Thèse de doctorat

Université de Limoges

Université de Limoges

ED 615- Science Biologiques et Santé (SBS)

XLIM UMR CNRS n°7252

Thèse pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Limoges

Biologie, Médecine et Santé

Présentée et soutenue par

Zoltan Szatmary

Le 7 Décembre 2021

Traitement des anévrismes intracrâniens par des endoprothèses bioactives

Thèse dirigée par

le Professeur Aymeric Rouchaud et le Professeur Charbel Mounayer

JURY :

Président du jury

M. Laurent SPELLE, Professeur des universités, CHU de Bicêtre, Paris

Rapporteurs

M. Jean RAYMOND, Professeur des universités, Montréal, Canada

M. Romain BOURCIER, Professeur des universités, CHU de Nantes

Examinateurs

Mme. Fanny HAUQUIER, Maître de Conférences, CEA-CRNS 3685

M. Charbel MOUNAYER, Professeur des universités, CHU de Limoges

M. Aymeric ROUCHAUD, Professeur des universités, CHU de Limoges

Je dédie ce travail à ma famille, tout particulièrement à la mémoire de ma chère grand-mère maternelle Viniss Katalin qui m'a donné toutes les bases de mon éducation, ma mère pour son amour infini et ses sacrifices extraordinaires et à la mémoire de mon père qui a dédié sa vie à la médecine.

Si vous cherchez la vérité, vous finirez peut-être par trouver du réconfort; si vous recherchez le confort, vous n'obtiendrez ni le confort ni la vérité, seulement du savon doux et des vœux pieux pour commencer, et à la fin, le désespoir.

C.S. Lewis

Remerciements

Je suis grandement reconnaissant à notre Président de jury, **Monsieur le Professeur Laurent Spelle** d'avoir accepté de présider ce jury de thèse. Recevez, Monsieur, mes salutations respectueuses.

Je suis particulièrement ravi que **Monsieur le Professeur Jean Raymond** a accepté d'être membre du jury et rapporteur de ma thèse. Merci à vous qui traversez les océans pour juger ce travail. Je vous prie de croire Monsieur à ma sincère gratitude.

Merci à **Monsieur le Professeur Romain Bourcier**, je suis très honoré que vous ayez accepté d'évaluer mon travail. Je vous prie de recevoir mes sentiments cordiaux.

Je remercie **Madame le Docteur Fanny Hauquier** de participer à mon jury de thèse afin d'y apporter son expertise en chimie. Je te prie de recevoir mes salutations distinguées.

Je remercie **Monsieur le Professeur Charbel Mounayer** de m'avoir accepté dans son équipe, c'est un honneur d'avoir pu faire une thèse de science à Limoges ! Tu me connais depuis le début des années 2000 quand j'étais interne à l'hôpital Lariboisière à l'AP-HP. Ta bienveillance a des effets profonds et indéniable sur mon parcours professionnel. Cher Charbel je te prie de croire l'expression de ma sincère reconnaissance.

Je remercier le **Professeur Aymeric Rouchaud** qui a dirigé ma thèse avec rigueur et dynamisme. Bien qu'il ne soit pas facile de coordonner en période de pandémie un projet d'une telle envergure, ton énergie inlassable et ton optimisme a donné des ailes à cette thèse. Entre toutes tes activités cliniques, recherches et enseignements, tu as toujours trouvé du temps pour faire avancer notre projet avec aisance. J'espère que notre travail ne s'arrête pas là et que nous aurons d'autres projets communs. Un immense merci à toi Cher Ami !

Merci au **Dr. Kevin Janot** avec qui j'ai réalisé les expériences animales. Ta bonne humeur et ta bonne compagnie ont permis de passer des moments agréables ensemble et de réaliser aussi des gestes techniques pendant l'opération des lapins qui ne sont pas si simples à maitriser seul. Merci au **Dr. Jonathan Cortese** pour son aide pour les statistiques.

Ce travail est le fruit de coopération de plusieurs équipes et de plusieurs disciplines !

Merci à l'équipe d'XLIM particulièrement à **Monsieur Jérémy Mounier**. Jérémy tu as joué un rôle capital sur tout le parcours du projet ! Tu as pris soin des animaux avec beaucoup d'attention ! Grâce à ta coordination des différentes étapes des expériences les manips étaient toujours fluides. Tu as même appris à coiler les anévrismes et ceci avec beaucoup de finesse ! La partie d'histologie a posé des défis importants mais avec vigueur petit à petit tu as su surmonter les obstacles ! Ton travail est ta rigueur est appréciée au plus haut degré !

Merci au **Dr Claude Couquet**, vétérinaire responsable de la plate-forme expérimentale, directeur d'EMIS. Ton élégance même en salle de recherche est exemplaire, tes cravates sont toujours assorties du jour, incroyable ! Ta gentillesse infinie, ton approche amicale, ta modestie, ta sincérité, ton expérience des animaux et tes connaissances sont tout simplement extraordinaires ! Affectueusement, Cher Claude, sois assuré de tout mon respect, de ma profonde gratitude et de toute mon amitié.

Merci au **Dr Sylvia Bardet**, Docteur en biologie et maitre de conférences et à Madame le **Professeur Catherine Yardin,** Directrice d'unité de recherche pour leurs efforts concernant les analyses histologiques. Chère Sylvia, ton dévouement a finalement a porté ses fruits tant attendus ! Je te prie d'accepter mes sentiments les meilleurs !

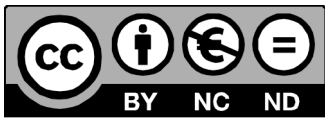
Ce travail n'aurait pas vu le jour sans le travail et les efforts de nos collègues chimistes, le groupe porté par le **Pr Frédéric Chaubet** (Guy Deniau, Fanny Hauquier, Murielle Maire, Rodolphe Migneret, Pierre Guermonprez) du laboratoire INSERM U11 48 et du Laboratoire d'Innovation en Chimie des Surfaces et Nanosciences (LICSEN). Merci aussi au **Dr Jean-Baptiste Michel** de l'unité INSERM U 1148-Laboratory for vascular translational Science- de l'hôpital Bichat qui a une très grande expérience dans la caractérisation et l'utilisation du fucoïdane à visée thérapeutique.

Finalement merci à **ma chère épouse Susan** ! Tu as supporté mes longues absences pendant toutes ces années et les trajets en boucle mensuel entre les pays scandinaves et la France. Nous avons surmonté tant d´obstacles ensemble ! Merci de tout cœur pour ton soutien infaillible et pour tout l'amour et la patience que tu me portes.

Ce projet a bénéficié d'un financement obtenu de la **Fondation pour la Recherche Médicale** en octobre 2018 dans le cadre de l'appel à projet *"Pionniers de la Recherche – Chimie pour la médecine"* pour un montant de **285 000 €.** Référence dossier : DCM20181039543

Droits d’auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :
« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »
disponible en ligne : *http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/*



Résumé

La recanalisation post-coiling des anévrismes intracrâniens est une problématique récurrente dans le domaine de la neuroradiologie interventionnelle qui limite l'efficacité du traitement à long terme. En effet, lors du traitement endovasculaire par coiling d'un anévrisme intracrânien il ne s'agit pas seulement de combler une poche avec du métal. Au-delà de la complexité technique du geste en soi, les phénomènes biologiques induits par le traitement sont à prendre en considération pour obtenir une cicatrisation optimale. Le thrombus induit par les coils implantés dans l'anévrisme est également un substrat essentiel à la cicatrisation des anévrismes après traitement, car il est un support à la recolonisation de l'anévrisme par des cellules mésenchymateuses.

Nous avons étudié dans cette thèse les phénomènes biologiques et les mécanismes histopathologiques de la cicatrisation anévrismale impliqués dans le traitement endovasculaire des anévrismes intracrâniens par coiling. A partir du constat d'un défaut de cicatrisation avec les dispositifs actuels, nous proposons une approche innovante visant à optimiser la cicatrisation des anévrismes par les coils recouverts de fucoïdane. Ce polysaccharide sulfaté est capable d'une part d'interagir avec les facteurs de croissance nécessaires à la cicatrisation et, d'autre part, de favoriser la formation d'un thrombus en se liant à la P-sélectine surexprimée par les plaquettes activées. Les travaux expérimentaux présentés dans cette thèse sont issus d'une collaboration pluridisciplinaire associant chimistes, biologistes et neuroradiologues interventionnels.

Un financement a été obtenu de la Fondation pour la Recherche Médicale en octobre 2018 dans le cadre de l'appel à projet *"Pionniers de la Recherche – Chimie pour la médecine"*.

L'aboutissement de ce travail est la naissance d'un nouveau type de coils biologiquement actifs pour prévenir la recanalisation des anévrismes intracrâniens évalués grâce à des techniques d'imagerie conventionnelle et de microscopie avancée. Les résultats obtenus ont permis de déposer un brevet européen. Ces travaux nécessitent d'être confirmés par de nouvelles expérimentations dans un échantillon plus large d'animaux ainsi que l'analyse in vitro de la relation dose-effet potentielle. L'ensemble de ces travaux ne seront publiés qu'après la période de confidentialité nécessaire à l'évaluation du brevet dont la valorisation est en cours.

Mots clés : Anévrisme, coils, thrombus, cicatrisation, thérapie cellulaire

Summary

Post-coiling recanalization of intracranial aneurysms is a recurrent problem in the field of interventional neuroradiology that limits the effectiveness of long-term treatment. De facto, endovascular treatment by coiling of an intracranial aneurysm is not only a question of filling a bulge with metal. Beyond the technical complexity of the operation itself, the biological phenomena induced by the treatment are to be taken into account in order to obtain optimal healing. Thrombus induced by the coils placed in the aneurysm is also an essential substrate for the healing of aneurysms after treatment, since it is a support for the recolonization of the aneurysm by mesenchymal cells.

In this thesis we studied the biological phenomena and histopathological mechanism of healing involved in the endovascular treatment of intracranial aneurysms by coiling. Based on the observation that aneurysm healing is scarce with current devices, we propose an innovative approach to optimize the healing of aneurysms by fucoidan-coated coils. This sulfated polysaccharide is capable of interacting with growth factors necessary for healing and of promoting thrombus formation by binding to P-selectin overexpressed by activated platelets. The experimental work presented in this thesis is the result of a multidisciplinary collaboration involving chemists, biologists and interventional neuroradiologists.

Funding was received from the **Medical Research Foundation** in October 2018 through a call for projects entitled " *Research Pioneers - Chemistry for Medicine*".

The result of this work is the birth of a new type of biologically active coils to prevent the recanalization of intracranial aneurysms evaluated by conventional imaging and advanced microscopy techniques. The results obtained made it possible to file a European patent. This work needs to be confirmed by further experiments in a larger sample of animals as well as in vitro analysis of the potential dose-response relationship. All this work will only be published after the period of confidentiality necessary for the evaluation of the patent, the exploitation of which is under discussion with industrial partners.

