιδραστήρια ήρθαν σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C) πριν από τη χρήση τους για 30 min



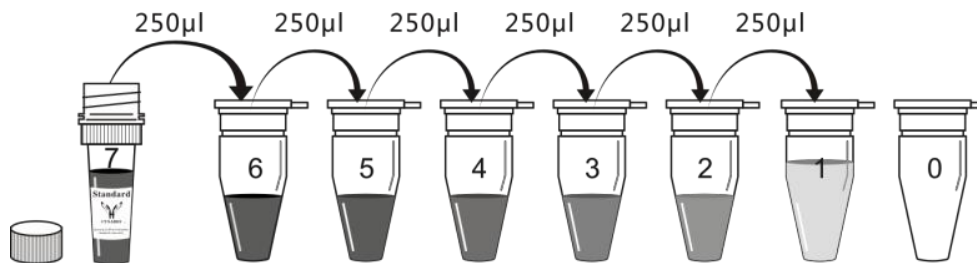
*Σύμπλεγμα βιοτίνης – αντισώματος:* Πραγματοποιήθηκε αραίωση του συμπλέγματος σε αναλογία 1:100, αναμειγνύοντας 10 μl του συμπλέγματος με 990 μl του διαλύτη του συμπλέγματος βιοτίνης- αντισώματος.

*Σύμπλεγμα αβιδίνης – υπεροξειδάσης:* Πραγματοποιήθηκε αραίωση του συμπλέγματος σε αναλογία 1:100, αναμειγνύοντας 10 μl του συμπλέγματος με 990 μl του διαλύτη του συμπλέγματος αβιδίνης – υπεροξειδάσης.

*Διάλυμα έκπλυσης (wash buffer):* Στην περίπτωση που είχαν δημιουργηθεί κρύσταλλοι στο περιεχόμενο του διαλύματος, ακολούθησε ανάμιξη σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να διαλυθούν οι κρύσταλλοι. Διάλυση 20 ml διαλύματος έκπλυσης σε απιονισμένο νερό ώστε να προετοιμαστούν 500 ml διαλύματος έκπλυσης.

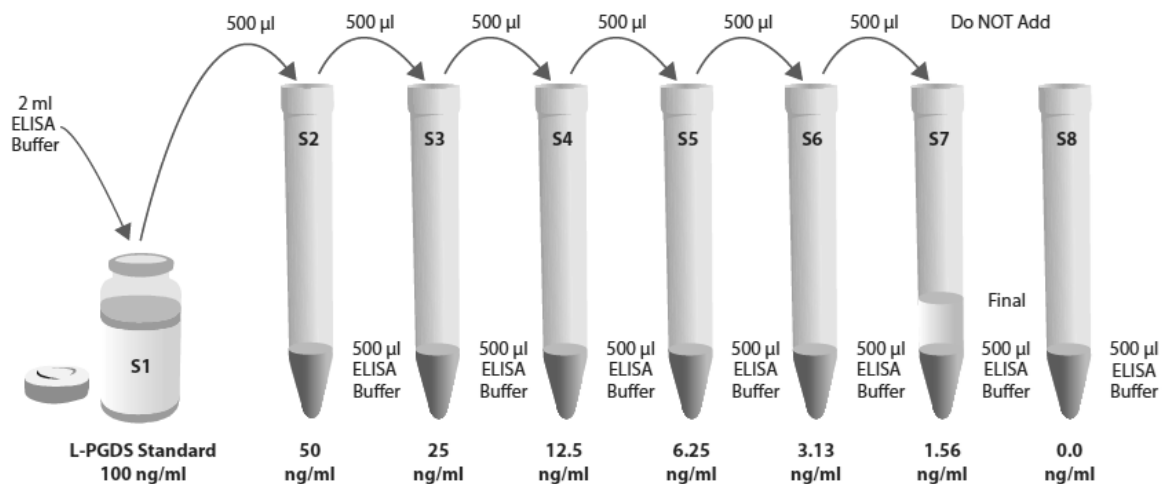
*Δείγμα γνωστής συγκέντρωσης (standard):* Φυγοκεντρήθηκε στις 6000-10000 στροφές για 30 sec. Έγινε ανασύσταση αυτού του διαλύματος με την προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας διαλύτη για κάθε περίπτωση ( DKK3- Beta trace) και προέκυψε ένα πυκνό διάλυμα 2000 pg/ml για την DKK3 και ένα πυκνό διάλυμα 100 ng/ml για τη β-TP.

Ακολούθησε προσθήκη 250 μl διαλύτη δείγματος σε κάθε σωληνάριο (S7-S0) για την DKK3 και προσθήκη 500 μl διαλύτη για την β-TP. Το πυκνό δείγμα γνωστής συγκέντρωσης λειτούργησε ως υψηλό standard, ενώ ο διαλύτης δείγματος λειτούργησε ως μηδενικό standard.



Tube	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
pg/ml	2000	1000	500	250	125	62.5	31.2	0

**DKK3**



## *Beta-trace*

### *Βήματα μεθοδολογίας*

1. Προετοιμασία δειγμάτων και αντιδραστηρίων όπως προαναφέρθηκε.
2. Έγινε προσθήκη 100µl προτύπου και δείγματος σε κάθε βοθρίο και εν συνεχεία καλύφθηκαν από την αυτοκόλλητη ταινία. Ακολούθησε επώαση για 2 ώρες στους 37°C.
3. Εν συνεχεία αφαιρέθηκε το υγρό από κάθε βοθρίο, χωρίς πλύσιμο.
4. Προστέθηκαν 100µl συμπλέγματος βιοτίνης – αντισώματος σε κάθε βοθρίο. Ακολούθησε κάλυψη εκ νέου με αυτοκόλλητη ταινία και επώαση για 1 ώρα στους 37°C. Σε θερμοκρασία δωματίου έγινε ήπια ανάδευση έως ότου το διάλυμα να γίνει ομοιόμορφο.
5. Ακολούθησε αναρρόφηση του περιεχομένου των βοθρίων και πλύσιμο αυτών συνολικά 3 φορές με διάλυμα έκπλυσης.
6. Προστέθηκαν 100 µl συμπλέγματος αβιδίνης – υπεροξειδάσης σε κάθε βοθρίο. Ακολούθησε κάλυψη εκ νέου με αυτοκόλλητη ταινία και επώαση για 1 ώρα στους 37°C.

