

# Düşük doz fraksiyone olmayan heparin ve düşük moleküler ağırlıklı heparinin farelerde subaraknoid kanama sonrası erken beyin hasarı üzerindeki etkileri

## Effects of low-dose unfractionated heparin and low molecular weight heparin on early brain injury after subarachnoid hemorrhage in mice

Orhan ALTAY<sup>1</sup> (ID)

### ÖZET

**Amaç:** Kapsamlı araştırma çabalarına rağmen, subaraknoid kanama sonrası erken beyin hasarını (EBI) önlemek için kanıtlanmış etkili bir tedavi yoktur. Heparin, birçok patofizyolojik mekanizmayı antagonize eden pleiotropik bir ilaçtır. Bu çalışmada, heparinin subaraknoid kanama (SAK) sonrası erken beyin hasarını (EBH) önleyip önlemediğini değerlendirdik.

**Yöntem:** SAK, farelerde endovasküler perforasyonla induklendi ve hayvanlar Kontrol (n = 8), SAK (n=12), SAK + 10U UFH (n=11), SAK + 40U UFH (n=13), SAK + 4U dalteparin (n=11) ve SAK + 16U dalteparin (n=14) olarak gruplara ayrıldı. SAK'dan 24 saat sonra subaraknoid kanama ciddiyeti, mortalite, nörolojik skor ve beyin su içeriği değerlendirildi.

**Bulgular:** Düşük doz fraksiyone olmayan heparin (UFH) ile düşük doz düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH)'in beyinde subaraknoid kanama miktarında bir değişiklik olmadığı ve nörolojik muayenede, beyin su içeriğinde erken dönemde iyileştirme yaptığı, mortaliteyi sayısal olarak azalttığı belirlenmiş ancak istatistiksel olarak birbirine üstünlüğü görülmemiştir. Yüksek doz fraksiyone olmayan heparin (UFH) veya düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH) nöroprotektif

### ABSTRACT

**Objective:** Despite extensive research efforts, there is no proven effective treatment to prevent early brain damage (EBI) after subarachnoid hemorrhage. Heparin is a pleiotropic drug that antagonizes many pathophysiological mechanisms. In this study, we evaluated whether heparin prevents early brain damage (EBI) after subarachnoid hemorrhage (SAH).

**Methods:** SAH was induced by endovascular perforation in mice and animals divided into 6 groups; Control (n = 8), SAH (n = 12), SAH + 10U UFH (n = 11), SAH + 40U UFH (n = 13), SAH + 4U dalteparin (n = 11) and SAH + 16U dalteparin (n = 14). Subarachnoid hemorrhage severity, mortality, neurological score and brain water content were evaluated at 24 hours after SAH.

**Results:** It was found that low-dose unfractionated heparin (UFH) and low-dose low molecular weight heparin (LMWH) decreased brain water content, improved neurological score and did not increase subarachnoid hemorrhage amount in the early period of SAH. It was observed that it decreased mortality numerically, however it was not observed statistically superiority to each other. It has been shown that high-dose unfractionated heparin (UFH) or high-dose

<sup>1</sup>Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Orhan ALTAY  
Üniversiteler Mahallesi 1604. Cadde No: 9 Çankaya / Ankara - Türkiye  
E-posta / E-mail : orhanaltay@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 14.06.2021  
Kabul Tarihi / Accepted : 07.09.2021

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2021.83798

Altay O. Düşük doz fraksiyone olmayan heparin ve düşük moleküler ağırlıklı heparinin farelerde subaraknoid kanama sonrası erken beyin hasarı üzerindeki etkileri. Türk Hij Den Biyol Derg, 2021; 78(3): 379 - 388

etkilerini engelleyen subaraknoid kanama artışına meyil yarattığı ve başka mekanizmaları aktive ederek beyin hasarını artırdığını göstermiştir.

**Sonuç:** SAK sonrası erken dönemde düşük doz fraksiyone olmayan heparin (UFH) ve düşük doz düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH) tedavisi erken beyin yaralanmasını azaltabilir. Klinik olarak akut anevrizma rüptüründen sonraki sekonder beyin hasarının erken dönemde önlenmesinde etkin olabileceğine işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Fraksiyone olmayan heparin (UFH), düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH), erken beyin hasarı, subaraknoid kanama

low molecular weight heparin (LMWH) inhibits the neuroprotective effects, creating a tendency to increase subarachnoid hemorrhage and increase brain damage by activating other mechanisms.

**Conclusion:** Low-dose unfractionated heparin (UFH) and low-dose low molecular weight heparin (LMWH) treatment in the early period after SAH may reduce early brain injury and clinically imply that it may be effective for the early prevention of secondary brain injury after acute aneurysm rupture.