Keywords: Aneurysm, coils, thrombus, wound healing, cell therapy

Table des matières

Remerciements *6*

Droits d'auteurs *9*

Résumé *10*

Liste des tableaux *18*

Liste des abréviations *19*

Introduction *22*

1 Anévrisme artériel intracrânien : définition et épidémiologie *23*

2 Physiopathologie du développement des anévrismes intracrâniens *28*

2.1 Artère intracrânienne normale chez l'homme **28**

2.2 Histologie des anévrismes intracrâniens (AI) **29**

2.3 Facteurs hémodynamiques **30**

2.4 Biologie de la formation de l'anévrisme **33**

2.4.1 Polarisation des macrophages dans les AI 36

2.4.2 Le rôle des métalloprotéinases dans la formation des AI 38

2.5 Remodelage et croissance de l'anévrisme **40**

2.6 Rôle de l'inflammation dans le processus de remodelage **41**

2.7 Génétique des AI **43**

3 Diagnostic des AI *45*

4 Traitement des AI *48*

4.1 Rappel historique **49**

4.2 Évidences cliniques **50**

4.3 Évolution des techniques endovasculaires **51**

4.3.1 L'embolisation d'AI avec des coils à l'aide de ballon de remodeling 51

4.3.2 L'utilisation des stents pour embolisation des AI 52

4.3.3 Stent à diversion de flux (Flow-diverter) 53

4.3.4 Autres dispositifs et orientations futures 54

5 Cicatrisation des AI après traitement endovasculaire par coiling *57*

5.1 Clipping vs. Coiling **57**

5.2 Mécanismes de recanalisation **58**

5.3 Mécanisme histopathologique de la cicatrisation anévrismale après embolisation avec des coils nus chez l'homme **60**

5.4 Comparaison histologique et immuno-histologique entre humain et modèles animaux de la cicatrisation des anévrismes post-embolisation avec des coils nus **62**

5.5 Biologie moléculaire de la cicatrisation des AI **63**

5.5.1 Molécules impliquées dans la cicatrisation d'anévrismes intracrâniens 63

5.5.2 L'activité biologique associée à la cicatrisation des AI 65

5.6 Le rôle de la paroi anévrismale dans la cicatrisation des AI post-coiling 67

5.7 Rôle et implication du collagène dans la cicatrisation des anévrismes 70

6 Les coils bioactifs 72

6.1 Coils modifiés utilisés en pratique clinique 74

6.1.1 Coïls contenant de l'acide polyglycolique polylactique (PGPLA) 75

6.1.2 Hydrocoils 77

6.2 Matériels d'embolisation en développement 79

6.2.1 Thérapie cellulaire 79

6.2.2 Protéines, Facteurs de Croissance, Nanoparticules 83

6.2.3 Modifications des coils à base de polymères 87

7 Résumé des options biologiques actuelles pour l'optimisation biologique du traitement par coils. 90

8 Modèles précliniques d'AI 99

8.1 Modèle interventionnel d'anévrisme sacciforme chez le lapin 101

8.1.1 Possibles complications lors de la création d'anévrismes chez le lapin 103

9 Polysaccharides marins 104

9.1 Le fucoïdane 105

9.1.1 Extraction du fucoïdane 109

9.1.2 Applications médicales des fucoïdanes 110

9.1.3 Inflammation et effet immuno-modulateur du fucoïdane 111

9.1.4 Angiogenèse, cicatrisation et fucoïdane 113

10 Méthodologie 116

11 Protocole de recherche 120

11.1 Création des anévrismes 120

11.2 Traitement des anévrismes par voie endovasculaire 121

11.3 Artériographie de contrôle 122

11.4 Pathologie 122

12 État des lieux 126

12.1 Structure globale du projet 126

12.2 Préparation des coils 127

12.2.1 Fonctionnalisation des polysaccarides 128

12.2.2 Greffage du produit méthacrylé 129

12.2.3 Caractérisation 131

12.2.4 GraftFast sur coil 132

12.2.5 Conclusions sur la modification des prothèses 133

12.3 Imagerie multiphotonique 134

12.4 Nouvelle classification histologique intégrant la microscopie multiphotonique 138

13 Résultats 141

13.1.1 Résultats angiographiques 141

13.1.2 Résultats histologiques 143

14 Discussion de l'étude in vivo 150

15 Valorisation et dépôt de brevet 159

16 Conclusion et perspectives 160

18 Références bibliographiques..... 161
19 Annexes 189

Table des illustrations

Figure 1. La vascularisation intracrânienne. 23
Figure 2. Dessin schématique du polygone de Willis 24
Figure 3. Illustration d'artère intracrânienne normale et pathologique chez l'homme 29
Figure 4. Computational fluid dynamics (CFD) 31
Figure 5. Modèle conceptuel proposé aux mécanismes de formation, de progression et de rupture de l'AI 33
Figure 6. Modèle théorique de WSS et la formation d'AI 35
Figure 7. Résumé hypothétique des médiateurs et des cellules immunitaires impliqués dans la polarisation M1/M2 des macrophages. 37
Figure 8. Illustration conceptuelle de MMP et formation d'AI 38
Figure 9. Neuroimagerie d'AI rompu 47
Figure 10. Occlusion par voie endovasculaire d'un AI par des coils GDC 48
Figure 11. Technique de remodeling 52
Figure 12.Technique de stenting 53
Figure 13. Traitement par flow diverter 54
Figure 14. Dispositif WEB placé dans un anévrisme. 55
Figure 15. Cicatrisation d'un AI post coiling. 57
Figure 16. Guérison des anévrismes après clipping vs. coiling. 58
Figure 23. Cicatrisation des anévrismes coilés 61
Figure 18.Voie hypothétique par laquelle MCP-1, MIP-1, et MIP-2 interagissent dans la cascade de cicatrisation du tissu inflammatoire. 68
Figure 19. Illustration schématique comparant la guérison après coiling d'un AI 69
Figure 20. Métaux utilisés pour la fabrication des coils 72
Figure 21. Structure d'un coil hélicoïdale 73
Figure 22. Coïl nu vs avec revêtement en fibre 75
Figure 23. Coïl Cerecyte 76
Figure 24. Hydrocoils de 1ère et 2ème génération 78
Figure 25. Traitement endovasculaire à l'aide de microparticules magnétiques. 87
Figure 26. Mousse SPM 88
Figure 27. Différentes stratégies de modification de surface dans le développement des coils 90
Figure 28. Illustration des différentes techniques d'induction du modèle d'anévrisme chez les gros animaux 100
Figure 29. Polysaccharides marins 104
Figure 30. Formule de L-fucose 105
Figure 31. Structures fucoïdanes 106
Figure 32. Résumé des différents facteurs affectant le comportement biologique des fucoïdanes. 107
Figure 33. Algues Fucales 108
Figure 34. Applications biomédicales proposées du fucoïdane 111
Figure 35. Mécanismes putatifs de l'activité anti-inflammatoire du fucoïdane 112
Figure 36. Classification Raymond-Roy modifiée (MRRC). 117
Figure 37. Modèle d'anévrisme d'élastase de lapin. 121
Figure 38. Schéma global du projet 127
Figure 39. Structure schématique de Ascophyscient 128
Figure 40. Amination réductrice du fucoïdane 129

Figure 41. Méthacrylation du fucoïdane aminé 129
Figure 42. Le principe du greffage 130
Figure 43. Techniques utilisées pour le coating de fucoïdane sur une surface de platine 130
Figure 44. Cartographie élémentaire par EDS de O, Pt, C et S sur GF 19-21 et EC 15-18 .. 132
Figure 45. Microscope électronique de balayage (MEB) et Cartographie EDS des coils fonctionalisés 133
Figure 46. Imagerie de coils nu et coils biologiquement modifié en microscopie multiphoton à 810 nm d'excitation 135
Figure 47. Images comparatives en microscopie optique en coloration HES et microscopie multiphotonique pour l'échantillon N□158..... 136
Figure 48. Images comparatives en microscopie optique en coloration HES et microscopie multiphotonique pour l'échantillon N□25..... 137
Figure 49. Nouvelle classification histologique basée sur microscopie multiphotonique dans un modèle d'anévrisme à l'élastase chez le lapin 140
Figure 50. Séquences d'angiographie à trois temps..... 141
Figure 51. Imagerie de la cicatrisation de l'échantillon N□30 par la génération de second harmonique (SHG) en microscopie multiphotonique sur lame histologique..... 144
Figure 52. L'analyse de la quantité de collagène (%) par SHG montre une répartition hétérogène selon les différents groupes de coils..... 146
Figure 53. Index histologique de la cicatrisation des anévrismes selon le type de coil et la zone anévrismale 147
Figure 54. Index d'organisation des fibres de collagène SHG+ selon le type de coil et la zone anévrismale 148
Figure 55. Exemple d'histogrammes d'orientation des fibres de collagène selon le type de coil 149
Figure 56. Discordance angiographique et histologique- Artériographie du lapin N°160 151
Figure 57. Artériographie du lapin N°20 154

Liste des tableaux

Tableau I. Résumé de la littérature sur la prévalence et facteurs de risque des d'AI non rompu 27
Tableau II. Résumé du rôle des médiateurs inflammatoires dans la croissance et la rupture de l'anévrisme 42
Tableau III. Échelle de classement histologique pour les anévrismes sacculaires induits à l'élastase. 66
Tableau IV. Comparaison descriptive des données de la coagulation obtenues par NATEM chez l'homme, le porc, le mouton, le lapin et le chien 102
Tableau V. Polysaccharides utilisés pour les réactions 128
Tableau VI. Groupe fucoïdane 142
Tableau VII. Groupe dextrane 142
Tableau VIII. Groupe coils nus 142
Tableau IX. Résultats angiographiques 143

Liste des abréviations

ACI	Artère carotide interne
AcommAnt	Artère communicante antérieure
AcommPost	Artère communicante postérieure
AI	Anévrisme intracrânien
ARM	Angiographie par résonance magnétique
ATS	Artère temporale superficielle
AVC	Accidents vasculaire cérébral
bFGF	Basic Fibroblast Growth Factor
CAM	Cell adhesion molecule
CCA	Artère carotide commune
CE	Couche endothéliale
CFD	Computational fluid dynamics
CML	Cellule musculaire lisse
COX2	Cyclooxygénase 2
CPE	Cellules Progénitrice Endothéliale
CSH	Cellules souches hématopoïétiques
CSM	Cellules Souches Mésenchymateuses
CRP	C réactive protéine
CTA	Computed Tomography Angiography (angio-scanner)
DPC	Densité de packing des coils
DSA	Digital Substracted Angiography
FITC	Isothiocyanate de fluorescéine
GWAS	Genom-wide association studies (étude d'association pangénomique)
EDS	Energy Dispersive X-ray spectroscopy
eNOS	Endothelial nitric oxide synthetase
GDC	Guglielmi detachable coil
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony stimulating factor
HE	Hématoxyline et éosine
HMWF	High molecular weight fucoidan

HSA	Hémorragie sous-arachnoïdienne
HTA	Hypertension artérielle
HSA	Hémorragie sous-arachnoïdienne
ICAM	Intercellular adhesion molecule
IL	Interleukin
IRM	Imagerie par résonance magnétique
LEI	Limitante élastique interne
LMWF	Low molecular weight fucoidan
MEC	Matrice extracellulaire
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein 1
MSDF	Modélisation et simulation dynamique des flux
MMP	Matrix metalloproteinase
MMWF	Medium molecular weight fucoidan
MOPD II	Majewski Osteodysplastic Primordial Dwarfism, Type II
NATEM	Non-activated thromboelastometry
NFkB	Nuclear factor kappa b
NK	Natural killer
NO	Oxyde nitrique
OCT	Optical Coherence Tomography
OPO	Oscillateur paramétrique optique
OR	Odd ratio- risque relatif rapproché
PBS	Phosphate buffer saline- Tampon phosphate
PDGF-B	Platelet derived growth factor B
PGA	Poliglicolic acid
PGE	Prostaglandin E
PGE2	Prostaglandine E2
PGD	Prostaglandin D
PGPLA	Polyglicolic polylactic acid
PL	Ponction lombaire
RMN	Résonance magnétique nucléaire
ROS	Reactive oxygen species
SDF-1α	Stromal cell-Derived Factor-1α
SHG	Second harmonic generation
SMP	Shape memory polymer

TE	Traitement endovasculaire
TGF- ß	Transforming growth factor-ß
TIMP	Tissue inhibitor of mettaloproteinase
TLR	Toll-like receptor
TNF	Tumor necrosis factor
TPE	Two photon excitation
3D	Tridimensionnelles
UIATS	Unruptured Intracranial Anerysm Treatment Score
VCAM	Vascular cell adhesion molecule
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VSMC	Vascular smooth muscle cell.
WHE	Water hammer effect
WP	Wall pressure
WSS	Wall shear stress
WSSG	Wall shear stress gradient
WT	Wall tension
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy

Introduction

Ces travaux de recherche clinique et expérimentale ont été réalisés au sein de la plateforme de recherche EMIS du CHU de Limoges https://emis-research.com en partenariat avec le laboratoire CNRS XLIM UMR 7252 https://www.xlim.fr.