8. Ακολούθησε αναρρόφηση του περιεχομένου των βοθρίων και πλύσιμο αυτών συνολικά 5 φορές με διάλυμα έκπλυσης.
9. Εν συνεχεία προσθήκη 90 μl διαλύματος υποστρώματος TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) σε κάθε βοθρίο και επώαση για 15-30 λεπτά στους 37°C με προστασία από το φως.
10. Προσθήκη 50 μl διαλύματος τερματισμού της αντίδρασης (2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) σε κάθε βοθρίο. Προσδιορισμός οπτικής πυκνότητας κάθε βοθρίου εντός 5 λεπτών χρησιμοποιώντας μια συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών (φωτόμετρο) με δυνατότητα μέτρησης της απορρόφησης στα 450 nm. Η ανίχνευση του εξεταζόμενου αντιγόνου πραγματοποιείται με την προσθήκη χρωμογόνου υποστρώματος που αντιδρά με το ένζυμο παράγοντας έγχρωμο προϊόν.
11. Υπολογισμός μέσου όρου των διπλών επαναλήψεων για κάθε δείγμα και για τα δείγματα γνωστής συγκέντρωσης αφαίρεση του μέσου όρου των τιμών της οπτικής πυκνότητας του γνωστού δείγματος.
12. Ανάλυση δεδομένων. Μία γραμμική πρότυπη καμπύλη προετοιμάστηκε από τα δεδομένα των διαδοχικών αραιώσεων με τις συγκεντρώσεις στον άξονα X έναντι της απορρόφησης στον άξονα Y.

## **Αποτελέσματα**

### *Στατιστική Ανάλυση*

Εξετάστηκαν και αναλύθηκαν τα μέτρα θέσης και διασποράς των μετρήσεων της DKK3 (ng/ml) στο υγρό του αιματώματος και του ορού των ασθενών, των μετρήσεων της Beta Trace (μg/ml) στο αιμάτωμα των ασθενών, της ηλικίας (έτη), καθώς επίσης έγινε χρήση της συχνότητας και της σχετικής συχνότητας για την κατανομή του φύλου. Επιπλέον έγινε

συσχέτιση των μετρήσεων της DKK3 (ng/ml) στο υγρό του αιματώματος και του ορού με χρήση του συντελεστή συσχέτισης. Προκειμένου να διερευνηθεί αν τα επίπεδα των μετρήσεων

της DKK3 στο CSDH είναι υψηλότερα από τις μετρήσεις της DKK3 στον ορό των ίδιων ασθενών, εφαρμόστηκε ο έλεγχος t-test. Για το σκοπό αυτό υπολογίστηκε αρχικά η ποσοστιαία μεταβολή (%) μεταξύ της μέτρησης DKK3 στο υγρό του αιματώματος και του ορού και στη συνέχεια, ελέγχθηκε αν η ποσοστιαία μεταβολή είναι υψηλότερη από το 50%. Συμπληρωματικά, πραγματοποιήθηκε ο μη-παραμετρικός έλεγχος Wilcoxon για κατά ζεύγη παρατηρήσεις. Η διερεύνηση της συσχέτισης των μετρήσεων DKK3 (ng/ml) και β-TP (μg/ml) στο υγρό του αιματώματος, έγινε με τον υπολογισμό του συντελεστή συσχέτισης Spearman rho.

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζεται η κατανομή του φύλου και ηλικίας των ασθενών του δείγματος. Το 53,3% των ασθενών είναι άντρες και η μέση ηλικία του συνόλου του δείγματος είναι τα 79,6 έτη με τυπική απόκλιση (TA) τα 7,1 έτη.

<b>Δημογραφικά χαρακτηριστικά</b>	<b>Περιγραφικό μέτρο</b>
Φύλο (άντρες: n, %)	8 (53,3)
Ηλικία (έτη: μέση τιμή, TA)	79,6 (7,1)
<i>TA: Τυπική Απόκλιση</i>	

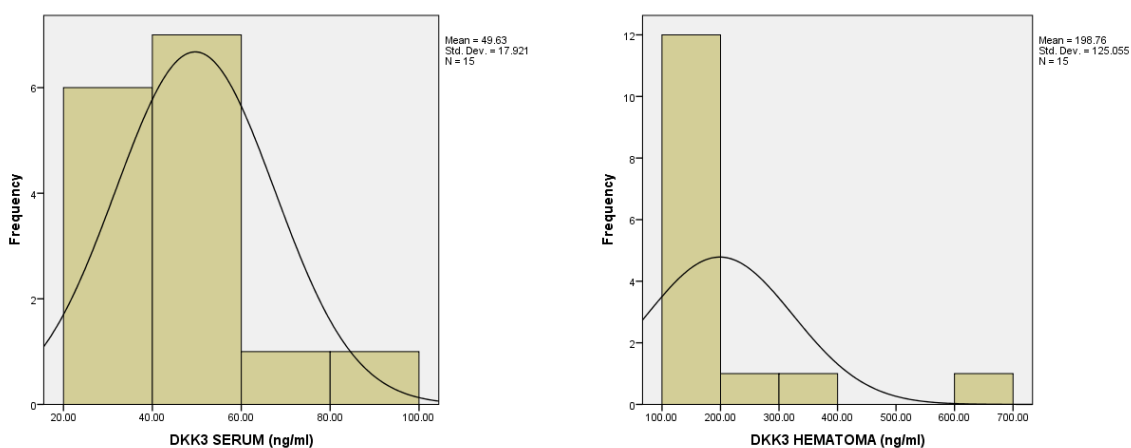
**Πίνακας 4.** Κατανομή των δημογραφικών χαρακτηριστικών των ασθενών του δείγματος (N=15).

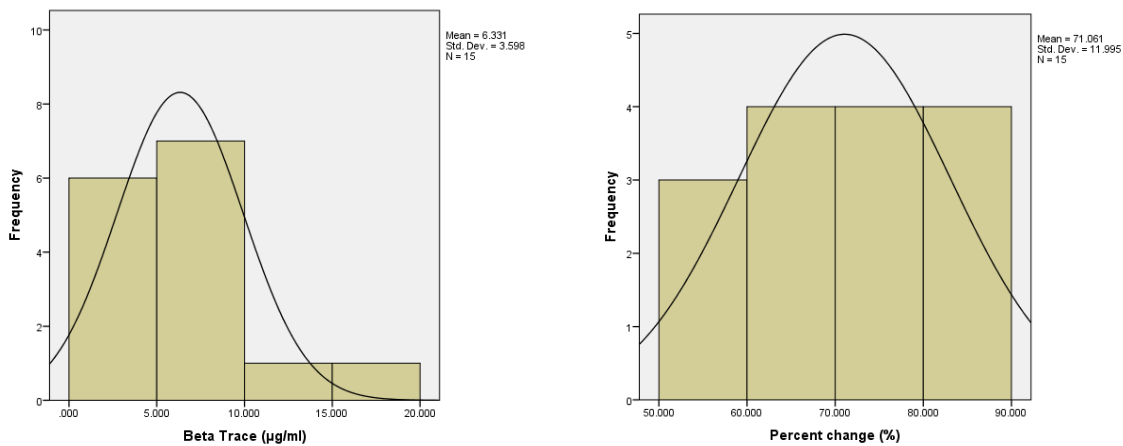
Στον Πίνακα 5 δίνεται η κατανομή των μετρήσεων των επιπέδων της DKK3 (ng/ml) στο υγρό του αιματώματος και του ορού, των μετρήσεων της β-TP (μg/ml) στο αιμάτωμα των ασθενών, καθώς και της ποσοστιαίας μεταβολής (%) μεταξύ της μέτρησης DKK3 στο υγρό του αιματώματος και του ορού.