**Key Words:** Unfractionated heparin (UFH), low molecular weight heparin (LMWH), early brain injury, subarachnoid hemorrhage

## GİRİŞ

Subaraknoid kanama (SAK), ani ölüm riski ile hayatı tehdit eden bir hastalıktır. SAK, inmelerin %5'ini oluşturur, yaklaşık %85 hastada intrakraniyal anevrizmanın rüptüründen kaynaklanır, ölümcüllük oranı yaklaşık %50'dir. Serebral anevrizma rüptüründen sonraki 48-72 saat içinde ortaya çıkan erken beyin hasarı (EBI, early brain injury), subaraknoid kanamadan sonra kötü sonuçların ciddiyetini ifade eden bir faktör olarak belirlenmiş sekonder beyin hasarıdır (1). Subaraknoid kan pıhtısı, kafa içi basıncının yükselmesine ve serebral perfüzyon azalmasına, SAK sonrası olumsuz sonuçların önemli nedenlerinden biri olan mikrovasküler dolaşım bozukluğuna neden olur ve inflamatuvar reaksiyon gibi akut bir yaralanma kaskadını başlatır (2).

Trombin, pıhtılaşma kaskadında aktif olan tripsin benzeri bir allosterik serin proteazdır. Kimotripsin ailesine aittir ve aktif olmayan prekürsör protrombinin protrombinaz kompleksi tarafından proteolitik bölünmesi ile üretilir. Bu aktivasyon kompleksi, aktive edilmiş faktör V (FVa), FX (Stuart-Prower faktörü), Ca<sup>2+</sup> ve fosfolipidlerden oluşur (3,4). Trombin çok fonksiyonlu bir serin proteaz pıhtılaşma proteinidir ve

endotel, epitel, nöronal ve glial hücreler dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinin yüzeyinde eksprese edilen proteazla aktive edilmiş reseptörler (PAR) yoluyla etki eder. Trombin, kan pıhtısının ana bileşeni olan fibrinojenin fibrin'e dönüşümüne aracılık eder. Ayrıca trombin, kan pıhtılaşma faktörleri V, VIII, XI, XIII ve antikoagülan protein C'yi aktive eder (5). Trombin kan-beyin bariyerinde (BBB, blood-brain barrier) bozulma, beyin ödemi, inflamasyon ve apoptoz ile ilişkilendirilmiştir (6). Bununla birlikte, esas trombin reseptörü olan PAR1'in aktivasyonunun, insan endotel hücrelerinde trombin dozajına bağlı olarak apoptozu indüklediği veya inhibe ettiği bildirilmiştir (7).

1916'da keşfedilen heparin, 1935'ten beri klinik olarak antikoagülan olarak kullanılmaktadır. Standart heparin olarak da bilinen fraksiyone olmayan heparin (UFH) ve düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH) türünde klinikte kullanılan iki çeşit heparin molekülü vardır. Düşük moleküler ağırlıklı heparinin ise (LMWH) bir kaç değişik molekül tipi (örneğin, enoksaparin, dalteparin, nadroparin, tinzaparin, sertoparin) bulunmaktadır (8). Heparinin antikoagülan özellikleri, hem trombin'e bağlanmasına hem de

antitrombin III'ün allosterik aktivasyonunu sağlamak için negatif yüküne bağlıdır ancak negatif yüklü sülfat parçalarından heparin moleküllerini çıkarmak heparinin antikoagülan işlevini azaltır (9, 10). Düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH), fraksiyone olmayan heparine kıyasla altı kat daha az thrombin (anti-IIa) aktivitesine ve yarı anti-Xa (protrombinaz kompleksinin anahtar bileşeni) aktivitesine sahiptir (11). Literatürde fraksiyone olmayan heparin (UFH) veya düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH) gibi antikoagülanların farelerde fokal serebral iskemide nöroprotektif olduğu gösterilmiştir (12, 13).

Yayımlanmış makaleler ve verilere göre standart heparinin terapötik dozu çoğunlukla sürekli olarak infüzyon şeklinde uygulanması nedeniyle yarılanma ömrü metabolizmasının tam olarak bilinmemesine sebep olup, gelişebilecek kanamanın kontrol altında tutamama korkusu oluşturmuştur. Bu yüzden heparinin koruyucu veya antienflamatuar bir ajan olarak klinik kullanımından kaçınılmasına sebep olmuştur. Bu çalışmada düşük veya yüksek doz fraksiyone olmayan heparin (UFH) ile düşük veya yüksek doz düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH)'in beyinde subaraknoid kanama miktarında bir değişiklik yapıp yapmadığı ve bu farklı dozlar kullanılarak nörolojik muayenede, beyin su içeriğinde erken dönemde iyileştirme yapıp yapmadığı mortaliteyi azaltıp azaltmadığı konusunda araştırma yapılmamış ve bu yüzden bizim bu çalışmamızda birbirine üstünlüğü karşılaştırma yapılmak istenmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Deney Tasarımı ve Hayvan Grupları

Loma Linda Üniversitesi Kaliforniya hayvan ve etik inceleme komitesi tüm protokolleri onayladı. Altmış dokuz 8 haftalık erkek CD-1 fareleri (30-38g; Charles River, Wilmington, MA) kullanıldı.

SAK sonrası erken dönemde gelişen erken beyin yaralanmasına kanamadan 2 saat sonra uygulanan yüksek veya düşük doz fraksiyone olmayan heparin (UFH) veya düşük moleküler ağırlıklı heparinin (LMWH/

Dalteparin) etkisinin olup olmadığını incelemek için rastgele 6 farklı hayvan grubu oluşturuldu ve ameliyattan 24 saat sonra fareler değerlendirildi. Gruplar şu şekilde adlandırıldı: Kontrol (sham) (n = 8), SAK (n=12), SAK + 10U UFH (n=11), SAK + 40U UFH (n=13) SAK + 4U dalteparin (n=11) ve SAK + 16U dalteparin (n=14).