Ce travail a pour objectifs de mieux comprendre les mécanismes biologiques impliqués dans le succès ou l'échec du traitement endovasculaire par coiling des anévrismes intracrâniens.

Nous discuterons successivement l'état actuel des connaissances concernant la physiopathologie, le diagnostic et le traitement des anévrismes intracrâniens. Nous détaillerons ensuite les mécanismes biologiques impliqués dans la cicatrisation des anévrismes traités par coiling.

Nous présenterons les différentes stratégies développées dans la littérature pour l'optimisation du traitement des anévrismes notamment les coils bioactifs et les matériaux d'embolisation en développement, leur efficacité et leurs limites et des options visant à leur optimisation.

Enfin, nous proposons une nouvelle approche d'optimisation biologique pour le traitement endovasculaire des anévrismes intracrâniens : la thérapie endovasculaire par coils recouverts de fucoïdane.

1 Anévrisme artériel intracrânien : définition et épidémiologie

L'anévrisme intracrânien (AI) est défini par une dilatation focale, anormale et permanente de la paroi d'une artère intracrânienne. Ces lésions vasculaires sont uniques ou multiples. Deux grands types de lésions se différencient sur le plan morphologique : les anévrismes sacciformes et les anévrismes fusiformes. Les anévrismes sacciformes représentent 85 % des cas des AI. Ils se distinguent par une portion dilatée appelée le sac qui est en communication avec l'artère porteuse via le collet anévrismal qui en général une portion plus étroite que le sac. Dans 15 % des cas les AI sont fusiformes avec une dilatation globale du segment artériel plus ou moins symétrique. Les anévrismes fusiformes sont plutôt prédominants sur la circulation postérieure ou le segment M1 de l'artère cérébrale moyenne et sont généralement d'origine athéromateuse.(1)

Les anévrismes sacciformes classiques sont plus courants sur la circulation antérieure représentant 92 % des cas contre seulement 8 % des cas sur la circulation postérieure. La nomenclature topographique des anévrismes est basée sur la distribution anatomique de l'artère porteuse.(2) (**Figure 1**).

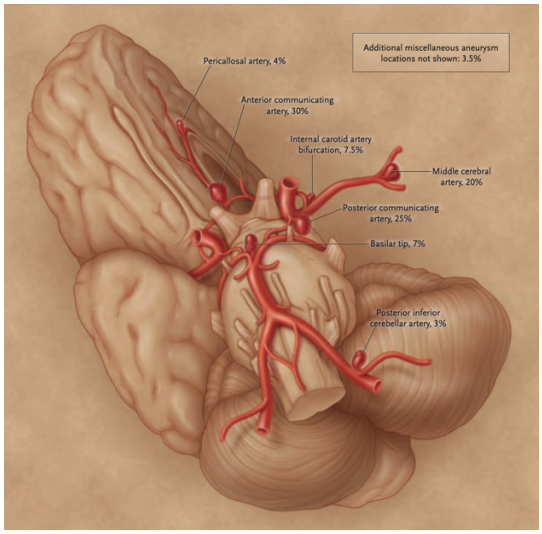


Figure 1. La vascularisation intracrânienne.

Les sites anatomiques préférentiels des anévrismes cérébraux sont indiqués avec les pourcentages concernés. Artère cérébelleuse postéro-inférieure (PICA) : 3% ; Terminaison basilaire 7% ; Artère communicante postérieure :25% ; Artère cérébrale moyenne :20% ; Terminaison carotidienne 7,5%, Artère communicante antérieure :30% ; Artère péricalleuse : 4% Statistique basée sur la fréquence des AI non rompus issue de séries d'autopsie. Image issue de Brisman et al. (3)

Les anévrismes sacciformes se développent préférentiellement aux bifurcations des artères du polygone de Willis. En fonction de leur site anatomique, les anévrismes peuvent également être classés selon leur localisation sur une artère conductrice, un embranchement primaire, secondaire ou tertiaire **(Figure 2)**.

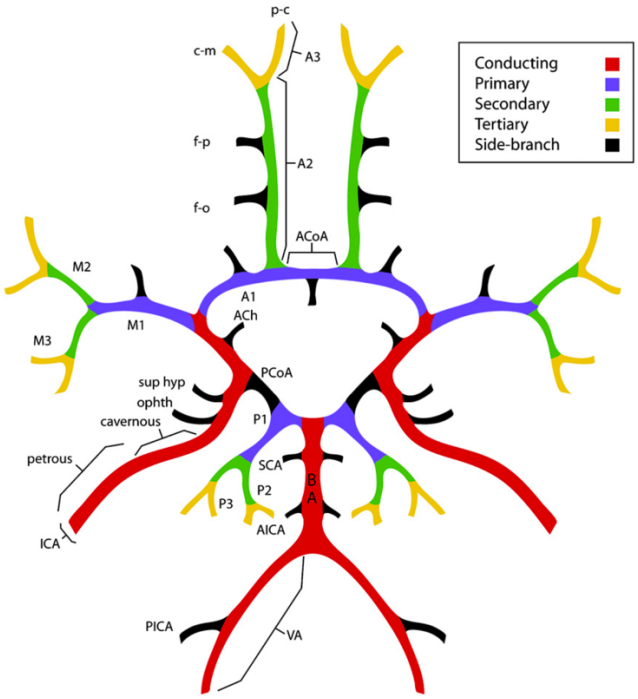


Figure 2. Dessin schématique du polygone de Willis

Les artères principales et leurs subdivisions respectives sont visualisées. Les vaisseaux conducteurs (rouge), primaires (bleu), secondaires (vert), tertiaires (jaune) et les branches collatérales (noir) sont codés en couleurs pour illustrer les vaisseaux comparables, peu importe leurs emplacements si c'est la circulation antérieure ou la circulation postérieure. Image issue de Pritz et al.(1)

La propriété commune des anévrismes est leur fragilité pariétale qui peut les conduire à croître au fil du temps voire à se rompre, responsable d'une hémorragie intracrânienne, entrainant des taux de morbidité et de mortalité importants.

Les anévrismes intracrâniens sont des lésions fréquentes, les études d'autopsie rapportent une prévalence de 1 à 5 % dans la population adulte avec environ 10-12 millions de personnes touchées aux États-Unis.(4) Les données des études autopsiques varient selon les séries et la population évaluée. (**Figure 1**). Les études d'angiographie de dépistage montrent une prévalence entre 1,8-8,8% et 3,2 % selon les résultats de méta-analyses. (**Tableau 1**) (5-7) Tous les anévrismes ne sont pas responsables d'hémorragie intracrânienne, Connolly et al. estime que 50 à 80 % des anévrismes ne présenteront pas de rupture au cours de la vie d'une personne. Cette estimation est basée sur la différence entre la prévalence moyenne dans une

population et le nombre de ruptures d'anévrisme évalué sur un échantillon de cent mille habitants. (8) Même si beaucoup d'AI restent asymptomatiques ces chiffres sont discutables et difficiles à confirmer puisqu'il faut prendre en considération que les données sur la prévalence et le risque de rupture varient considérablement en fonction du design de l'étude, de la population étudiée et des caractéristiques des anévrismes.(9) L'hémorragie méningée ou sous-arachnoïdienne (HSA) non traumatique, le plus souvent due à la rupture d'anévrisme sacculaire représente 3 % de l'ensemble des accidents vasculaires cérébraux (AVC).(10, 11) L'incidence globale est d'environ 9 pour 100 000 habitants, et peut aller jusqu'à 20 pour 100 000 habitants dans certains pays.(12) En France, il y a environ 6 000 nouveaux cas de ruptures d'AI par an. L'hémorragie méningée est plus courante chez les femmes que chez les hommes (ratio 2 :1) avec une incidence maximale entre 55 et 60 ans.(3)

Les taux de mortalité pré-hospitalier à 30 jours demeurent élevés (15 % et 35 % respectivement).(13, 14) La survenue à un jeune âge et le pronostic sombre de ces accidents avec un taux de mortalité toujours élevé et un handicap neurologique chez 40-50 % des survivants, ont des répercussions sévères en termes de santé publique.(15)

La plus grande méta-analyse sur le risque de rupture d'AI non rompu réalisée à ce jour comprenait six études de cohortes incluant 8 382 patients avec 10 272 anévrismes. L'étude a identifié six facteurs de risque indépendants pour la rupture d'AI: âge supérieur à 70 ans, antécédent d'hypertension artérielle (HTA), rupture antérieure d'un autre anévrisme intracrânien (AI), taille et localisation anatomique de l'anévrisme, origine géographique du patient.(16) Le score PHASES développé pour la prédiction du risque de rupture d'anévrisme est basé sur ces 6 facteurs de risque clés et fournit des estimations absolues pour le risque de rupture à 5 ans qui varie de 0.3 % à 15 %.(17) Bien que le score PHASES soit utilisé en pratique clinique, il présente des limites pour la prédiction de la rupture des AI, car ce modèle pronostique n'a pas encore été validé et demeure sujet à débat.(18-21) Certains facteurs de risque établis qui contribuent aussi à la rupture des AI n'ont pas été inclus dans l'ensemble des données de PHASES, par exemple les patients avec des anévrismes familiaux ou et les jeunes fumeurs étaient sous représentés dans l'étude, de ce fait, le score PHASES ne s'applique pas à tout le monde. La durée de suivi dans l'étude limité à cinq ans ne représente pas la réalité puisque beaucoup de patients ont une espérance de vie bien au-delà. De plus, le score PHASES prédit le risque de rupture mais n'inclut pas sur le risque de traitement qui doit également être pris en compte et mis en balance avec le risque naturel afin de proposer une prise en charge.

Pour répondre à ces incertitudes, le modèle de l'UIATS (Unruptured Intracranial Anerysm Treatment Score) a été conçu qui inclut et quantifie les facteurs clés impliqués dans la prise de décision clinique dans la gestion des AI non rompus pour harmoniser potentiellement le niveau élevé de variation chez les cliniciens quant à la prise en charge individuelle des patients atteints d'AI non rompu.(22) Les études sur UIATS les plus récentes suggèrent une sensibilité basse pour détecter une risque de rupture d'anévrisme.(23) Dans l'étude de Rutledge et al. chez les patients âgés de plus de 65 ans la sensibilité de UIATS était significativement plus faible pour prédire le risque de rupture des AI. Le modèle UIATS peut ainsi conduire à un sous-traitement des patients âgés à risque d'HSA.(24) Pour ces raisons, il est nécessaire d'intégrer avec prudences les scores PHASES et UIATS pour la prise de décision individuelle des patients porteurs d'AI non rompu.(25) Il existe également d'autres scores, cependant, la précision de ces scores dans la prédiction de rupture d'anévrisme est encore faible, et il est difficile de les utiliser en pratique clinique.(26, 27)

Un essai clinique randomisé ou un examen comparatif de l'efficacité peut être le seul moyen d'évaluer pleinement les risques de rupture d'AI non traités, mais il est peu probable que les patients et les médecins tolèrent ou acceptent un tel essai.(28) Les critères de pronostic de rupture d'anévrismes ont une fonctionnalité limitée car il s'agit soit d'indicateurs démographiques, soit de caractéristiques physiques de l'anévrisme, soit de facteurs de risque vasculaire qui peuvent être prévalents chez un grand groupe de patients, tels que l'hypertension. L'histoire naturelle d'un AI non rompu doit être évaluée et pris en charge individuellement pour chaque cas, car il y a un certain nombre de facteurs qui modifient les taux de rupture prévus. Il est également important que ces facteurs de risque soient traités, le cas échéant.(29, 30)