Μέτρηση	Περιγραφικό μέτρο
DKK3 ορού (ng/ml: διάμεση τιμή, 25 <sup>ο</sup> -75 <sup>ο</sup> τεταρτ.)	49,4 (37,2 – 57,4)
DKK3 αιμάτωμα (ng/ml: διάμεση τιμή, 25 <sup>ο</sup> -75 <sup>ο</sup> τεταρτ.)	151,3 (131,7 – 193,6)
Beta Trace (μg/ml: διάμεση τιμή, 25 <sup>ο</sup> -75 <sup>ο</sup> τεταρτ.)	5,9 (4,0 – 7,0)
Ποσοστιαία μεταβολή DKK3 (%: μέση τιμή, ΤΑ)	71,1 (12,0)

**Πίνακας 5.** Κατανομή των επιπέδων της DKK3 (ng/ml) στο υγρό του αιματώματος και του ορού των ασθενών (N=15), των μετρήσεων της Beta Trace (μg/ml) στο αιμάτωμα των ασθενών, καθώς και της ποσοστιαίας μεταβολής (%) των επιπέδων της DKK3.

Στην εικόνα 5 παρουσιάζονται τα ιστογράμματα συχνοτήτων των παραπάνω μεταβλητών, οι οποίες αποκλίνουν από την κανονική κατανομή με εξαίρεση την κατανομή της ποσοστιαίας μεταβολής.





**Εικόνα 5.** Ιστόγραμμα συχνοτήτων των επιπέδων της DKK3 (ng/ml) στο υγρό του αιματώματος και του ορού, των μετρήσεων της Beta Trace (µg/ml) στο αιμάτωμα των ασθενών, καθώς και της ποσοστιαίας μεταβολής (%) των επιπέδων της DKK3.

Από την εφαρμογή του ελέγχου t-test, προκύπτει πως υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της μέσης ποσοστιαίας μεταβολής (%) μεταξύ της μέτρησης DKK3 στο υγρό του αιματώματος και του ορού με την τιμή 50% ( $71,1\% - 50\% = 21,1\%$ ) (Πίνακας 6). Ειδικότερα, η μέση τιμή της ποσοστιαίας μεταβολής είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερη από το 50%, συνεπώς προκύπτει στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων DKK3 στο αιμάτωμα σε σύγκριση με τον ορό ασθενών. Συμπληρωματικά, από την εφαρμογή του ελέγχου Wilcoxon, προκύπτει ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της διάμεσης τιμής των κατά ζεύγη μετρήσεων DKK3 στο υγρό του αιματώματος και του ορού των ασθενών, όπου οι τιμές των μετρήσεων DKK3 στο υγρό του αιματώματος είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερες από ότι στον ορό.

Μέτρηση	Διαφορά	95% Δ.Ε.	p-value
Ποσοστιαία μεταβολή DKK3 (%: μέση τιμή)	21,1	14,4 έως 27,7	<0.001 <sup>1*</sup>
DKK3 αιματώματος - ορού (ng/ml διάμεση τιμή)	101,9	-	0001 <sup>2*</sup>
<i>Δ.Ε.: Διάστημα Εμπιστοσύνης</i> <sup>1</sup> <i>t-test</i> <sup>2</sup> <i>Wilcoxon</i> *στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5%			

**Πίνακας 6.** Αποτελέσματα διερεύνησης της αύξησης των επιπέδων DKK3 στο αιμάτωμα σε σύγκριση με τον ορό ασθενών με CSDH.

Στον Πίνακα 7 δίνονται τα αποτελέσματα συσχέτισης των επιπέδων A. DKK3 στο αιμάτωμα και B. στον ορό ασθενών με CSDH, καθώς και του λόγου A/B και β-TP. Ο συντελεστής συσχέτισης Spearman rho μεταξύ των επιπέδων της DKK3 στο υγρό του αιματώματος και του ορού υποδηλώνει αρνητική σχέση. Αυτό σημαίνει ότι όταν αυξάνονται τα επίπεδα της DKK3 στον ορό, μειώνονται στον υγρό του αιματώματος και αντιστρόφως, ωστόσο η συσχέτιση δεν είναι στατιστικά σημαντική. Ακόμα, προκύπτει στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση των μετρήσεων DKK3 (ng/ml) και Beta Trace (μg/ml) στο υγρό του αιματώματος. Αυτό σημαίνει ότι αυξημένα επίπεδα της DKK3 σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα της β-TP στο υγρό του αιματώματος (Spearman rho= 0,54 & p-value= 0,038< 0,05).

Συσχέτιση μεταξύ	Spearman rho	p-value
DKK3 αιματώματος - ορού	-0,004	0,990
DKK3 αιματώματος – λόγου A/B	0,793	<0,001*
DKK3 αιματώματος – beta trace	0,539	0,038*
DKK3 ορού - λόγου A/B	-0,500	0,058
DKK3 ορού – beta trace	-0,075	0,791
Λόγου A/B – beta trace	0,636	0,011*
*στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5%		

**Πίνακας 7.** Αποτελέσματα συσχέτισης των επιπέδων A. DKK3 στο αιμάτωμα και B. στον ορό ασθενών με CSDH, καθώς και του λόγου A/B και beta trace.