### Fare Subaraknoid Kanama (SAK) Modeli

SAK, endovasküler monofilament perforasyon modeli farelerde daha önce tarif edildiği gibi gerçekleştirildi (1,16). Kısaca, hayvanlara intraperitoneal bir ketamin / ksilazin enjeksiyonu (100/10 mg/kg) ile anestezi uygulandı. Anterior serebral arteri delmek için internal karotid arterden (ICA) keskinleştirilmiş bir 5-0 monofilament naylon sütün ortalama 17 mm ilerletildi. Kontrol (sham) grupta ise filaman, arter delinmeden ICA yoluyla 5 mm ilerletildi. İşlem sırasında vücut sıcaklığı sabit tutuldu ( $37.5 \pm 0.5$  °C).

### İlaç Yönetimi

İnsanda kullanılan fraksiyone olmayan domuz heparini (UFH) için subkutan olarak verilen güvenli tedavi dozu 600U/kg/gün olarak rapor edilmiştir. (14) Bu doz kullanılarak fraksiyone olmayan domuz heparini fare başına tedavi dozu 20U SC (subcutan=ciltaltı) (ortalama fare vücut ağırlığı, 33mg) olarak hesaplanmıştır. Ayrıca insanda kullanılan düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH) için SC (subcutan=ciltaltı) olarak verilen güvenli tedavi dozu 200U/kg/gün olarak rapor edilmiştir. (15) Bu doz kullanılarak düşük moleküler ağırlıklı heparin fare başına tedavi dozu 8U SC (ortalama fare vücut ağırlığı, 33mg) olarak hesaplanmıştır. Bu referanslara dayanarak, bu çalışmada SAK indüksiyonundan 2 saat sonra, 10U, 40U fraksiyone olmayan heparin (UFH) (McGuff şirketi Inc., Santa Ana, CA, ABD) ve 4U, 16U dalteparin (Anti-Xa) (dalteparin sodyum; Eisai Inc., Woodcliff Lake, NJ, ABD) cilt altından (SC) uygulandı.

### Subaraknoid Kanama Ciddiyeti

Subaraknoid kanamanın ciddiyeti, ötonazi yapıldıktan sonra çok hızlı bir şekilde beyin fare kafa kemiğinden çıkarılıp, yüksek çözünürlüklü fotoğraflar

çekilip her fare hangi gruba ait olduğu bilinmeden (blindly=kör) rastgele şekilde SAK derecelendirme skalası kullanılarak hesaplandı (16). Kısaca SAK derecelendirme sistemi aşağıdaki gibidir: bazal kaide, altı segmente ayrıldı ve her segmentteki subaraknoid kan ve kan pıhtısının miktarına bağlı olarak 0 ila 3 arasında bir puan verildi; **derece 0**, subaraknoid kanama yok; **derece 1**, minimal subaraknoid kan; **derece 2**, fotoğraflara bakıldığında arterler tanımlanabilir, orta derecede kan pıhtısı; ve **derece 3**, segment içindeki tüm arterlerin görünemeyecek şekilde biriken kan pıhtısı. Her hayvan ayrı ayrı altı segmentide değerlendirilip verilen puanlar birbirine eklendikten sonra 0 ila 18 arasında bir toplam puan elde edilip kaydedildi.

### Nörolojik Skor ve Mortalite

Nörolojik skor, SAK'dan 24 saat sonra Garcia ve arkadaşlarının (17) modifikasyonlu skortlama sistemine dayanarak her fare hangi gruba ait olduğu bilinmeden (blindly) rastgele daha önce tarif edildiği gibi değerlendirildi. Değerlendirme, 0 ila 3 veya 1 ila 3 arasında puanlanabilen altı testten oluşur. Bu altı test şunları içerir: spontan aktivite; dört uzvun hepsinin hareketinde simetri; ön ayaklarını eşit kaldırma; tırmanma; yana devrilme (felç); ve burun bıyık uyarımına cevap. Hayvanlara 1 puanlık skortlama yapılarak 3 ila 18 arasında bir puan verildi (yüksek puanlar daha iyi nörolojik fonksiyonu gösterir).

Mortalite, SAK'dan 24 saat sonra hesaplandı.

### Beyin Suyu İçeriği

Fare beyni kafatası kemiğinden hızla çıkarıldı ve sol ve sağ serebral hemisferlere ayrıldı ve ameliyattan sonra 24. saatte (grup başına n = 8) tartıldı (ıslak ağırlık). Daha sonra beyin örnekleri 105 °C'de bir fırında 72 saat kurutuldu ve tekrar tartıldı (kuru ağırlık). Beyin su içeriği yüzdesi ([ıslak ağırlık-kuru ağırlık] / ıslak ağırlık)% X100 olarak hesaplandı (16).