Author (y)	Total number	Study cohort	Prevalence	Risk factor	Modality	Country
Kim et al. (2021)[4]	2,118	Single center (health check)	3.8%	Female, hypertension	TOF MRA (3T)	Korea
Cras et al. (2020)[5]	5,841	Population-based	2.3%	Female, hypertension, smoking	TOF MRA (1.5T)	Netherland
Imaizumi et al. (2018)[6]	4,032	Single center (health check)	4.32%	Female, older age	TOF MRA (3T)	Japan
Li et al. (2014)[7]	3,993	Single center (patients)	8.8%	Female, older age	CE MRA (1.5T)	China
Park et al. (2014)[8]	18,237	Single center (health check & patients)	1.8%	Female, older female	TOF MRA (1.5T)	Korea
Li et al. (2013)[9]	4,813	Community-based cross sectional survey	7.0%	Female, older age	TOF MRA (3T)	China
Vlak et al. (2011)[10]	94,912	Systematic review and meta-analysis	3.2%	Female, older age, ADPKD, family history of SAH, pituitary adenoma, atherosclerosis, Japan, Finland	CTA, MRA, DSA	21 countries
Jeon et al. (2011)[11]	3,049	Single center (patients)	5%	Female	TOF MRA (3T)	Korea
Iwamoto et al. (1999)[12]	1,230	Community-based (30 years)	4.6%	Female	Autopsy	Japan
Ujiie et al. (1993)[13]	1,612		2.7%	Older female	DSA	Japan

Tableau I. Résumé de la littérature sur la prévalence et facteurs de risque des d'AI non rompu

TOF, time-of-flight; MRA, magnetic resonance angiography; 3T, 3-tesla; 1.5T, 1.5-tesla; CE, contrast enhanced; CTA, computed tomography angiography; DSA, digital subtraction angiography; ADPKD, autosomal dominant polycystic kidney disease; SAH, subarachnoid hemorrhage. (7)

2 Physiopathologie du développement des anévrismes intracrâniens

Bien que les mécanismes déclenchant la pathogenèse des anévrismes intracrâniens n'aient pas été entièrement élucidés, différents mécanismes ont été proposés allant des mécanismes hémodynamiques aux prédispositions génétiques. Un mécanisme qui a été étudié est le remodelage vasculaire physiologique et pathologique qui se produit en conjonction avec des réactions inflammatoires ayant pour résultat l'initiation et la progression d'un anévrisme. Les stimuli hémodynamiques et l'inflammation vasculaire peuvent tous deux déclencher une série de réactions biochimiques provoquant l'initiation et le développement des anévrismes intracrâniens.

On considère que les anévrismes intracrâniens sont des lésions acquises et sporadiques, bien que des formes familiales rares ont été décrites.(4) Le développement de l'AI sacciformes chez l'homme est divisé en trois étapes : l'**initiation**, la **croissance** et la **rupture**. La pathophysiologie sous-jacente n'est pas complètement élucidée, mais le flux anormal et l'inflammation locale ont été évoqués comme des facteurs potentiels dans l'initiation du processus. Le fait que la majorité des AI ne se rompent pas pendant leur suivi fait suggérer qu'il existe un remodelage adaptatif apte à stabiliser dans la majorité des cas la paroi artérielle et assurer une solidité suffisante pour résister au stress mécanique imposé sur la paroi de l'anévrisme par la pression du flux artériel.(31, 32)

2.1 Artère intracrânienne normale chez l'homme

La paroi d'une artère intracrânienne normale est constituée par *l'intima* avec une monocouche de cellules endothéliales (CE) sous laquelle se trouve la lame basale composée de protéines matricielles. La limitante élastique interne (LEI) est une membrane de fibres élastiques qui sépare l'intima de la media. La *media* est composée de cellules musculaires lisses (CML), de fibres élastiques et de fibres de collagène. L'*adventice,* la couche la plus externe est composée de collagène de type I, d'élastine, de fibroblastes, de nerfs et de *vasa vasorum*. Cette adventice est très mince dans les artères intracrâniennes. Il n'y a pas de limitante élastique externe dans les artères intracrâniennes **(Figure 3 i)**. (33)

Les CML participent à la production de la matrice extracellulaire (MEC) ainsi qu'à sa régulation. La MEC est constituée de diverses sortes de fibres de collagène et de protéines telles

que la fibrilline, l'élastine, des protéoglycanes et des glycoprotéines.(34) Au niveau des bifurcations des vaisseaux, il a été démontré que les parties apicales des artères intracrâniennes n'ont pas de CML, avec présence d'une fente dans la couche de la média qui est remplacée par des fibres organisées comme du tendon (appelé "medial raphe") .(35, 36)

Les parois des artères cérébrales sont structurellement différentes de celles des artères extracrâniennes, étant donné qu'elles ont une adventice clairsemée et une proportion plus faible de fibres élastiques. De plus, les artères cérébrales sont situées dans l'espace sous-arachnoïdien et sont donc entourées de liquide céphalo-rachidien plutôt que du tissu conjonctif.(17)

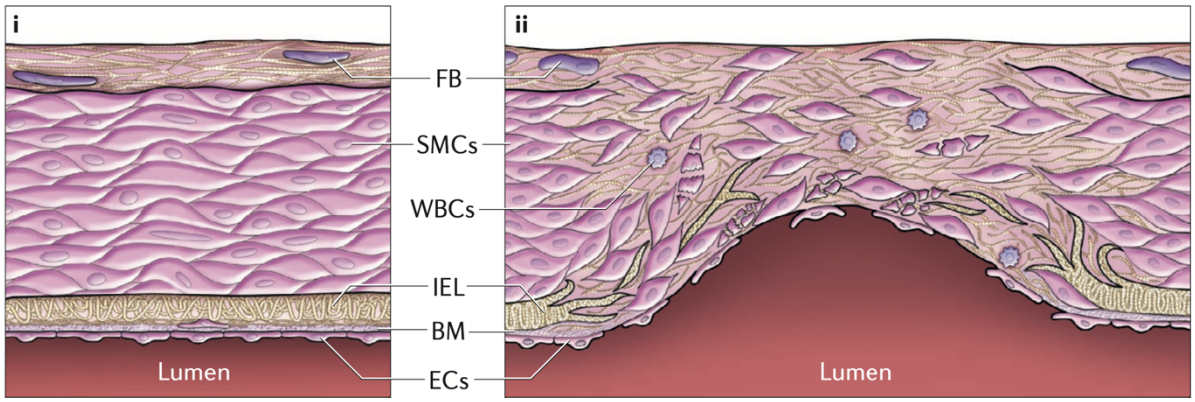


Figure 3. Illustration d'artère intracrânienne normale et pathologique chez l'homme

(i). Structure histologique d'une artère intracrânienne normale (ii). Modèle hypothétique conduisant à la progression de l'artère vers l'anévrisme avec disparition de la LEI et changements structurels de la média. Image issue de Etminan et al.(17)
EC : endothelial cells; BM : basement membrane; IEL : internal elastic lamina ; WBCs : white blood cells; SMCs: smooth muscle cells; FB: fibroblasts

2.2 Histologie des anévrismes intracrâniens (AI)

Selon l'hypothèse inflammatoire, la première étape de la formation des AI est la dysfonction endothéliale qui peut résulter du tabagisme, de l'hypertension, de la dysrégulation de la dynamique du flux local et de facteurs non modifiables, y compris la génétique.(37) Le stress oxydatif a été mise en cause comme une source déterminante de lésions endothéliales et entraîne l'accumulation de radicaux libres en raison d'une production accrue et/ou d'une diminution de l'élimination.(38) L'étape suivante impliquerait une réponse "inflammatoire" coordonnée, engageant les macrophages, les mastocytes, les lymphocytes T et un certain nombre de cytokines et de médiateurs inflammatoires. Cette réponse inflammatoire entraînerait la modulation phénotypique des CML vasculaires, qui sont les principales cellules de synthèse de la matrice dans la paroi artérielle.(39) Ces CML vasculaires induiraient une perturbation et

l'interruption de la LEI et provoqueraient une dérégulation de la synthèse de collagène et un remodelage de la matrice extracellulaire **(Figure 3 ii)**.(39) Les étapes tardives de la biologie de la croissance de l'AI impliqueraient une apoptose des CML vasculaires, ce qui entraînerait un amincissement supplémentaire de la média et un risque accru de rupture.(40)

Frösen et al. avaient étudié la paroi anévrismale chez 66 patients qui ont étaient clippés de leurs AI rompus ou non rompus et ils ont identifié que ce n'était pas seulement les anévrismes à paroi hypocellulaire qui présentaient un risque de se rompre, mais aussi les anévrismes à paroi épaissie avec des CML désorganisées et les anévrismes avec paroi endothélialisée avec des CML linéairement organisées. Les anévrismes à paroi hypocellulaire sur les prélèvements histologiques se présentaient avec hyperplasie myointimale ou thrombose endoluminale organisée ou avec une très fine couche de thrombose.(41) Avant rupture, la paroi de l'AI sacculaire subit des modifications morphologiques associées au remodelage de la paroi de l'anévrisme. Certains de ces changements, comme la prolifération des CML et l'infiltration des macrophages, reflètent probablement des tentatives de réparation de la paroi anévrismale complexe mal élucidée encore aujourd'hui.

2.3 Facteurs hémodynamiques

Il est présumé que la phase d'initiation d'un anévrisme serait la répercussion du stress hémodynamique sur une artère qui est déjà prédisposée à la formation d'anévrisme.(42) Cette prédisposition peut être influencée par une combinaison de facteurs génétiques, physiologiques et environnementaux.(43) Les AI se forment en général dans les bifurcations artérielles, zones de modification du flux sanguin laminaire dans ces zones et sites de lésions intimales. Le flux sanguin exerce une pression et une contrainte de cisaillement sur la paroi appelée *Wall Shear Stress* (WSS) sur les cellules endothéliales bordant les lumens des vaisseaux.(44) Le WSS est une force de friction provenant du flux sanguin tangentiel à la lumière artérielle. La fonction endothéliale est régulée par le WSS normal (1,5-2,5 Pa).(45) La pression pariétale *Wall Pressure* (WP) est l'énergie cinétique du sang transférée en tant que force inertielle perpendiculaire à la surface du vaisseau. La tension pariétale *Wall Tension* (WT) est la force exercée par la paroi dans une amplitude égale et une direction opposée à WP. Selon l'hypothèse hémodynamique, lorsque la WT requise est supérieure à la résistance de traction de la paroi du vaisseau, l'anévrisme pourrait se rompre. Le WSS peut augmenter ou diminuer en fonction de

la vitesse et de la viscosité du sang **(Figure 4)**. Lorsque la vitesse du flux sanguin augmente ou diminue, en fonction du débit sanguin, un gradient de WSS (gradient WSS [WSSG]) est alors créé.(46) L'accélération du débit crée un WSSG positif, tandis que la décélération crée un WSSG négatif.

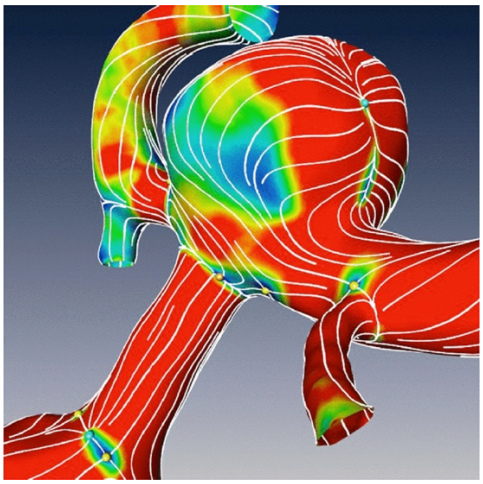


Figure 4. Computational fluid dynamics (CFD)

Modélisation de dynamique du flux sanguin dans un anévrisme cérébral. La distribution de la pression est codée en couleurs avec des lignes de flux WSS, montrant le comportement de flux global et les détails topologiques locaux. Image issue de Soldozy et al.(42)

Les profils de flux observés sur les tissus de la paroi de l'anévrisme sont complexes et peuvent évoluer au cours de l'histoire de l'anévrisme. La façon dont le facteur hémodynamique du WSS de la paroi influe sur l'histoire naturelle d'un anévrisme fait l'objet de débats et les données sont discordantes à ce sujet. Jou et al. ont revu rétrospectivement 26 anévrismes humains par modélisation et simulation dynamique des flux (MSDF) sur des angiographies tridimensionnelles (3D) pour étudier la distribution de WSS. La valeur maximale de WSS pour les anévrismes rompus et non rompus ne montrait pas de différence significative. Les anévrismes rompus avaient plus fréquemment un WSS bas (27% vs 11% pour les anévrismes non rompus). Même si la différence de WSS bas était statistiquement significative entre les deux groupes, elle semble être marginale pour expliquer à elle seule la causalité en faveur la rupture. (47) Xiang et all. ont fait une analyse par MSDF de 119 AI humains reconstruits à partir d'angiographie cérébrale 3D. Parmi les facteurs hémodynamiques étudiés, le WSS faible et la force de friction causée par le sang ont été mis en corrélation avec la croissance et la rupture des AI. (48) Cependant, cette étude présente plusieurs limites notamment plusieurs modalités d'évaluation ont été utilisées simultanément pouvant biaiser l'interprétation des résultats. Une

autre limite concerne le caractère rétrospectif de l'étude. En effet, un anévrisme rompu peut changer de forme avec un risque de modifier les mesures de flux. De plus, le choix de 10% du WSS de l'artère porteuse comme seuil pour un WSS faible était arbitraire.