## Συζήτηση

### *Πιθανοί μηχανισμοί συμμετοχής της DKK3 στο CSDH*

Το χρόνια υποσκληρίδιο αιμάτωμα αποτελεί την πιο συχνή παθολογία στην Νευροχειρουργική και επομένως έχει μελετηθεί εκτενώς σε επίπεδο παθοφυσιολογικού υπόβαθρου. Σύμφωνα με τα νεότερα δεδομένα, στη δημιουργία του CSDH αναγνωρίζονται μηχανισμοί αγγειογένεσης, ινωδόλυσης και φλεγμονής. Η πρωτεΐνη DKK3 ανιχνεύεται στο ENY που πιθανώς εμπεριέχεται στο υγρό του CSDH, ενώ η ίδια πρωτεΐνη πιθανώς να εμπλέκεται τόσο στη φλεγμονή όσο και την αγγειογένεση που λαμβάνουν χώρα κατά το σχηματισμό του αιματώματος. Μέσω του παράγοντα VEGF διαφοροποιεί τους ινοβλάστες σε λειτουργικά ενδοθηλιακά κύτταρα [144,147], ενώ η έκφρασή της στα μακροφάγα των αθηρωματικών πλακών τόσο στη στεφανιαία νόσο όσο και στην υπερλιπιδαιμία, υποδηλώνουν το ρυθμιστικό ρόλο της στη φλεγμονή μέσω της αδρανοποίησης της οδού Wnt/β-κατενίνης [146].



Η DKK3 αποτελεί μία πρωτεΐνη που εμπλέκεται τόσο στο κεντρικό νευρικό όσο και εκτός του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η παρουσία της στο ENY, όπως έχει ήδη αποτυπωθεί σε συγκεκριμένες μελέτες [92,96,97] σε συνδυασμό με την πιθανή διαφυγή του ENY κατά τη δημιουργία του CSDH [2,24,25] αποτέλεσαν το έναυσμα για την εκτέλεση της παρούσας μελέτης.

Στην παρούσα πιλοτική μελέτη αναζητήθηκε πρωτίστως η παρουσία της DKK3 πρωτεΐνης στο υγρό του χρόνιου υποσκληρίδιου αιματώματος σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση.

Η DKK3 πρωτεΐνη ανιχνεύθηκε σε δείγματα ορού και αιματώματος ασθενών, ενώ αναζητήθηκε συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της και αυτών της Beta trace πρωτεΐνης. Από τις μετρήσεις προέκυψε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων DKK3 στο αιμάτωμα σε σύγκριση με τον ορό ασθενών. Στη συνέχεια παρατηρήθηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα της DKK3 σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα της Beta Trace στο υγρό του αιματώματος.

### *Σύνδεση μεταξύ β-TP και DKK3*

Η β-TP αποτελεί ένα αξιόπιστο δείκτη ανίχνευσης του ENY [151]. Επιπλέον, η πρωτεΐνη αυτή ανιχνεύεται σε υψηλά επίπεδα σε ασθενείς με τραυματικό CSDH υποδηλώνοντας την ανάμιξη ENY στο υγρό του αιματώματος [154].

### *Συμπέρασμα*

Η παρουσία της DKK3 στο υγρό του υποσκληρίδιου αιματώματος μπορεί να μας οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι περιέχεται ENY και αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα στη δημιουργία ή την αύξηση του CSDH καθώς η DKK3 έχει ήδη επιβεβαιωθεί ως ένας δείκτης του ENY. Παρόλα αυτά ενώ δεν μπορεί κανείς από αυτή και μόνο τη μελέτη να αποκλείσει το ενδεχόμενο η DKK3 να ανιχνεύεται στο CSDH στα πλαίσια της νεοαγγειογένεσης ή μιας

φλεγμονώδους διεργασίας, η ταυτόχρονη ανίχνευση και αύξηση των επιπέδων της β-TP στο ίδιο αιμάτωμα φαίνεται να ενισχύει τον παθοφυσιολογικό μηχανισμό περί διαφυγής ENY καθώς η παρουσία της στο τόσο στο ENY όσο και το CSDH είναι ήδη τεκμηριωμένη επιστημονικά.

### *Περιορισμοί*

Παρά το ότι υπήρξε στατιστική σημαντικότητα στα αποτελέσματα της κλινικής αυτής δοκιμής, γεγονός ενθαρρυντικό ως προς την εξαγωγή συμπερασμάτων αναφορικά με την παθογένεση

του CSDH, είναι σαφές ότι χρειάζονται επιβεβαίωση από μεγαλύτερη σειρά ασθενών προκειμένου να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα.

Επιπλέον η εν λόγω μελέτη θα μπορούσε να επεκταθεί και να συμπεριλάβει ανάλογα δεδομένα και σε σχέση με τον τύπο των χειρουργηθέντων αιματωμάτων (ομοιογενή, διαβαθμισμένα, μεμβρανώδη κλπ) καθώς και όλων των εξελικτικών του σταδίων, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν υπάρχουν διαφοροποιήσεις ως προς την παθογένεση των διαφόρων τύπων και τη συμμετοχή της διαφυγής του ENY στην κάθε περίπτωση.

Ένας επίσης σημαντικός παράγοντας είναι η ομοιογένεια των συμμετεχόντων όσον αφορά κατά το δυνατόν τις συννοσηρότητες, προκειμένου να αποκλειστεί τυχόν επίδραση συνοδών παθολογιών και φαρμακευτικών σκευασμάτων που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα.

Τέλος, παρότι η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε από το ίδιο πρόσωπο με προκαθορισμένη μεθοδολογία, η επίδραση εξωτερικών παραγόντων περιβάλλοντος (θερμοκρασία, υγρασία κλπ) κατά τη μεταφορά των δειγμάτων έως την τελική αποθήκευσή τους, δεν μπορεί να αποκλειστεί.

## Βιβλιογραφία

1. Baechli H et al. (2004). Demographics and prevalent risk factors of chronic subdural haematoma: results of a large single-center cohort study. *Neurosurg Rev* 27(4):263–6.
2. Yadav YR et al. (2016). Chronic subdural hematoma. *Asian J Neurosurg.* 11(4):330-342.
3. Yang W, Huang J. (2017). Chronic Subdural Hematoma: Epidemiology and Natural History. *Neurosurg Clin N Am.* 28(2):205-210.
4. Balsler D et al. (2015). Actual and projected incidence rates for chronic subdural hematomas in United States veterans' administration and civilian populations. *J Neurosurg* 123(5): 1209–15.
5. Rauhala M et al. (2019). The incidence of chronic subdural hematomas from 1990 to 2015 in a defined Finnish population. *J Neurosurg.* 132(4):1147-1157.
6. Kudo H et al. (1992). Chronic subdural hematoma in elderly people: present status on Awaji Island and epidemiological prospect. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 32(4):207–9.
7. D'Errico AP, German WJ. (1930). Chronic Subdural Hematoma. *Yale J Biol Med.* 3:11-20.
8. Hill J and Balfour J (1772). Cases in surgery, particularly, of cancers, and disorders of the head from external violence with observations: to which is added an account of the Sibbens. Printed for John Balfour: Edinburgh.
9. Bayle A.L.J. (1976). *Traité des maladies du cerveau et de ses membranes.* Arno Press: New York.
10. D'Errico A.P. and German W.J. (1930). Chronic Subdural Hematoma. *Yale J. Biol. Med.* 3, 11-20.