### İstatistik

İstatistiksel farklılıklar Tukey-Kramer post hoc testleri ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak analiz edilmiştir. Mortalite farklılıkları

Fisher'in kesin testleri (Fisher's exact test) kullanılarak uygun şekilde test edildi ve  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

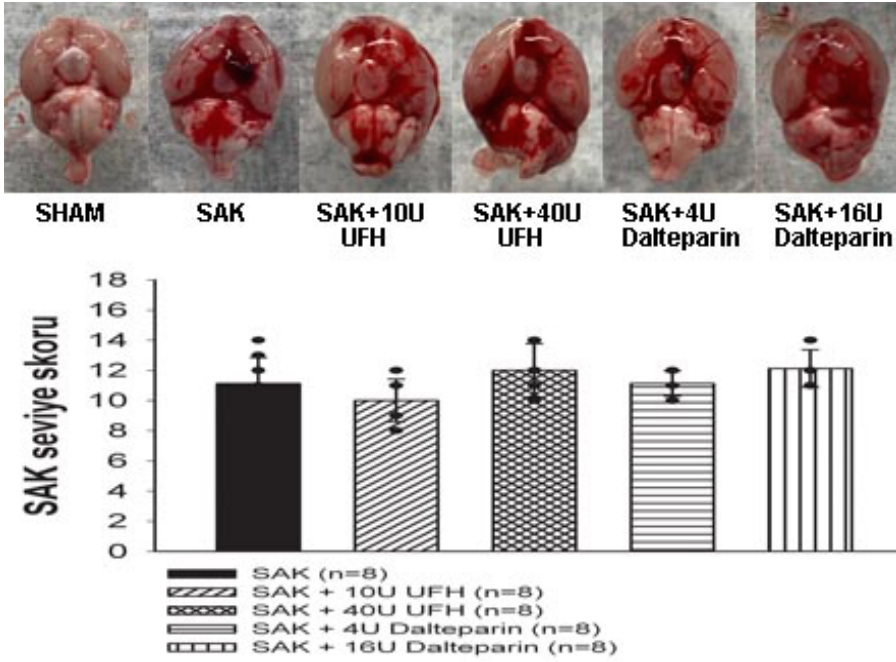
## BULGULAR

### Mortalite ve Subaraknoid Kanama Ciddiyeti

SAK sonrası tedavi amaçlı kullanılan 10U veya 40U fraksiyone olmayan heparin (UFH) grubu ve 4U veya 16U dalteparin grubu birbiriyle ve SAK grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında fare ölüm oranlarında anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. Kontrol (sham) grubundaki hiçbir hayvan ölmedi. (SAK, 33.3%, 12 farenin 4'ü öldü; SAK + 10U UFH 27.3%, 11 farenin 3'ü öldü; SAK + 40U UFH 38.5%, 13 farenin 5'i öldü; SAK + 4U dalteparin 27.3%, 11 farenin 3'ü öldü; ve SAK + 16U dalteparin 42.8%, 14 farenin 6'sı öldü, sırasıyla). Ayrıca sadece SAK grubu ve tedavi edilen her grup birbiriyle subaraknoid kanama miktar derecesi açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi ( $p=0.077$ ; Şekil 1), bu durum ise bize yaklaşık aynı derecede kanamış hayvan gruplarını önyargı (bias) olmadan nörolojik skor ve beyin su içeriği açısından karşılaştırabilmemize imkan sağladı.