Les changements de WSS pourraient également jouer un rôle dans la transformation de la paroi. Doddasomayajula et al., à partir d'angiographies cérébrales 3D, ont comparé des anévrismes multiples ipsilatéraux dont 1 rompu et 1 ou plusieurs non rompus sur la même artère. Au total 144 patients ont été inclus dans ce groupe avec 58 anévrismes rompus et 86 non rompus. L'autre groupe était constitué de 48 anévrismes (24 paires) en miroir chez des patients avec anévrismes rompus d'un côté mais pas l'autre. Des études cas-témoins ont été réalisées pour les anévrismes en miroir et ipsilatéraux. Des variations élevées de WSS ont été mises en association à la rupture aussi bien pour les AI en miroir qu'ipsilatéral. Ces anévrismes rompus présentaient un WSS maximal et minimal plus élevé que leurs homologues non rompus.(49) Cette étude présente également des limites, notamment concernant les hypothèses des conditions d'écoulement, des parois rigides et de la viscosité newtonienne alors que l'utilisation des lois physiques simplifiées peut aboutir à des résultats erronés. Selon les concepts actuels, les lois non newtoniennes seraient plus adaptées à étudier la viscosité de sang.(50)

Le choix de WWS comme variable discriminante pour lier le débit sanguin (c'est-à-dire l'hémodynamique) à la réponse cellulaire, donc aux changements physiologiques des vaisseaux sanguins, est un choix arbitraire qui ne repose pas sur des arguments robustes. Le WSS est insuffisant pour justifier la réponse des CE à la directionnalité des flux et aux conditions locales de flux turbulents et transitionnels.

La prochaine génération de modèles de MSDF des AI doit viser les objectifs suivants :

- Capturer plus de physique sous-jacente à l' hémodynamique des AI .
- Fournir des paramètres significatifs pour distinguer l'interaction pathobiologie-hémodynamique dans la genèse, la croissance et la rupture de l'AI
- Guider des études de mécanotransduction de CE en fournissant des descriptions quantitatives et qualitatives détaillées du flux qui peuvent être utilisées pour retracer les facteurs biologiques influençant les AI.(51)

2.4 Biologie de la formation de l'anévrisme

Tous les composants de la paroi de l'artère ont des fonctions spécifiques. La résistance à l'étirement mécanique ou le maintien de l'intégrité structurelle sont presque entièrement dus aux fibres élastiques et fibres collagènes de la média et de l'adventice.(52, 53) Le degré de tortuosité des fibres de collagène dans la média et l'adventice détermine la capacité de l'artère à se dilater et à résister à l'étirement excessif. La rupture de la LEI est caractéristique des anévrismes et impose une plus grande contrainte sur les fibres de collagène, responsable d'une diminution de la tortuosité des fibres de collagène et d'une limitation de la capacité de l'artère à se dilater. En effet, les fibres de collagène sont relativement rigides par rapport à l'élastine. L'évolution de la taille anévrismale, qui peut atteindre plusieurs fois la taille de l'artère porteuse, nécessite le remodelage des fibres de collagène dans la paroi de l'anévrisme. Puisque le collagène est la structure portante principale de la paroi artérielle une fois que la lame élastique interne a disparu, le résultat final du remodelage de collagène déterminera la force de la paroi anévrismale et donc aussi les conditions qui pourraient entraîner la rupture.(32) **(Figure 5)**.

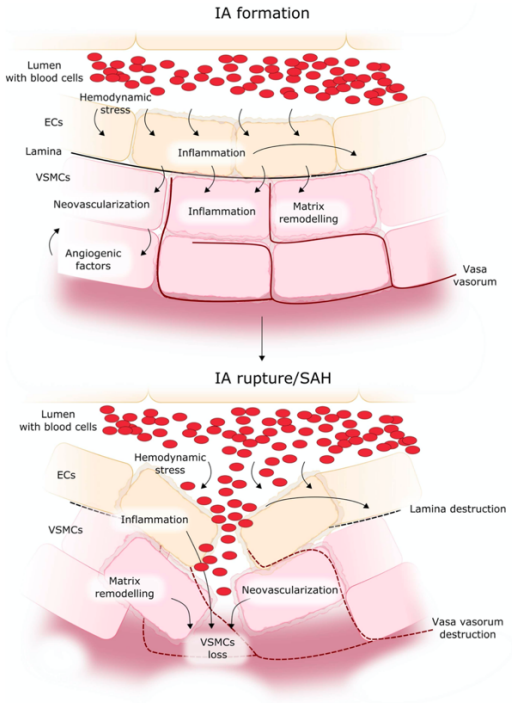


Figure 5. Modèle conceptuel proposé aux mécanismes de formation, de progression et de rupture de l'AI

Le stress hémodynamique dans une artère stimulerait l'inflammation des CE, ce qui favoriserait la dégradation de la LEI et provoquerait des changements dans les CML, y compris l'inflammation, la néovascularisation et le remodelage de la matrice, qui ensemble modifieraient les propriétés de la paroi de l'artère. Une inflammation permanente entraînerait la dégénérescence des CML, ce qui générerait l'amincissement des couches de CML, une augmentation de leur fragilité et, enfin, une rupture de l'AI. Les lignes en pointillés rouges désignent le vasa vasorum, les lignes en pointillés noirs : LEI détruite, ovales rouges représentent les globules rouges. Image issue de Pawlowska et al.(54)

Le glycocalyx est une structure biochimique dynamique et complexe constituée de protéoglycanes, de glycoprotéines et de protéines solubles. Les protéoglycanes et les glycoprotéines ancrent le glycocalyx à l'endothélium et forment une matrice étendue contenant des composants solubles. Le glycocalyx est l'aspect le plus apical de la cellule endothéliale qui constitue l'interface entre le sang et ses composants cellulaires et la membrane et le cytosquelette de la cellule endothéliale. (55) Plusieurs fonctions sont attribuées au glycocalyx : il régule la perméabilité vasculaire, la coagulation et la thrombose, les interactions entre les cellules endothéliales et les cellules sanguines circulantes, et agit comme un mécanocapteur du stress de cisaillement de fluide qui contrôle le tonus vasculaire.(56)

Le glycocalyx serait un transducteur crucial qui traduirait la contrainte de cisaillement du fluide en un signal cellulaire (c'est-à-dire mécanotransduction). Dragovich et al. en 2016 ont utilisé des cellules endothéliales microvasculaires du cerveau de rat en culture, en utilisant une approche combinée de la force atomique et de la microscopie de fluorescence pour l'objectif de montrer que les glycocalyx endothéliaux détecteraient et transduiraient l'étirement mécanique vertical pour produire de l'*oxyde nitrique* (NO). Les résultats obtenus seraient en faveur d'un mécanisme moléculaire de production rapide de NO en réponse à l'étirement mécanique vertical. (57)

L'oxyde nitrique produit par l'*endothelial nitric oxide synthetase* (eNOS) serait le principal médiateur de la vasodilatation déclenchée par la CE en réponse à un fort débit. L'augmentation de WSS induirait la production de eNOS et relaxe la contraction des CML de la média. Cette augmentation du NO dérégulerait l'expression des molécules d'adhésion pro-inflammatoires *monocyte chimiotactic protein-1* (MCP-1) et *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM1) qui seraient par ailleurs sur-régulées de manière concomitante dans les CE en réponse au WSS.(58) Des expériences avec des souris knock-out NOS montraient comment le blocage de la signalisation NOS prédisposerait à la formation d'AI par une augmentation de l'infiltration de macrophages, probablement par une augmentation de l'expression de MCP-1.(59) Des résultats récents suggèrent que l'étirement mécanique pourrait induire l'expression de MCP-1 aussi dans les fibroblastes de l'adventice, ce qui favoriserait la migration transmurale des macrophages. La coexistence d'un WSS élevé avec l'étirement mural conduirait à une expression de MCP-1 amplifiée et à une infiltration de macrophages avec une probabilité accrue d'initiation d'AI.(60)

La **Figure 6** représente un modèle théorique de couplage de flux et la formation anévrismal.

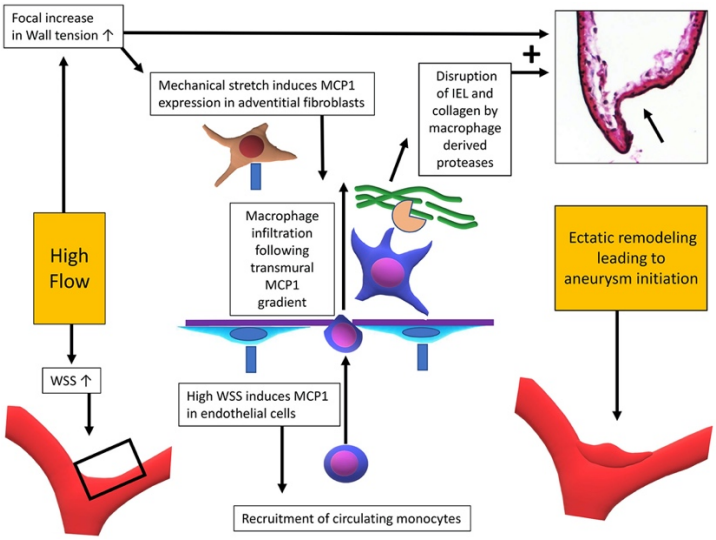


Figure 6. Modèle théorique de WSS et la formation d'AI

Le débit élevé entraîne une augmentation du WSS et du calibre artériel qui vont accroître la tension sur la paroi. Le WSS élevé serait détecté par l'endothélium à travers le glycocalyx (bleu clair) et conduirait à l'activation de MCP-1 dans les cellules endothéliales. L'étirement mécanique de la paroi artérielle serait à son tour perçu par les cellules intra-murales et induirait l'expression de MCP-1 dans les fibroblastes. Le MCP-1 aurait un rôle central dans le recrutement de monocytes circulants au site de remodelage des vaisseaux. Ces macrophages infiltrés migreraient à travers la paroi artérielle en suivant la signalisation chimiotactique de MCP-1. La sécrétion des protéases serait responsable de la rupture de la LEI et la matrice de collagène. Par ce mécanisme, un débit élevé pourrait provoquer une rupture de la LEI, une étape clé de l'initiation de l'anévrisme. Image issue de Frösen et al.(53)

2.4.1 Polarisation des macrophages dans les AI

Dans les analyses histopathologiques des lésions d'AI chez l'homme, les concentrations élevées de macrophages et de lymphocytes dans les parois de l'anévrisme appuient la théorie selon laquelle l'inflammation joue un rôle clé dans la formation de l'AI.(61)

Les analyses histopathologiques des lésions anévrismales induites dans des modèles de rongeurs ont mis en évidence la présence de cellules inflammatoires notamment des macrophages CD68-positifs qui indiquerait le rôle des macrophages dans la formation et la progression des anévrismes.(62) Une délétion génétique ou une inhibition de la MCP-1 qui est une protéine chimiotactique majeure pour les macrophages, ou une réduction des macrophages à moins de 10% des valeurs de bases par injection de liposome de clodronate supprime le développement et l'élargissement des anévrismes des souris, suggérant un potentiel rôle des réponses inflammatoires à médiation macrophagique dans la pathogenèse des anévrismes.(63, 64)

Les macrophages ne sont pas homogènes, et ils sont généralement classés en deux sous-ensembles connus sous le nom de macrophages classiquement activés (M1-like) et alternativement activés (M2-like), respectivement.(65) En général, les cellules M1 présentent un effet pro-inflammatoire tandis que les cellules M2 facilitent la résolution de l'inflammation et favorisent la réparation tissulaire. En réponse à divers produits de signaux environnementaux, cellules endommagées, et lymphocytes activés, les macrophages peuvent acquérir des phénotypes fonctionnels distincts en subissant différentes polarisations phénotypiques, qui sont des processus finement régulés.(66)

Hasan et al ont trouvé que les cellules M1 et M2 étaient présentes en proportions égales dans les AI non rompus; cependant, une prédominance marquée des cellules M1 sur les cellules M2 a été documentée dans les anévrismes rompus.(67) La généralisation des résultats de Hasan et al. ne serait pas appropriée. Cette étude est limitée par la petite taille de l'échantillon (10 anévrismes clipés dont 5 rompus et 5 non rompus). Il est également difficile de déterminer si l'augmentation de l'expression de M1 par rapport à M2 et la surrégulation des mastocytes dans les anévrismes cérébraux rompus (par rapport aux non rompus) est due à l'inflammation qui se produit après la rupture de l'anévrisme ou s'il y a eu une augmentation de l'expression de ces molécules qui a précédé et conduit à la rupture de l'anévrisme.