11. Putman T.J. and Cushing H. (1925). Chronic subdural hematoma. Its pathology, its relation to pachymeningitis hemorrhagica and its surgical treatment. Arch. Surg. 11, 329-393.
12. Gardner WJ. (1932). Traumatic subdural hematoma with particular reference to the latent interval. Arch Neurol Psychiatry 27:847-858.
13. Zollinger R, Gross RE. (1934). Traumatic subdural hematoma: an explanation of the late onset of pressure symptoms. J Am Med Assoc 103:245-249.
14. Weir B. (1971). The osmolality of subdural hematoma fluid. J Neurosurg 34:528-533.
15. Weir B. (1980). Oncotic pressure of subdural fluids. J Neurosurg 53:512- 515.
16. D'Abbondanza JA, Loch Macdonald R. (2014). Experimental models of chronic subdural hematoma. Neurol Res 36:176-188.
17. Watanabe S et al. (1972). Production of clinical form of chronic subdural hematoma in experimental animals. J Neurosurg 37:552-561.
18. Apfelbaum RI et al. (1974). Experimental production of subdural hematomas. J Neurosurg 40:336-346.
19. Sato S, Suzuki J. (1975). Ultrastructural observations of the capsule of chronic subdural hematoma in various clinical stages. J Neurosurg 43:569-578.
20. Ito H et al. (1978). Fibrinolytic enzyme in the lining walls of chronic subdural hematoma. J Neurosurg 48:197-200.
21. Ito H et al. (1976). Role of local hyperfibrinolysis in the etiology of chronic subdural hematoma. J Neurosurg 45:26-31.
22. Markwalder TM. (1981). Chronic subdural hematomas: a review. J Neurosurg 54:637-645
23. Cooper PR. (1985). Traumatic intracranial hematomas. Neurosurgery. New York: McGraw-Hill, vol 2, pp1657-1661.

24. Holl D. et al. (2018). Pathophysiology and Nonsurgical Treatment of Chronic Subdural Hematoma: From Past to Present to Future. *World Neurosurg.* 116:402-411.
25. Lee KS (2015). History of Chronic Subdural Hematoma. *Korean J Neurotrauma.* 11(2):27-34.
26. Lee KS et al. (1994). The pathogenesis and fate of traumatic subdural hygroma. *Br J Neurosurg* 8:551-558.
27. Friede RL, Schachenmayr W. (1978). The origin of subdural neomembranes. II. Fine structural of neomembranes. *Am J Pathol* 92:69-84.
28. Haines DE et al. (1993). The “subdural” space: a new look at an outdated concept. *Neurosurgery* 32:111-120.
29. Schachenmayr W, Friede RL. (1978). The origin of subdural neomembranes. I. Fine structure of the dura-arachnoid interface in man. *Am J Pathol* 92:53-68.
30. Yamashima T, Yamamoto S. (1985). Clinicopathological classification of chronic subdural hematoma. *Zentralbl Neurochir* 46:304-314.
31. Hasegawa M et al. (1992). Traumatic subdural hygroma: pathology and meningeal enhancement on magnetic resonance imaging. *Neurosurgery* 31:580-585.
32. Yamada H et al. (1979). Chronic subdural hematoma occurring consequently to the posttraumatic subdural hygroma on the pathogenesis of the chronic subdural hematoma. *No To Shinkei* 31:115-121.
33. Ohno K et al. (1987). Chronic subdural haematoma preceded by persistent traumatic subdural fluid collection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 50:1694-1697.
34. Cha KH et al. (2013). The Clinical Course of Subdural Hygroma with Head Injury. *Korean J Neurotrauma* 9:125-130.
35. Ishibashi A et al. (1994). Clinical analysis of nineteen patients with traumatic subdural hygromas. *Kurume Med J* 41:81-85.

36. Kawano N et al. (1988). Origin of the capsule of a chronic subdural hematoma--an electron microscopy study]. *No Shinkei Geka* 16:747-752.
37. Koizumi H et al. (1981). Traumatic subdural hygromas in adults--on the possibility of development of chronic subdural hematoma. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 21:397-406.
38. Murata K. (1993). Chronic subdural hematoma may be preceded by persistent traumatic subdural effusion. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 33:691-696.
39. Naganuma H et al. (1986). Spontaneous resolution of chronic subdural hematomas. *Neurosurgery* 19:794-798.
40. Park CK et al. (1994). Spontaneous evolution of posttraumatic subdural hygroma into chronic subdural haematoma. *Acta Neurochir (Wien)* 127:41-47.
41. Park HB et al. (1990). Chronic subdural hematoma superimposed on posttraumatic subdural hygroma: a report of three cases. *J Korean Neurosurg Soc* 19:126-130.
42. Whang K et al. (1993). Clinical analysis of chronic subdural hematoma originated from traumatic subdural hygroma. *J Korean Neurosurg Soc* 22:898-904.
43. Yoon JW et al. (2013). A study of the progression from acute subdural hematoma to chronic stage requiring surgical treatment. *Korean J Neurotrauma* 9:74-80.
44. Lee KS. (2004). Natural history of chronic subdural haematoma. *Brain Inj* 18:351-358.
45. Parlato C et al. (2000). Spontaneous resolution of chronic subdural hematoma. *Surg Neurol* 53:312-315; discussion 315-317.
46. Sun TF et al. (2005). Non-surgical primary treatment of chronic subdural haematoma: preliminary results of using dexamethasone. *Br J Neurosurg* 19:327-333.
47. Mori K, Maeda M. (2001). Surgical treatment of chronic subdural hematoma in 500 consecutive cases: clinical characteristics, surgical outcome, complications, and recurrence rate. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 41:371-381.
48. Park HR et al. (2013). Multiple Densities of the Chronic Subdural Hematoma in CT Scans. *J Korean Neurosurg Soc* 54:38-41.