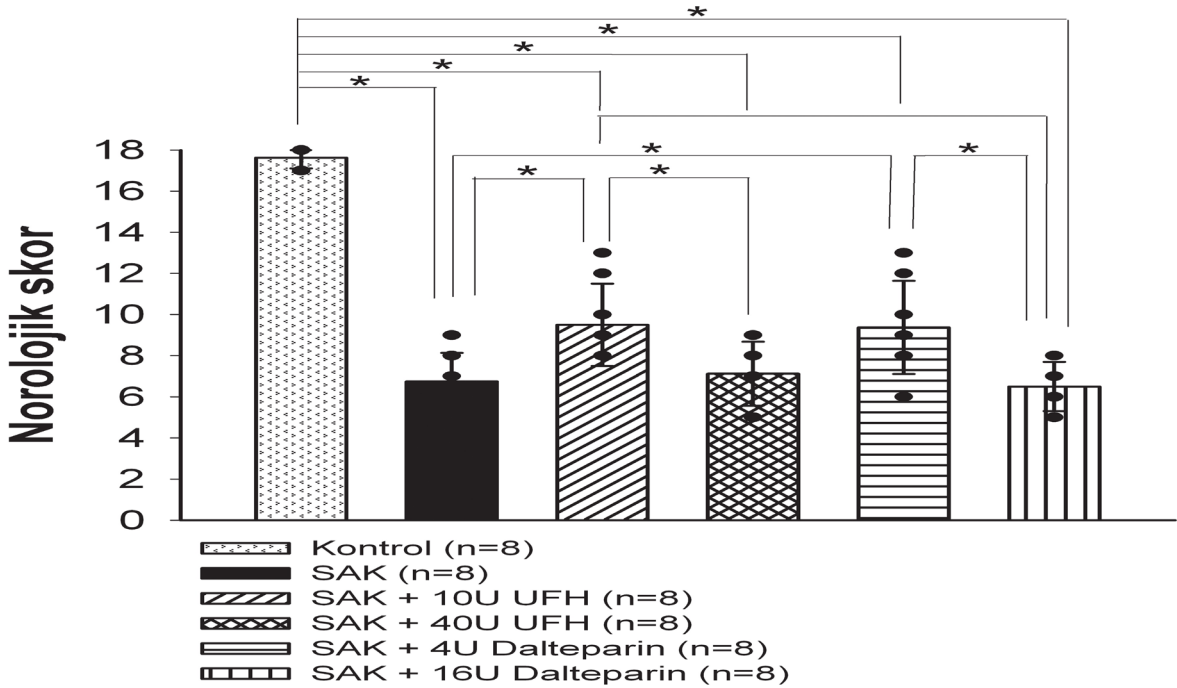
### Nörolojik skor ve Beyin su içeriği

Farelerde SAK sonrası nörolojik skor anlamlı olarak daha fazla kötüleşti ancak nörolojik skor 24 saat sonra SAK grubuna kıyasla SAK sonrası 10U fraksiyone olmayan heparin ile tedavi edilmiş grupta ve SAK sonrası 4U dalteparin ile tedavi edilmiş grupta anlamlı bir iyileşme gözlemlendi ( $p=0.015$ ,  $p=0.023$ ; Şekil 2) ancak SAK sonrası 40U fraksiyone olmayan heparin ve 16U dalteparin tedavisi sonrası koruyucu etki görülmedi ( $p=0.997$ ,  $p=1.000$ ; Şekil 2). Ayrıca 24 saat sonra SAK grubuna kıyasla SAK sonrası 10U fraksiyone olmayan heparin ile tedavi grubunda ve SAK sonrası 4U dalteparin tedavi grubunda sol hemisferde beyin su içeriği önemli ölçüde azaldı ( $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ; Şekil 3) ancak SAK sonrası 40U fraksiyone olmayan heparin ve 16U dalteparin tedavisi sonrası beyin su içeriği üzerine anlamlı fark görülmedi ( $p=0.349$ ,  $p=0.897$ ;



**Şekil 1.** Ötonazi yapıldıktan sonra çok hızlı bir şekilde beyin fare kafa kemiğinden çıkarılıp, çekilen yüksek çözünürlüklü fotoğraflardan her bir gruba ait bir örnek sırayla yerleştirilmiştir. Fotoğraflarda subaraknoid kanama, fare beyinlerinin kaidesinde görülmektedir. Kontrol (sham) grubunda kanama görülmemektedir.

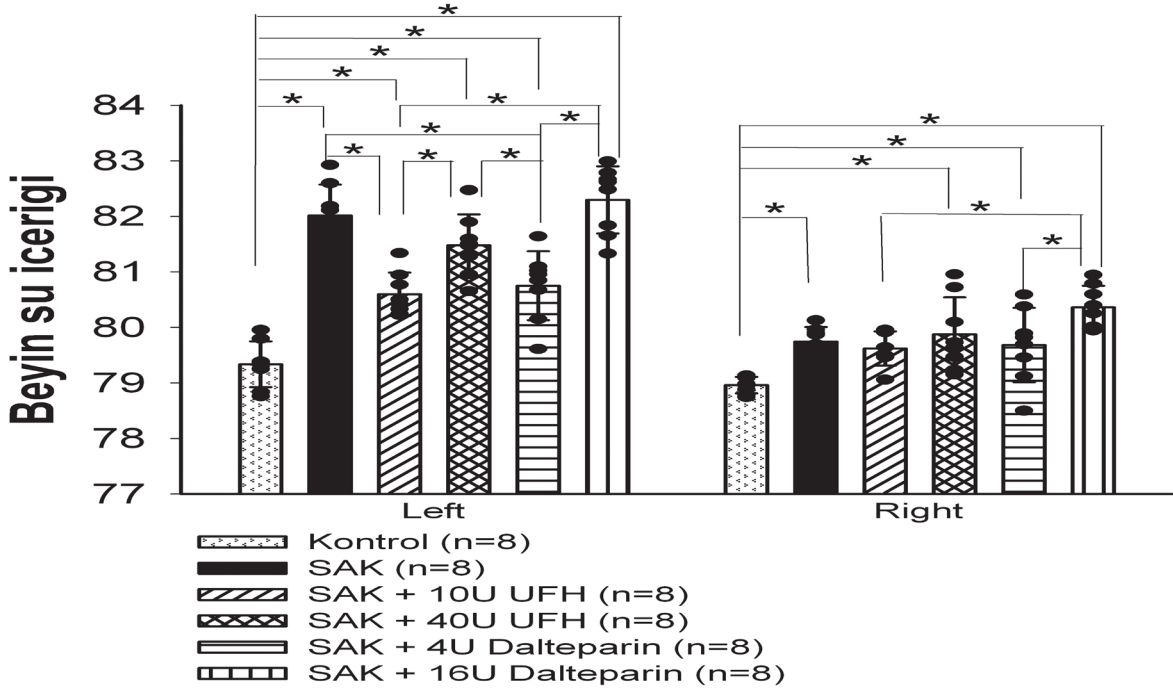
SAK seviye skoru SAK sonrası 24. saatte. Değerler, medyan ± 25th ila 75th persentiller, \* $p < 0.05$ , Kruskal-Wallis test.