Yamashiro et al. ont fait une étude histologique de 8 anévrismes clippés afin de déterminer quel rôle les types distincts de macrophages ont sur la dégénérescence des parois de l'anévrisme. Une infiltration importante de macrophages a été identifiée indépendamment de la rupture. Les rapports des macrophages de type M1 et de type M2 variaient dans chaque cas et les macrophages de type M2 étaient répartis dans des régions presque identiques. Nous pouvons conclure de cette étude que les rapports des macrophages de type M1 versus de type M2 reconnus par immunocoloration par divers anticorps n'ont pas présenté de valeurs cohérentes par rapport à des études précédentes. Elle suggère aussi que non seulement les macrophages de type M1, mais également les macrophages de type M2 pourraient être impliqués dans le développement et la rupture des AI.(68)

En somme, au cours des dernières années, des progrès ont été réalisés dans notre compréhension de la polarisation des macrophages dérégulée dans les AI; cependant, nos connaissances sur les processus détaillés restent fragmentaires. **(Figure 7)**.

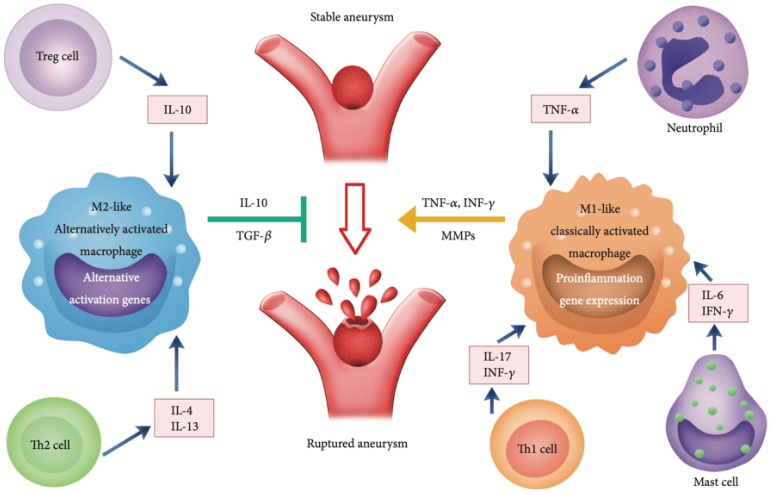


Figure 7. Résumé hypothétique des médiateurs et des cellules immunitaires impliqués dans la polarisation M1/M2 des macrophages.

Les cytokines pro-inflammatoires libérées par les cellules neutrophiles, les cellules Th1 et les mastocytes contribueraient au maintien du macrophage classiquement activé. Les cellules M1 augmenteraient l'expression génique de l'inflammation, favorisant la progression de l'AI vers la rupture. Inversement, les macrophages activés alternativement seraient capables de stopper la progression de l'anévrisme en facilitant la régression de l'inflammation. MMP (métalloprotéinase matricielle).Figure issue de Shao et al.(69)

2.4.2 Le rôle des métalloprotéinases dans la formation des AI

Les métalloprotéinases matricielles de type membranaire (MMP) sont importantes dans les processus de dégradation et de remodelage de la matrice de la paroi vasculaire. Par leur activité protéolytique, elles dégradent les protéines de la matrice extracellulaire qui jouent un rôle important dans le remodelage vasculaire dans les échantillons de tissus anévrismaux humains et animaux, pouvant contribuer à la pathogenèse de l'AI. Bien qu'il y ait plus de 20 isoformes de MMP, les MMP-2 et MMP-9 ont particulièrement attiré l'attention dans la promotion de l'initiation d'anévrismes intracrâniens.(70) En ce qui concerne le développement de l'anévrisme, la MMP-2 serait responsable de la dégradation du collagène de type I et III, qui constitue une très grande majorité de la MEC vasculaire, et la MMP-9 dégraderait l'élastine, qui est la composante protéique de la LEI.(71) Le rôle central des MMP dans la pathogenèse de l'AI a été étudié et validé dans la pathogenèse des anévrismes expérimentaux. (**Figure 8)**.(72, 73)

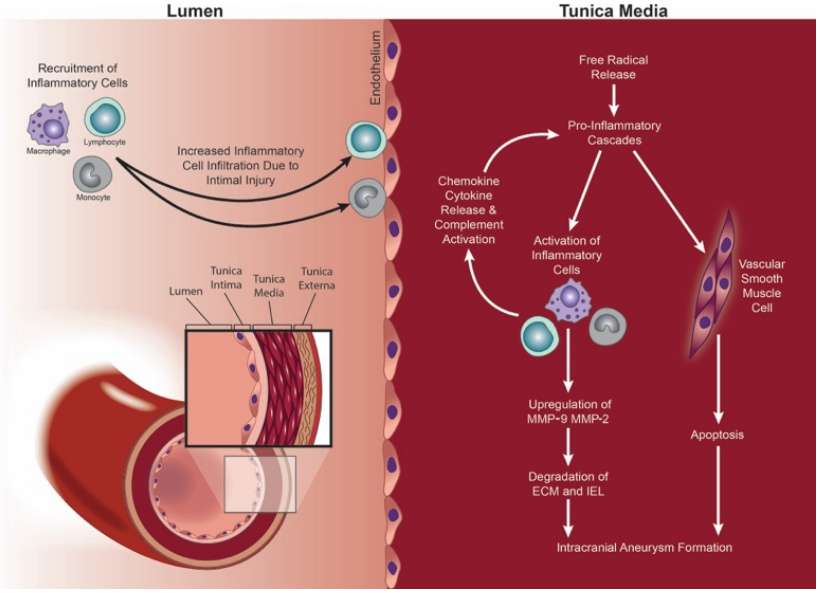


Figure 8. Illustration conceptuelle de MMP et formation d'AI

Les MMP interviendraient dans la formation d'AI par un processus de remodelage vasculaire. Le traumatisme initial et l'augmentation de WSS entraîneraient le recrutement et l'infiltration de cellules inflammatoires dans la paroi du vaisseau. La libération de radicaux libres, de chimiokines pro-inflammatoires et de cytokines et l'activation de la cascade de compléments interviendraient dans la régulation de la MMP-2 et de la MMP-9. Le processus protéolytique qui en résulte entraînerait la dégradation de la MEC de la média et modifie la structure de la paroi du vaisseau avec la formation d'AI. Image issue de Zhang et L.(74)

Les MMP seraient libérées par les CE vasculaires, les CML et les cellules inflammatoires. Les cytokines TNF-α et IL-8 sécrétées par les macrophages seraient des inducteurs puissants de l'expression et de la production de MMP-2 et MMP-9.(50) L'activité des MMP pourrait être déclenchée par d'autres facteurs aussi comme l'étirement mécanique dû à un flux sanguin anormal ou une hypertension détectée par des cellules endothéliales, qui pourraient produire du TNF-α (75, 76). L'étirement mécanique conduirait également les cellules endothéliales à produire des radicaux libres et de l'oxyde nitrique, ce qui entraînerait la conversion de la pro-MMP-9 en MMP-9 active. Les inhibiteurs de MMP tels que (tissue inhibitor of metalloproteinase) TIMP-1 et TIMP-2 auraient théoriquement un effet protecteur contre l'initiation et la croissance des anévrismes. Dans un modèle d'anévrismes chez le rongeur, l'inhibition des gènes TIMP-1 ou TIMP-2 auraient entraîné une augmentation de l'activité enzymatique MMP-2 et MMP-9 et une augmentation des taux de formation d'anévrismes.(77) Les études ultérieures ont montré que les TIMP-1 et les TIMP-2 sont principalement présents dans les CML vasculaires et TIMP-1 serait richement exprimés aussi dans les anévrismes cérébraux chez l'homme. Ceci suggère que l'apoptose et la migration des CML loin de la média pourraient entraîner un changement de l'équilibre MMP/TIMP favorisant une augmentation des activités enzymatiques MMP, la dégradation des CML, et éventuellement la progression et la rupture de l'anévrisme.(77)

Les observations provenant des différentes études sont cependant paradoxales à ce sujet. Selon Kim et al., une augmentation locale des niveaux MMP-9 était constatée, mais sans différence significative entre anévrysme clippé et biopsie de l'artère temporale superficielle (ATS) et pas de différence par rapport au groupe contrôle. Le niveau élevé de TIMP ne pouvait pas être mis en relation avec le niveau de MMP-9. (78)

Au contraire Jin et al. ont noté des concentrations plus élevées de MMP-2 et de MMP-9 et de TIMP dans la paroi anévrismale chez les patients atteints d'AI rompus comparativement aux AI non rompus.(79) Dans des conditions pathologiques, il se produit un déséquilibre entre l'expression de MMP et de TIMP, ce qui pose la question de savoir si l'expression et l'activité de MMP sont diminuées ou si l'expression de TIMP et d'autres inhibiteurs potentiels sont diminuées pendant la progression d'anévrismes intracrâniens ?

La prédisposition génétique à l'augmentation de la production de MMP a été liée par Peters et al. à une propension accrue à développer des AI, mais les données provenant de divers articles sur l'influence possible des polymorphismes génétiques de MMP sur la susceptibilité aux anévrismes intracrâniens sont divergentes et une telle possibilité à l'heure actuelle reste polémique.(80-82)

2.5 Remodelage et croissance de l'anévrisme

La combinaison de mécanismes hémodynamiques et inflammatoires serait responsable de la disparition de la LEI et de l'amincissement de la média. Une fois la LEI rompue par l'infiltration de cellules inflammatoires, on observe une dégradation de la matrice de collagène aboutissant au bombement apparent de l'anévrisme initial. L'anévrisme aurait ensuite une tendance à la croissance. Ceci, cependant, exigerait que la paroi de l'anévrisme se développe activement et synthétise une nouvelle matrice afin d'éviter la rupture de la poche anévrismale. Une agression protéolytique isolée même prolongée serait au contraire responsable de l'infiltration des macrophages sans remodelage concomitant de la matrice de collagène et ne conduirait pas à une croissance importante, mais plutôt à une rupture d'un petit bleb de type blister-like parfois rencontré en pratique clinique.