49. Yad Y et al. (2016). Chronic subdural hematoma. *Asian J Neurosurg.* 11(4):330-342.
50. Young-II Kim et al. (2008). Analysis of Prognostic Factors for Chronic Subdural Hematoma *J Kor Neurotraumatol Soc* 4:14-18
51. Churl-Su Kwon et al. (2018). Predicting Prognosis of Patients with Chronic Subdural Hematoma: A New Scoring System. *Neurosurg.* 109: e707-e714.
52. Rauhala M et al. (2020). Long-term excess mortality after chronic subdural hematoma. *Neurochir (Wien).* 162(6):1467-1478.
53. Gelabert-Gonzalez M et al. (2005). Chronic subdural haematoma: surgical treatment and outcome in 1000 cases. *Clin Neurol Neurosurg* 107(3):223–9.
54. Nakaguchi H et al. (2001). Factors in the natural history of chronic subdural hematomas that influence their postoperative recurrence. *J Neurosurg.* 95(2):256
55. Sahyouni R. (2017). Chronic Subdural Hematoma: A Historical and Clinical Perspective. *World Neurosurg* 108: 948-953.
56. Blaauw J. (2021). Presenting symptoms and functional outcome of chronic subdural hematoma patients. *Acta Neurol Scand.*
57. Ou et al. (2019). The Clinical Characteristics, Treatment, and Outcomes of Chronic Subdural Hematoma in Young Patients. *World Neurosurg.* 125: e1241-e1246.
58. Wang Y et al. (2016). Chronic Subdural Hematoma with Hypodense on CT-Scan in the Elderly: Surgical Drainage or Conservative Treatment. *Journal of Neurology and Neuroscience.*
59. Petridis AK et al. (2009). Acute subdural hematoma in the elderly; clinical and CT factors influencing the surgical treatment decision. *Cen Eur Neurosurg.* 70(2):73-8
60. Castellani R et al. (2017). Symptomatic Acute-on-Chronic Subdural Hematoma: A Clinicopathological Study. *Am J Forensic Med Pathol.* 38(2):126-130.
61. Nakaguchi H et al. (2001) Factors in the natural history of chronic subdural hematomas that influence their postoperative recurrence. *J Neurosurg* 95:256–262

62. Stanistic M et al. (2012). Volume and densities of chronic subdural haematoma obtained from CT imaging as predictors of postoperative recurrence: A prospective study of 107 operated patients. *Acta Neurochir (Wien)*. 2013; 155(2): 323–333.
63. Shen J et al. (2019). Grading System For The Prediction Of Unilateral Chronic Subdural Hematoma Recurrence After Initial Single Burr Hole Evacuation. *Risk Manag Healthc Policy*.; 12:179-188.
64. Goto H et al. (2015). Magnetic resonance imaging findings predict the recurrence of chronic subdural hematoma. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 55 (2):173-8.
65. Soleman J et al. (2014). Evidence-Based Treatment of Chronic Subdural Hematoma. *Traumatic Brain Injury*. Editor Farid Sadaka
66. Bender MB, Christoff N. (1974). Nonsurgical treatment of subdural hematomas. *Arch Neurol*. 31(2):73–9.
67. Thotakura A et al. (2018). The Role of Medical Treatment in Chronic Subdural Hematoma. *Asian J Neurosurg*. 13(4): 976–983.
68. Roh D et al. (2017). Chronic Subdural Medical Management. *Neurosurg Clin N Am*. 28(2):211-217.
69. Huang J et al. (2020). Drug treatment of chronic subdural hematoma. *Expert Opin Pharmacother*. 21 (4): 435- 444
70. Berghauer Pont et al. (2012). The role of corticosteroids in the management of chronic subdural hematoma: a systematic review. *Eur. J. Neurol*.19, 1397-1403.
71. Zhang Y et al. (2017). Effects of Dexamethasone in the Treatment of Recurrent Chronic Subdural Hematoma. *World Neurosurg*. 105, 115-121
72. Holl D et al. (2019). Corticosteroid treatment compared with surgery in chronic subdural hematoma: a systematic review and meta-analysis. *Acta Neurochir (Wien)*. 161(6):1231-1242.
73. Mebberson K. et al. (2020). Prospective randomized placebo-controlled double-blind clinical study of adjuvant dexamethasone with surgery for chronic subdural



- haematoma with post-operative subdural drainage: Interim analysis. *J Clin Neurosci.* 71:153-157
74. Hutchinson P et al. (2020). Trial of Dexamethasone for Chronic Subdural Hematoma *N Engl J Med.* 383(27):2616-2627.
75. Cofano F et al. (2020). Risk of Recurrence of Chronic Subdural Hematomas After Surgery: A Multicenter Observational Cohort Study. *Front Neurol.* 11:560269.
76. Petralia CCT et al. (2020). Effect of Steroid Therapy on Risk of Subsequent Surgery for Neurologically Stable Chronic Subdural Hemorrhage-Retrospective Cohort Study and Literature Review. *World Neurosurg.* 138: e35-e41.
77. Miah I et al. (2020). Dexamethasone Therapy in Symptomatic Chronic Subdural Hematoma (DECSA-R): A Retrospective Evaluation of Initial Corticosteroid Therapy versus Primary Surgery. *J Neurotrauma.* 37(2):366-372.
78. Sam Ng et al. (2021). Corticosteroids as an Adjuvant Treatment to Surgery in Chronic Subdural Hematomas: A Multi-Center Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial. *J Neurotrauma.* 38(11):1484-1494.
79. Kageyama H et al. (2013). Nonsurgical treatment of chronic subdural hematoma with tranexamic acid. *J Neurosurg.* 119(2):332-7.
80. Tanweer O et al. (2016). Tranexamic Acid for Treatment of Residual Subdural Hematoma after Bedside Twist-Drill Evacuation. *World Neurosurg.* 91:29-33.
81. Lodewijkxa R et al. (2021). Tranexamic acid for chronic subdural hematoma. *Br J Neurosurg.* 1-6
82. Kutty R et al. (2020). The Outcome of Medical Management of Chronic Subdural Hematoma with Tranexamic Acid - A Prospective Observational Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 29(11):105273.
83. Wan K et al. (2020). An open label randomized trial to assess the efficacy of tranexamic acid in reducing post-operative recurrence of chronic subdural haemorrhage. *J Clin Neurosci.* 82(Pt A):147-154.