**Şekil 2.** Nörolojik skor SAK sonrası 24. saatte. Değerler, ortalama ± SD, \* $p < 0.05$ , ANOVA.

Şekil 3). SAK sonrası 10U fraksiyone olmayan heparin tedavi grubuyla, SAK sonrası 4U dalteparin tedavi grubu nörolojik skor ( $p=1.000$ ; Şekil 2) ve beyin su

içeriği ( $p=0.992$ ; Şekil 3) açısından karşılaştırıldığında aralarında herhangi bir anlamlı fark görülmedi.



Şekil 3. Beyin su içeriği SAK sonrası 24. saatte. Değerler, ortalama ± SD, \* $P<0.05$ , ANOVA.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Anevrizmaların erken tedavisi ve tedavi protokollerinin geliştirilmesi anevrizmal subaraknoid kanama hastaları için genel morbidite ve mortalitede büyük azalmaya yol açtığı görülmüştür. Subaraknoid kanama, çok sayıda sitokin, kemokin, kompleman, lökosit ve mikroglia içeren önemli bir inflamatuvar yanıtı neden olur ve sistemik inflamatuvar yanıtın, serebral vazospazm ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (18-21). Ek olarak SAK sonrası mikrotrombüs ve vasospazm, özellikle membran P-Selektin ekspresyonunun artması ve nitrik oksit (NO) azalması ile ilişkilendirilmiştir (22). Serebral anevrizma rüptüründen sonraki en erken 48 saat içinde ortaya çıkan erken beyin hasarı, subaraknoid kanamadan sonra gelişen kötü sonuçların ciddiyetini ifade eder

(23). Bu yüzden SAK'tan sonraki en erken dönemde kötü sonuçların ciddiyetini azaltabilecek aday ilaçlar hastalar için çok önemli olacaktır. Bu çalışmada, SAK'dan iki saat sonra erken dönemde düşük doz fraksiyone olmayan heparin (UFH) (10U Heparin) ve düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH) (4U Dalteparin) tedavisi hayvanlarda nörolojik muayeneyi düzeltip, beyin ödemi azalttığı yani 24 saat sonra incelenen hayvanlarda erken beyin yaralanmasını azalttığı ve koruyucu etki sağladığı gösterilmiştir.

Bütün dünyada muhtemelen antikoagülan bir dozun hemorajik komplikasyonlara yatkınlık yaratabileceği endişesi heparin kullanımına beyin cerrahları arasında destek kazandırmamıştır (24). Ancak, literatürde bildirildiğine göre fizyolojik koşullar altında heparin fibrinolitik aktiviteye sahip değildir (25), bizim sonuçlar bize düşük doz UFH

(10U Heparin) ve LMWH'in (4U Dalteparin) stabil bir fibrin pıhtısına zarar veremeyeceği, kanama riskini arttırmayacağını ve ayrıca düşük doz UFH ve LMWH'in sağladığı iyilik halinin başka bir fizyolojik mekanizmanın aktive edilerek gerçekleştirildiğini düşündürmüştür.

Heparin bilinen herhangi bir biyolojik molekül grubu içerisinde en yüksek negatif yük yoğunluğuna sahiptir ve sonuç olarak pozitif yüklü moleküllere ve yüzeylere bağlanma eğilimi yüksektir. Literatürde, çok sayıda plazma proteini, trombositlerden, sitokinlerden, kemokinlerden ve diğer küçük biyolojik olarak aktif moleküllerden ve endotelial hücrelerin kendilerinden salınan proteinleri içeren listede, 100'den fazla heparin bağlayıcı protein tanımlanmıştır (8, 26-29). Klinik olarak heparin neredeyse sadece antikoagülan özellikleri için kullanılmasına rağmen, heparin bağlandığında diğer birçok biyolojik yolları ve mekanizmaları bloke edebilir (30). Fraksiyone olmayan heparin (UFH) ve düşük moleküler ağırlıklı heparin lökositin damar duvarlarından iltihap alanlarına geçişini (leukocyte rolling) aracılık eden yapışma molekülleri P- ve L-selektinin güçlü inhibitörleridir (31, 33). Heparinin antienflamatuar rolü, travmatik beyin hasarı ve kronik nörodejenerasyon araştırmalarından elde edilen kanıtlarla da desteklenmektedir. Nagata ve arkadaşları (34) heparinin erken uygulanmasının travmatik beyin hasarı sonrası inflamasyonda azalma ve bilişsel sonuçların korunması ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar ayrıca düşük moleküler ağırlıklı fraksiyone heparin, enoksaparinin rolünü araştıran önceki çalışmalarla da desteklenmiştir (33-35). Bir çalışmada subaraknoid kanama sonrası düşük

moleküler ağırlıklı heparin (LMWH-enoksaparin) ile antikoagülasyonun ümit verici olduğu bildirilmiştir (36), ancak bu bulgu ikinci bir grup araştırmacı tarafından tekrar tespit edilememiştir (37,38). Bu durum bize anevrizmal SAK'lı insan çalışmaları enoksaparinin rolü konusunda karışık sonuçlar varlığını ve düşük moleküler ağırlıklı heparinin faydalı olup olmadığı değerlendirmesi gerekliliğini ortaya koymuştur.