Les CML de la paroi de l'AI synthétiseraient le nouveau collagène requis pour cette croissance active de la paroi.(41, 83) Ces cellules murales exprimeraient des récepteurs pour plusieurs facteurs de croissance sécrétés par des macrophages, par exemple *transforming growth factor ß* (TGFb) et le *platelet-derived growth factor B* (PDGF-B), qui stimulent la synthèse et la prolifération de la matrice des CML.(84) L'activation des macrophages stimulerait constamment les CML, en plus de la sécrétion de protéases, expliquant pourquoi la paroi de l'anévrisme grossit. Dans des expériences conduites sur des rongeurs, Aoki et al. ont montré qu'une fois initiée, l'activation des macrophages dans la paroi de l'anévrisme s'amplifierait par une boucle de rétroaction autocrine dans laquelle la *prostaglandine E2* (PGE2) produite par la *cyclo-oxygénase-2* (COX-2) activerait le facteur de transcription *nuclear factor kappa b* (NFk-B) dans d'autres macrophages, ce qui entraînerait une expression accrue de MCP-1 et de COX-2 par ces cellules.(85, 86) Cela stimulerait le recrutement de plus de macrophages dans la paroi de l'anévrisme, ainsi que l'activation de NFk-B dans ceux-ci. Cette boucle d'amplification pourrait expliquer que le remodelage des parois, initié par des conditions de débit élevé se poursuive même si le flux pathologique est normalisé.(87)

L'analyse de l'expression génique de parois d'AI humains rompus et non rompus a montré la régulation à la hausse de multiples gènes NFk-B dans la paroi des anévrismes rompus suggérant que l'activation de NFk-B induite par les macrophages serait impliquée dans le remodelage de la paroi des AI humains.(86) L'expression de COX-2 dans la paroi des AI, ainsi

que l'expression du récepteur PGE2 (sous-type EP2) suggère que la voie de signalisation COX2-PGE2-EP2-NFkB-COX2 contribuerait à la croissance et au remodelage de la paroi des AI humains, similairement aux modèles expérimentaux d'AI non rompus.(85) L'observation fondamentale selon laquelle les médicaments inhibant l'activité COX2, tels que l'aspirine ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens, semblent réduire la croissance des AI non rompus chez les patients appuie également ce concept.(88, 89) Yang et al. ont fait une métaanalyse d'études s'étant intéressées à l'effet de l'acide salicylique sur les AI non rompus chez l'Homme. Leurs résultats indiquent que l'utilisation d'aspirine, indépendamment de la fréquence et de la durée, était associée à un risque statistiquement significativement plus faible de croissance et d'hémorragie méningée chez les patients présentant un AI non rompu. (90)

2.6 Rôle de l'inflammation dans le processus de remodelage

Une fois la croissance de l'anévrisme initiée, sa paroi serait soumise à une tension murale progressivement plus élevée. Pour que l'AI ne se rompe pas, la paroi devrait s'adapter à la charge mécanique accrue. En général, l'adaptation à une pression chronique se ferait de manière progressive par la prolifération des CML de la média et des dépôts de collagène, comme dans les changements pariétaux en réponse à l'hypertension artérielle.(91) Dans les cas où ce processus de remodelage serait insuffisant, les cellules intra-murales pourraient être exposées à un étirement supra-physiologique. La dynamique de ce processus de réparation à la suite d'une surextension de ce type a été bien étudiée dans les modèles de lésions artérielles de dilatation par ballon et il a été démontré qu'elle dépendrait des macrophages et de l'activation de NFk-B dans les CML.(92, 93) **(Tableau II)**.

	Cellules endothéliales	Cellules musculaires lisses vasculaires	Macrophages
Rôle dans l'homéostasie vasculaire	• Interface entre le flux sanguin et la paroi vasculaire • Mécanotransduction • Répond au stress de cisaillement et au flux	L'état contractile maintient l'intégrité de la paroi du vaisseau	• Le sous-ensemble M2 est anti-inflammatoire • Joue un rôle dans la réparation vasculaire
Molécules de signalisation cellulaire associées (sécrétées par ou possédant des récepteurs pour)	• VEGF • bFBF • SDF-1 • COX-2 • PGE2 • NF-κB • TNF-α	• NF-κB • MMPs • IL-1β • MCP-1 • TNF-α	• MMPs • Élastases • MCP-1 • NF-κB • TNF-α
Rôle dans la formation d'anévrismes	• La migration confère aux cellules inflammatoires un accès accru à la paroi vasculaire • La prolifération/ néovascularisation entraîne une augmentation de l'accès des cellules inflammatoires à la paroi des vaisseaux • La signalisation cellulaire complexe entraîne un état inflammatoire chronique	• Le phénotype sécréteur conduit à un état inflammatoire • Migration erratique • Apoptose • Affaiblissement de la paroi vasculaire	• Propage une réponse inflammatoire • Joue probablement un rôle important dans la progression vers la rupture • Libère les élastases et les MMP impliquées dans la dégradation de la paroi

Tableau II. Résumé du rôle des médiateurs inflammatoires dans la croissance et la rupture de l'anévrisme

VEGF: vascular endothelial growth factor; bFBF: basic fibroblast growth factor; SDF-1: stromal cell-derived factor-1; COX-2: cyclooxygenase-2; PGE2: prostaglandin E2; NF-κB: nuclear factor-κB; TNF-α: tumor necrosis factor-α; MMP: matrix metalloproteinases; IL-1β: interleukin-1β; MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1
Tableau issu de Amenta et al.(94)

La paroi de l'AI qui se dilate s'adapterait à cette tension de la paroi accrue par la prolifération des CML et le remodelage du collagène, de la même manière qu'une paroi artérielle répond à un sur-étirement ou une hypertension chronique, à condition qu'elle ait des CML saines.(41) Toutefois, de nombreux AI ont des parois avec au moins des régions focales qui montrent la perte de CML.(52) De plus, dans de nombreuses parois d'AI, les CML restantes se transforment en cellules spumeuses (foam cells) en raison de l'incorporation de lipides, ce qui altère leur fonction normale.(95) Cela pourrait éventuellement mener à un scénario potentiellement dangereux dans lequel l'anévrisme continue de grossir, mais présenterait des régions de paroi qui ne seraient pas capables de s'adapter à l'augmentation des tensions causée par la croissance. Parceque la dysfonction endothéliale semble être un facteur clé dans la promotion de l'accumulation des lipides dans la paroi des AI, le flux qui régulerait la fonction endothéliale est susceptible d'affecter le processus de dysfonctionnement des CML de la paroi de l'AI induit par les lipides.(96)

Bien que les AI chez l'être humain se formeraient préférentiellement à des sites de WSS élevé, le fait qu'ils ne se forment pas dans toutes les bifurcations exposées à des WSS élevés et chez tous les patients semble indiquer qu'un deuxième facteur est nécessaire pour l'initiation de l'AI. Dans les modèles expérimentaux, une lésion concomitante de l'élastine favoriserait significativement la formation d'anévrismes dans les sites où les conditions de débit prédisposent à la formation d'AI.(97) Comme les cellules inflammatoires, en particulier les neutrophiles, sont une source importante d'élastase, il semble plausible qu'une telle "deuxième frappe" chez l'être humain prenne effet par activation de cellules inflammatoires et augmentation de l'activité de l'élastase.(52) De plus, le caillot de sang dans le dôme de l'anévrisme permettrait aux leucocytes de disposer de plus de temps pour s'infiltrer dans la MEC et causer d'autres dommages à la matrice vasculaire. Également, les processus inflammatoires feraient progresser l'apoptose des CML dans la média.(98)

2.7 Génétique des AI

L'étiologie du développement des AI est hétérogène. Outre les maladies multifactorielles polygéniques, souvent déclenchées par des facteurs de risque vasculaires établis, les maladies monogéniques devraient également être prises en considération. Les progrès de la génétique ont aidé à identifier certains gènes qui contribueraient au risque de développement d'AI.

De nombreuses affections héréditaires monogéniques sont associées à la formation d'AI, notamment la polykystose rénale autosomale dominante, le syndrome d'Ehlers-Danlos de type IV, le syndrome de Loeys Dietz, le syndrome de Marfan, la neurofibromatose de type I, la néoplasie endocrine multiple de type I, le nanisme microcéphalique ostéodysplasique primordial type 2 de Majewski (MOPD II).(99-101) On ne sait pas dans quelle mesure ces troubles héréditaires spécifiques contribueraient à l'ensemble de la population des patients atteints d'AI. On estime cependant qu'ils ne représenteraient qu'une très faible proportion. Par exemple pour la polykystose rénale autosomique dominante, cette maladie ne représenterait que 1,2% de tous les patients atteints d'AI.(102)

Les membres de famille au premier degré de patients atteints d'une hémorragie sous-arachnoïdienne (HSA) présentent un risque accru d'HSA par rapport à la population générale, et 10% des patients atteints d'HSA ont des membres de leurs familles qui ont également souffert d'une HSA.(103) Dans une étude de population, le risque relatif (OR) d''HSA pour les personnes ayant un parent au premier degré affecté était de 2,15 (IC à 95 %, 1,77-2,59)

comparativement aux cas sporadiques, tandis que pour les personnes ayant deux parents de premier degré affectés, le OR augmentait à 51,0 (IC à 95 %, 8,56-1 117). Les AI non rompus sont également plus fréquents chez les patients ayant des antécédents familiaux. Le dépistage préventif des AI non rompus par angiographie par résonance magnétique s'est révélé rentable chez les membres de famille au premier degré des patients atteints d'HSA.(104)

Les études familiales ont permis d'accroître le nombre de gènes et de mutations dont il a été prouvé qu'ils entraînaient des anévrismes familiaux, tandis que les études d'association pangénomique (GWAS) ont permis d'identifier 17 loci indépendants et répliqués à travers le génome, avec un effet sur le risque des AI. Ces études génétiques sur les AI pourraient aider à mieux comprendre les causes et la biologie des AI et à identifier les cibles potentielles pour des traitements. Il convient cependant de noter que la plupart des études génétiques sur les AI ont été réalisées dans des populations caucasiennes, certaines chez des personnes d'ascendance asiatique, mais aucune, par exemple, chez des personnes d'ascendance africaine. Cela pourrait conduire à une compréhension biaisée de la maladie voire à des erreurs thérapeutiques dérivées des découvertes génétiques chez des minorités ethniques.(105)

En somme, la base génétique des anévrismes intracrâniens montre une grande hétérogénéité et complexité. À l'heure actuelle, outre l'imagerie, il n'existe aucun test diagnostique fiable permettant d'identifier les patients présentant un risque plus élevé d'anévrisme intracrânien asymptomatique.

Le développement des AI peut être corrélé à des perturbations du processus normal de traduction des protéines dans les cellules vasculaires. À long terme, une compréhension plus complète de la génétique et des voies moléculaires associées à la formation et à la rupture des AI pourrait guider la médecine dans l’élaboration de thérapies ciblées et l’optimisation de l’évaluation des risques pronostiques.

Une nouvelle cible concerne les ARN non codants qui composent 95 % de l’ARN total dans la transcription eucaryote. Récemment des preuves commencent à faire surface concernant des possibles associations entre les ARN non codants qui seraient un régulateur central de l’expression génique impliqués par l’intermédiaire de multiples mécanismes dans la régulation de l’inflammation et par ce biais le développement, la croissance et le remodelage des AI. Néanmoins à l’heure actuelle le rôle précis des ARN non codants dans la formation des AI reste flou.(106)

3 Diagnostic des AI

Le mode de diagnostic des anévrismes intracrâniens est variable en fonction du caractère rompu ou non de l'AI. En cas d'AI rompu, le diagnostic de l'AI sera le plus souvent fait dans le contexte d'exploration d'une hémorragie sous-arachnoïdienne (HSA) ou d'un hématome intracrânien. Dans ce cas, l'angioscanner est l'examen de première intention pour l'imagerie des vaisseaux intracrâniens. Le scanner cérébral sans contraste est un outil simple et fiable pour le diagnostic d'hémorragie sous-arachnoïdienne avec 98-100% d'examen positif jusqu'à 12 heures après la rupture et 93% des cas positifs les 24 premières heures. Les résultats positifs diminuent cependant avec le temps.(11, 107, 108) Quand le scanner cérébral initial est négatif, mais avec une forte suspicion clinique d'HSA, l'IRM a un intérêt majeur avec haute sensibilité pour diagnostiquer même une petite quantité de sang sous-arachnoïdien.(109) En l'absence d'imagerie positive, le gold standard pour la détection de l'HSA est la ponction lombaire (PL), bien que, les ponctions traumatiques puissent survenir jusqu'à 20% des cas.(109, 110) La libération d'hémoglobine des globules rouges se métabolise en oxyhémoglobine et bilirubine, entraînant une xanthochromie à l'examen du liquide céphalo-rachidien. L'oxyhémoglobine peut être détectée quelques heures après l'HSA. La formation de la bilirubine (dont le diagnostic est le plus fiable) dépend d'un processus enzymatique qui peut nécessiter jusqu'à 12 heures après la rupture de l'anévrisme.(110) En cas de confirmation d'une HSA pour un patient aigu symptomatique se présentant à l'hôpital, que ça soit par scanner cérébral ou ponction lombaire, l'étape suivante est l'artériographie cérébrale. Au cas où la présence de l'anévrisme est prouvée, le cas est discuté entre neuroradiologue interventionnel et neurochirurgien pour décision thérapeutique concernant les modalités de prise en charge en urgence. En l'absence d'étiologie retrouvée de l'HSA l'artériographie cérébrale est répétée à 10 jours et à trois mois des premiers symptômes.