84. Lee KS. (2019). How to Treat Chronic Subdural Hematoma? Past and Now. *J Korean Neurosurg Soc.* 62(2):144-152.
85. Chen J et al. (2021). The Mini-Craniotomy for cSDH Revisited: New Perspectives. *Front Neurol.* 12:660885.
86. Matsumoto H et al. (2018). Which surgical procedure is effective for refractory chronic subdural hematoma? Analysis of our surgical procedures and literature review. *J Clin Neurosci.* 49:40-47.
87. Yagnik KJ et al. (2021). Twist drill craniostomy vs burr hole drainage of chronic subdural hematoma: a systematic review and meta-analysis. *Acta Neurochir (Wien).*
88. Mondorf Y et al. (2009). Chronic subdural hematoma--craniotomy versus burr hole trepanation. *Br J Neurosurg.*23(6):612-6.
89. Regan J et al. (2015). Burr hole washout versus craniotomy for chronic subdural hematoma: patient outcome and cost analysis. *LoS One.* 10 (1) e0115085.
90. Busceti CL et al. (2018). Dickkopf-3 Causes Neuroprotection by Inducing Vascular Endothelial Growth Factor. *Front Cell Neurosci.* 12:292.
91. Komiya Y et al. (2008). Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis.*4(2):68-75.
92. Michaelides E et al. (2016). Dickkopf-related Protein 3 as a Sensitive and Specific Marker for Cerebrospinal Fluid Leaks. *Otol Neurotol.* 37(3):299-303.
93. Nakamura R et al. (2007). Identification of two novel activities of the Wnt signaling regulator Dickkopf 3 and characterization of its expression in the mouse retina. *BMC Cell Biol.*
94. Purro S et al. (2014). Dysfunction of Wnt signaling and synaptic disassembly in neurodegenerative diseases. *J Mol Cell Biol.* 6(1):75-80.
95. Aghaizu ND et al. (2020). Dysregulated Wnt Signalling in the Alzheimer's Brain. *Brain Sci.* 10(12):902.
96. Bruggink KA et al. (2015). Dickkopf-related protein 3 is a potential A $\beta$ -associated protein in Alzheimer's Disease. *J Neurochem.* 134(6):1152-62.

97. Zenzmaier C et al. (2009). Dkk-3 is elevated in CSF and plasma of Alzheimer's disease patients. *J Neurochem.* 110(2):653-61.
98. Zhang L et al. (2017). Dickkopf 3 (Dkk3) Improves Amyloid- $\beta$  Pathology, Cognitive Dysfunction, and Cerebral Glucose Metabolism in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Alzheimers Dis.* 60(2):733-746.
99. Kurozumi K et al. (2020). Study protocol of a Phase I/IIa clinical trial of Ad-SGE-REIC for treatment of recurrent malignant glioma. *Future Oncol.* 16(6):151-159.
100. Shimazu Y et al. (2015). Integrin antagonist augments the therapeutic effect of adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene therapy for malignant glioma. *Gene Ther.* 22(2):146-54.
101. Mizobuchi Y et al. (2008). REIC/Dkk-3 induces cell death in human malignant glioma. *Neuro Oncol.* 10(3):244-53.
102. Casili G et al. (2018). TLR-4/Wnt modulation as new therapeutic strategy in the treatment of glioblastomas. *Oncotarget.* 9 (101):37564-37580.
103. Liu D et al. (2020). Long Noncoding RNA NEAT1 Suppresses Proliferation and Promotes Apoptosis of Glioma Cells Via Downregulating MiR-92b. *Cancer Control.* 27(1):1073274819897977.
104. Li Q et al. (2013). MiR-92b inhibitor promoted glioma cell apoptosis via targeting DKK3 and blocking the Wnt/beta-catenin signaling pathway. *J Transl Med.* 11; 11:302.
105. Peng G et al. (2019). miR-25-3p promotes glioma cell proliferation and migration by targeting FBXW7 and DKK3. *Exp Ther Med.* 18(1):769-778.
106. Oral A et al. (2018). A gene expression signature predicts recurrence-free survival in meningioma. *Oncotarget.* 9(22):16087-16098.
107. Caffo M et al. (2017). Modulation of Dkk-3 and claudin-5 as new therapeutic strategy in the treatment of meningiomas. *Oncotarget.* 8(40):68280-68290.

108. Valdora F et al. (2013). Epigenetic Silencing of DKK3 in medulloblastoma. *J Mol Sci.* 14(4):7492-505.
109. Fujihara T et al. (2018). Down-regulation of MDR1 by Ad-DKK3 via Akt/NFκB pathways augments the anti-tumor effect of temozolomide in glioblastoma cells and a murine xenograft model. *J Neurooncol.* 139(2):323-332.
110. Ftouh S et al. (2005). Down-regulation of Dickkopf 3, a regulator of the Wnt signaling pathway, in elderly schizophrenic subjects. *Neurochem.* 94(2):520-30.
111. Xu Y et al. (2020). DKK3 attenuates JNK and AP-1 induced inflammation via Kremen-1 and DVL-1 in mice following intracerebral hemorrhage. *J Neuroinflammation.* 17(1):130.
112. Zhu Z et al. (2020). Serum dickkopf-3 is associated with death and vascular events after ischemic stroke: an observational study from CATIS. *J Neuroinflammation.* 17(1):12.
113. Hamzehzadeh, L et al. (2018). Dickkopf homolog 3 (DKK3): A candidate for detection and treatment of cancers? *J. Cell Physiol.* 233, 4595–4605
114. Foulquier, S. et al. (2018). WNT signaling in cardiac and vascular disease. *Pharmacol. Rev.* 70, 68–141
115. Zhang, Y. et al. (2014). Dickkopf-3 attenuates pressure overload-induced cardiac remodelling. *Cardiovasc. Res.* 102, 35–45
116. Bao, M. W. et al. (2015). Dickkopf-3 protects against cardiac dysfunction and ventricular remodelling following myocardial infarction. *Basic Res. Cardiol.* 110, 25
117. Lu, D. et al. (2016). Dkk3 prevents familial dilated cardiomyopathy development through wnt pathway. *Lab. Invest.* 96, 239–248
118. Zhai, C. G. et al. (2018). DKK3 overexpression attenuates cardiac hypertrophy and fibrosis in an angiotensin-perfused animal model by regulating the ADAM17/ACE2 and GSK-3beta/beta-catenin pathways. *J. Mol. Cell Cardiol.* 114, 243–252