Sonuç olarak, anevrizmal subaraknoid kanaması olan hastalarda gelişen sekonder beyin hasarı yüksek morbidite ve mortalite oranlarına yol açar. Bununla birlikte, kanıta dayalı tedavi stratejileri çok azdır. Heparinin nöroinflamasyon, mikrotromboembolizm ve vazomotor fonksiyon üzerinde çeşitli etkileri olduğundan (39) amacımız heparinin SAK'da mortaliteyi artırıp artırmadığı ve morbiditeyi iyileştirmek için profilaktik ajan olarak kullanılıp kullanılmayacağını belirlemektir. Ayrıca antikoagülan kullanılan kanserli elektif cerrahi hastalarında kanama oranlarında artma eğilimi yaratmadığı rapor edilmiştir (40). Bizim bu çalışmamızda, subaraknoid kanama sonrası UFH (10U Heparin) ve LMWH (4U Dalteparin) kullanımı, oluşan kanama oranında anlamlı bir artışa neden olmadığı tespit edilmiş ve nörolojik muayenede iyileşme görülmesi mikrokoagülasyon profilaksisinin SAK'lı hasta tedavisinde önemli olabileceğini düşündürmektedir. Bu deneysel çalışmamız ile heparinin SAK'da etkinliğinin faydası karşılaştırmalı olarak doğrulanmış olup ancak heparinin hangi mekanizmalarla bu etkiyi oluşturduğunu gösteren gelecek deneysel çalışmaların gerekliliğini ve önemini bize ifade etmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, çalışma boyunca değerli bilgilerimi benimle paylaşan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer hocam; Prof Dr John H Zhang ve çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Dr Başak Caner'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**ETİK KURUL ONAYI**

\* Bu çalışma, Loma Linda Üniversitesi Kaliforniya Hayvan ve Etik İnceleme Komitesi onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 10.11.2011 ve Onay no: 8110029).

**ÇIKAR ÇATIŞMASI**

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**KAYNAKLAR**

1. Altay O, Suzuki H, Hasegawa Y, Caner B, Krafft PR, Fujii M, et al. Isoflurane attenuates blood-brain barrier disruption in ipsilateral hemisphere after subarachnoid hemorrhage in mice. *Stroke* 2012;43:2513-16.
2. Fujii M, Yan J, Rolland WB, Soejima Y, Caner B, Zhang JH. Early brain injury, an evolving frontier in subarachnoid hemorrhage research. *Transl Stroke Res* 2013;4:432-46.
3. Fenton JW., 2nd. Thrombin. *Ann N Y Acad Sci* 1986;485:5-15.
4. Grand, RJ, Turnell AS, Grabham PW. Cellular consequences of thrombin-receptor activation. *Biochem. J.* 1996;313:353-68.
5. Strukova, SM. Role of platelets and serine proteinases in coupling of blood coagulation and inflammation. *Biochem. Biokhimiia* 2004;69:1067-81.
6. Ossovskaya VS, Bunnett NW, de Garavilla L, Vergnolle N, Young SH, Ennes H, et al. Protease-activated receptors: contribution to physiology and disease. *Physiol Rev* 2004;84:579-621.
7. Zania P, Papaconstantinou M, Flordellis CS, Maragoudakis ME, Tsopanoglou NE. Thrombin mediates mitogenesis and survival of human endothelial cells through distinct mechanisms. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008;294:C1215-26.
8. Hirsh J, Anand SS, Halperin JL, Fuster V. Mechanism of action and pharmacology of unfractionated heparin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1094-96.
9. Gray E, Mulloy B, Barrowcliffe TW. Heparin and low-molecular-weight heparin. *Thromb Haemost* 2008;99:807-818.
10. Wei M, Gao Y, Tian M, Li N, Hao S, Zeng X. Selectively desulfated heparin inhibits p-selectin-mediated adhesion of human melanoma cells. *Cancer Lett.* 2005;229:123-6.
11. Noble S, Spencer CM. Enoxaparin: a review on its clinical potential in the management of coronary artery disease. *Drugs* 1998;56(2):259-72.
12. Cade JF, Buchanan MR, Boneu B, Ockelford P, Cater CJ. A comparison of the antithrombotic and haemorrhagic effects of low molecular weight heparin fractions: the influence of the method of preparation. *Thromb Res* 1984;35(6):613-25.