119. Federico, G. et al. (2016). Tubular dickkopf-3 promotes the development of renal atrophy and fibrosis. *JCI Insight*. 1, e84916
120. Schunk, S. et al. (2021). Dickkopf 3-a novel biomarker of the “kidney injury continuum”. *Nephrol. Dial. Transplant*.
121. Zewinger, S. et al. (2018). Dickkopf-3 (DKK3) in urine identifies patients with short-term risk of eGFR loss. *J. Am. Soc. Nephrol*. 29,2722–2733
122. Schunk, S. J. et al. (2019). Association between urinary dickkopf-3, acute kidney injury, and subsequent loss of kidney function in patients undergoing cardiac surgery: An observational cohort study. *Lancet* 394, 488–496
123. Piek, A. et al. (2020). A combined bioinformatics, experimental and clinical approach to identify novel cardiac specific heart failure biomarkers: Is dickkopf-3 (DKK3) a possible candidate? *Eur. J. Heart Fail*.
124. Piek A. et al. (2021). The emerging plasma biomarker Dickkopf-3 (DKK3) and its association with renal and cardiovascular disease in the general population. *Sci Rep*. 11(1):8642.
125. Safari E. (2018). Dkk-3 as a potential biomarker for diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *Safari E. Med J Islam Repub Iran*. 32:86.
126. Gondkar K. et al. (2019). Dickkopf Homolog 3 (DKK3) Acts as a Potential Tumor Suppressor in Gallbladder Cancer. *Front Oncol*. 9: 1121.
127. Yin DT et al. (2013). DKK3 is a potential tumor suppressor gene in papillary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. 20(4):507-14.
128. Al Shareef Z et al. (2018). Protective effect of stromal Dickkopf-3 in prostate cancer: opposing roles for TGFBI and ECM-1. *Oncogene*. 37(39):5305-5324.
129. Lee EJ et al. (2020). Dickkopf-3 in Human Malignant Tumours: A Clinical Viewpoint. *Anticancer Res*. 40(11):5969-5979

130. Edlmann E et al. (2017). Pathophysiology of chronic subdural haematoma: inflammation, angiogenesis and implications for pharmacotherapy. *J Neuroinflammation*. 2017 May 30;14(1):108.
131. Hara M et al. (2009). Possible role of cyclooxygenase-2 in developing chronic subdural haematoma. *J Med Dent Sci*. 56:101–6.
132. Shono T et al. (2001). Vascular endothelial growth factor in chronic subdural haematomas. *J Clin Neurosci*. 8(5):411–5.
133. Nanko N et al. (2009). Involvement of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and VEGF in the mechanism and development of chronic subdural haematoma. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 49(9):379–85.
134. Weigel R et al. (2001). Specific pattern of growth factor distribution in chronic subdural haematoma (CSH): evidence for an angiogenic disease. *Acta Neurochir (Wien)*. 143(8):811–9.
135. Kalamatianos T et al. (2013). PlGF and sVEGFR-1 in chronic subdural hematoma: implications for hematoma development. *J Neurosurg* 118(2):353–7.
136. Hua C et al (2016). Role of matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9, and vascular endothelial growth factor in the development of chronic subdural hematoma. *J Neurotrauma* 33(1):65–70.
137. Vaquero J et al. (2002). Vascular endothelial growth-permeability factor in granulation tissue of chronic subdural haematomas. *Acta Neurochir (Wien)*. 144(4):343–6.
138. Hong HJ et al. (2009). Role of angiogenic growth factors and inflammatory cytokine on recurrence of chronic subdural hematoma. *Surg Neurol* 71(2):161–5.
139. Jung S et al. (2006). Possible pathophysiological role of vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinases (MMPs) in metastatic brain tumor-associated intracerebral hemorrhage. *J Neurooncol* 76(3):257–63.

140. Sajanti J, Majamaa K. (2003). High concentrations of procollagen propeptides in chronic subdural haematoma and effusion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 74(4):522
141. Nomura S et al. (1994). Characterization of local hyperfibrinolysis in chronic subdural hematomas by SDS-PAGE and immunoblot. *J Neurosurg*. 81(6):910–3.
142. Weir B, Gordon P. (1983). Factors affecting coagulation: fibrinolysis in chronic subdural fluid collections. *J Neurosurg*. 58(2):242–5.
143. Katano H et al. (2006). Tissue plasminogen activator in chronic subdural hematomas as a predictor of recurrence. *J Neurosurg*. 104:79–84.
144. Chen T et al. (2019). DKK3 (Dickkopf-3) Transdifferentiates Fibroblasts Into Functional Endothelial Cells-Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 39(4):765
145. Lipphardt M et al. (2019). Dickkopf-3 in aberrant endothelial secretome triggers renal fibroblast activation and endothelial-mesenchymal transition. *Nephrol Dial Transplant*. 34(1):49-62.
146. Cheng WL et al. (2017). Dickkopf-3 Ablation Attenuates the Development of Atherosclerosis in ApoE-Deficient Mice. *J Am Heart Assoc*. 6(2):e004690.
147. Busceti CL et al. (2017). Dickkopf-3 Upregulates VEGF in Cultured Human Endothelial Cells by Activating Activin Receptor-Like Kinase 1 (ALK1) Pathway. *Front Pharmacol*. 8:111.
148. Busceti CL et al. (2018). Dickkopf-3 Causes Neuroprotection by Inducing Vascular Endothelial Growth Factor. *Front Cell Neurosci*. 12:292.
149. Bachmann-Harildstad G. et al. (2008). Diagnostic values of beta-2 transferrin and  $\beta$ -TP protein as markers for cerebrospinal fluid fistula. *Rhinology*. 46(2):82-5.
150. Mantur M et al. (2011). Cerebrospinal fluid leakage--reliable diagnostic methods. *Clin Chim Acta*. 412(11-12):837-40.
151. Reiber H et al. (2003). B-TP protein as sensitive marker for CSF rhinorrhea and CSF otorrhea. *Acta Neurol Scand*. 108(5):359-62.

152. Bernasconi L et al. (2017). Retrospective validation of a  $\beta$ -trace protein interpretation algorithm for the diagnosis of cerebrospinal fluid leakage. *Clin Chem Lab Med.* 1;55(4):554-560
153. Kristof RA et al. (2008). Cerebrospinal fluid leakage into the subdural space: possible influence on the pathogenesis and recurrence frequency of chronic subdural hematoma and subdural hygroma. *J Neurosurg.* 108(2):275-80.
154. Park KS et al. (2017). Chronic Subdural Hematoma Preceded by High-Impact Trauma: Does the Intensity of Trauma Influence the Pathogenesis of Traumatic Chronic Subdural Hematoma? *Turk Neurosurg.* 27(1):53-59.
155. Park KS et al. (2015). *J Korean Neurosurg Soc.* 57(4):235-41. Correlation of the B-TP protein and inflammatory cytokines with magnetic resonance imaging in chronic subdural hematomas: a prospective study.