13. Yanaka K, Spellman SR, McCarthy JB, Oegema TR Jr, Low WC, Camarata PJ. Reduction of brain injury using heparin to inhibit leukocyte accumulation in a rat model of transient focal cerebral ischemia. I. Protective mechanism. *J Neurosurg* 1996;85(6):1102-7.
14. Reilly MP, Taylor SM, Hartman NK, Arepally GM, Sachais BS, Cines DB, Poncz M, McKenzie SE. Heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis in a transgenic mouse model requires human platelet factor 4 and platelet activation through FcγRIIIA. *Blood* 2001;98: 2442-47.
15. Barbour LA, Oja JL, Schultz LK. A prospective trial that demonstrates that dalteparin requirements increase in pregnancy to maintain therapeutic levels of anticoagulation. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;191(3):1024-9.
16. Altay O, Hasegawa Y, Sherchan P, Suzuki H, Khatibi NH, Tang J. Isoflurane delays the development of early brain injury after subarachnoid hemorrhage through sphingosine-related pathway activation in mice. *Crit Care Med* 2012;40:1908-13.
17. Garcia JH, Liu KF, Ho KL. Neuronal necrosis after middle cerebral artery occlusion in Wistar rats progresses at different time intervals in the caudoputamen and the cortex. *Stroke*. 1995; 26:636-42.
18. Friedrich V, Flores R, Muller A, Bi W, Peerschke EI, Sehba FA. Reduction of neutrophil activity decreases early microvascular injury after subarachnoid haemorrhage. *J Neuroinflammation* 2011;8:103.
19. Ishikawa M, Kusaka G, Yamaguchi N, Sekizuka E, Nakadate H, Minamitani H. Platelet and leukocyte adhesion in the microvasculature at the cerebral surface immediately after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 2009; 64:546-54.
20. Provencio JJ, Fu X, Siu A, Rasmussen PA, Hazen SL, Ransohoff RM. CSF neutrophils are implicated in the development of vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care* 2010;12:244-51.
21. Stein SC, Levine JM, Nagpal S, LeRoux PD. Vasospasm as the sole cause of cerebral ischemia: how strong is the evidence? *Neurosurg Focus* 2006;21(3):E2.
22. Sabri M, Ai J, Lakovic K, Ilodigwe D, Macdonald RL. Mechanisms of microthrombi formation after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neuroscience* 2012;224:26-37.
23. Cahill J, Zhang JH. Subarachnoid hemorrhage: is it time for a new direction? *Stroke* 2009;40: S86-7.
24. Weyer GW, Nolan CP, Macdonald RL. Evidence-based cerebral vasospasm management. *Neurosurg Focus*. 2006; 21(3):E8.
25. Triantaphyllopoulos DC, Triantaphyllopoulos E. Solubility of fibrin clots in solutions of heparin. *Nature*. 1964; 204:1096-8.
26. Coombe DR. Biological implications of glycosaminoglycan interactions with haemopoietic cytokines. *Immunol Cell Biol*. 2008; 86:598-607.
27. Gandhi NS, Mancera RL. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. *Chem Biol Drug Des*. 2008; 72:455-82.
28. Mulloy B. The specificity of interactions between proteins and sulfated polysaccharides. *An Acad Bras Cienc*. 2005; 77:651-64.
29. Young E. The anti-inflammatory effects of heparin and related compounds. *Thromb Res*. 2008; 122:743-52.
30. Lindahl U, Lidholt K, Spillmann D, et al. More to "heparin" than anticoagulation. *Thromb Res*. 1994; 75:1-32.
31. Koenig A, Norgard-Sumnicht K, Linhardt R, Kjellén L. Differential interactions of heparin and heparan sulfate glycosaminoglycans with the selectins. Implications for the use of unfractionated and low molecular weight heparins as therapeutic agents. *J Clin Invest* 1998;101(4):877-89.
32. Stevenson JL, Choi SH, Varki A. Differential metastasis inhibition by clinically relevant levels of heparins-correlation with selectin inhibition, not antithrombotic activity. *Clin Cancer Res* 2005;11(19 Pt 1):7003-11.

33. Stutzmann J-MM, Mary V, Wahl F, Grosjean-Piot O, Uzan A, Pratt J. Neuroprotective profile of enoxaparin, a low molecular weight heparin, in in vivo models of cerebral ischemia or traumatic brain injury in rats: a review. *CNS Drug Rev* 2002;8(1):1-30.
34. Nagata K, Browne KD, Suto Y, Kumasaka K, Cognetti J, Johnson VE. Early heparin administration after TBI: prolonged cognitive recovery associated with reduced cerebral edema and neutrophil sequestration. *J Trauma Acute Care Surg* 2017;83(3):406-12.
35. Župan Ž, Pilipović K, Dangubić B, Frković V, Štutić A, Župan G. Effects of enoxaparin in the rat hippocampus following traumatic brain injury. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011;35(8):1846-56.
36. Wurm G, Tomancok B, Nussbaumer K, Adelwöhner C, Holl K l. Reduction of ischemic sequelae following spontaneous subarachnoid hemorrhage: a double-blind, randomized comparison of enoxaparin versus placebo. *Clin Neurol Neurosurg*. 2004; 106:97-103.
37. Juvela S, Siironen J, Varis J, Poussa K, Porras M. Risk factors for ischemic lesions following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2005; 102:194-201.
38. Siironen J, Juvela S, Varis J, Porras M, Poussa K, Ilveskero S et al. No effect of enoxaparin on outcome of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Neurosurg*. 2003; 99:953-9.
39. Bruder M, Won SY, Kashefiolasi S, Wagner M, Brawanski N, Dinc N et al. Effect of heparin on secondary brain injury in patients with subarachnoid hemorrhage: An additional 'H' therapy in vasospasm treatment. *J Neurointerv Surg*. 2017 ;9(7):659-63.
40. Baykal C, Al A, Demirtas E, Ayhan A. Comparison of enoxaparin and standard heparin in gynaecologic oncologic surgery: a randomised prospective double-blind clinical study. *Eur J Gynaecol Oncol* 2001; 22:127-30.