Les maux de tête représentent 1 à 2% des consultations d'urgence, et environ 1% d'entre eux sont liés à une HSA. Le diagnostic manqué d'HSA reste courant, surtout pour les patients en bonne condition clinique. Un diagnostic erroné peut entraîner une aggravation de la maladie, souvent due à une nouvelle hémorragie, avant que le traitement étiologique ne puisse être effectué.(108)

En l'absence de contexte hémorragique, le diagnostic d'un AI est le plus souvent fortuit au cours d'un bilan d'imagerie cérébrale pour une autre raison. La réalisation croissante d'examens d'imagerie non invasive cérébrale quelque soit l'indication s'accompagne d'une augmentation de la détection fortuite d'anévrismes. L'imagerie par résonance magnétique

(IRM) et angiographie par résonance magnétique (ARM), le plus souvent en séquence TOF sans produit de contraste est alors dans ce cas l'examen le plus souvent réalisé.(111, 112)

L'imagerie de la paroi vasculaire par IRM est une nouvelle technique d'imagerie qui permettrait d'avoir une valeur supplémentaire pour la gestion et la stratification des risques chez les patients atteints d'AI sacculaires non rompus. Le contraste de gadolinium peut être utilisé pour évaluer de façon non spécifique l'inflammation dans les AI par IRM. Le rehaussement de la paroi anévrismale pourrait potentiellement prédire l'instabilité et le risque de rupture de l'anévrisme. En ce qui concerne le principe de ce réhaussement pariétal, il est supposé qu'un revêtement endothélial lésé permettrait l'infiltration de gadolinium dans la paroi du vaisseau.(113) Dans une étude pilote chez l'homme menée par Hasan et al., l'absorption de ferumoxytol dans les parois de l'anévrisme au cours des 24 premières heures a suggéré une instabilité de l'anévrisme. Le ferumoxytol pourrait être utilisé dans des protocoles de recherche comme produit de contraste à l'IRM. Lorsque l'imagerie est retardée, le ferumoxytol est éliminé par les macrophages ce qui pourrait en faire un potentiel marqueur de l'inflammation de la paroi de l'AI.(114) En ce qui concerne les AI rompus, cette technique pourrait servir à identifier un anévrisme rompu chez les patients avec de multiples AI. (115, 116) La contamination veineuse et les artéfacts de mouvement constituent des limitations majeures à l'utilisation courante de l'IRM à haute résolution chez les patients avec HSA et AI rompu(s).(117)

Le recours à l'angiographie rotationnelle soustraite digitalisée (DSA) avec reconstruction 3D qui est un examen invasif à visée diagnostique a diminué en raison de l'amélioration notable de la résolution des techniques d'imagerie non invasive. (118) Cependant, l'angiographie reste l'examen de référence pour la confirmation du diagnostic ainsi qu'à visée thérapeutique pour planifier le traitement des AI non rompus et rompus **(Figure 9).**(119, 120)

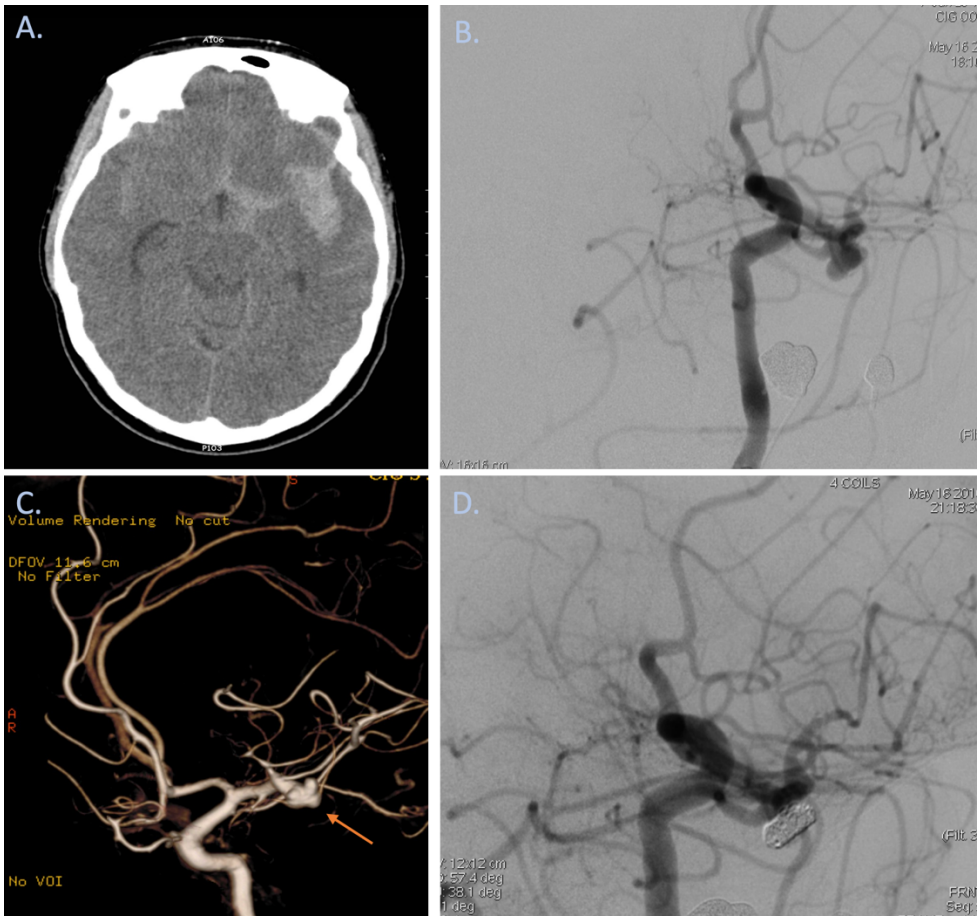


Figure 9. Neuroimagerie d'AI rompu

(A) Scanner cérébral sans produit de contraste montrant une HSA prédominant dans l'hémisphère gauche et un hématome sylvien gauche (B) L'artériographie cérébrale visualise un anévrisme de l'artère cérébrale moyenne gauche (C) DSA avec reconstruction 3D, la flèche pointe sur une forme irrégulière correspondant au point de rupture de l'anévrisme (D) résultat final après traitement par coiling. Szatmary-*Cas non publié issu des archives personnelles*

4 Traitement des AI

Il existe deux grandes options thérapeutiques pour les AI : le traitement neurochirurgical et le traitement endovasculaire. L'abstention thérapeutique associée à une surveillance par imagerie est également une possibilité dans certains cas. Le succès à long terme de tout traitement utilisé pour prévenir la rupture de l'AI dépend de l'occlusion permanente de l'AI et de son exclusion de la circulation. La microchirurgie est une méthode invasive nécessitant une craniectomie et visant à l'exclusion de l'anévrisme par mise en place d'un clip au collet (technique appelée clipping).

Le traitement endovasculaire est une option thérapeutique plus récente qui vise à l'exclusion de l'AI sans ouverture de la boite crânienne. Il s'agit d'un traitement peu invasif par rapport au clipping chirurgical même si cette technique comporte également des risques. Plusieurs techniques de traitement endovasculaire sont actuellement disponibles et consistent sous contrôle scopique en la navigation endovasculaire de matériel par un microcathéter permettant d'exclure l'AI de la circulation **(Figure 10)**.

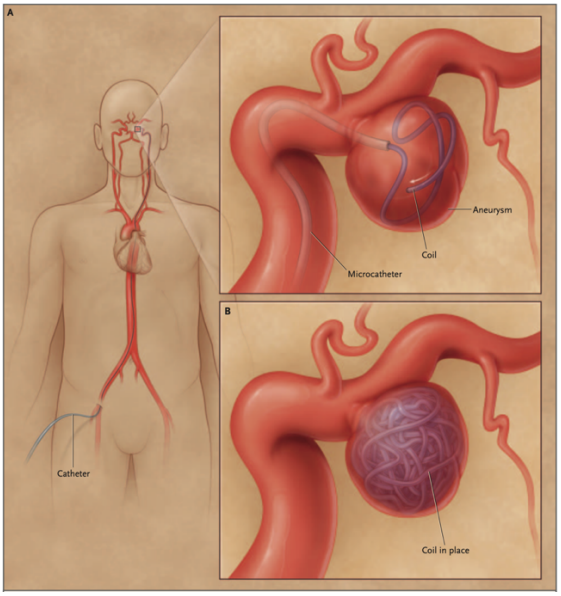


Figure 10. Occlusion par voie endovasculaire d'un AI par des coils GDC

A. montre la progression du microcathéter depuis l'artère fémorale droite jusqu´à l'anévrisme en passant par l'aorte et l'artère carotide gauche et le début du déploiement du 1er coil. L'image B montre l'occlusion finale de l'anévrisme avec des coils. Image issue de Brisman et al.(3)

Le traitement endovasculaire le plus couramment réalisé notamment pour les AI rompus consiste en l'utilisation de coils déployés au sein de l'AI pour le combler et favoriser sa thrombose et son exclusion de la circulation. Les coils sont des fils de platine, qui sont souples

avec une large gamme de tailles afin qu'ils s'adaptent à différentes tailles et formes d'anévrismes. Ils sont navigués jusqu'à l'AI au sein d'un microcathéter puis sont déployés et détachés au sein de l'AI lorsque la position satisfaisante est obtenue. La mise au point d'une nouvelle génération de microcathéters et de microguides avec revêtement a facilité la navigation intracrânienne au-delà du polygone de Willis, et les anévrismes périphériques peuvent maintenant être occlus aussi par des techniques endovasculaires.

4.1 Rappel historique

Le premier traitement chirurgical d'AI par clipping remonte à 1938 rapporté par Dandy ; une technique fiable et effective de nos jours aussi.(121) Les promesses de la thérapie endovasculaire ont également été très prometteuses dès ses débuts, proposant un traitement peu invasif sans nécessité de chirurgie à ciel ouvert et sans large cicatrice chirurgicale. Une première tentative de traitement d'AI par voie endovasculaire a été réalisée par Alfred J. Luessenhop, neurochirurgien qui en 1964 a injecté dans l'anévrisme un polymère de silicone sphérique.(122) En 1974 Fedor A. Serbienko, neurochirurgien, a rapporté le premier traitement d'AI par largage de ballon détachable après navigation intracrânienne. À la suite, il a réalisé au total 304 opérations avec cette technique.(123) Il a fallu attendre 1990 pour la première embolisation d'AI avec des coils détachables. La recherche expérimentale qui a abouti à l'achèvement des coils GDC (Guglielmi detachable coil) a commencé en 1989 et la première utilisation clinique remonte au 6 mars 1990 à l'université de Californie, Los Angeles (UCLA).(124, 125) Avant les coils détachables, les seuls coils disponibles étaient les «pushable coils » dont le détachement n'était pas contrôlé avec des risques importants pour le traitement des AI.(126)

Le concept d'origine du coiling par Guglielmi était de créer un thrombus dans le sac anévrismal par mécanisme électro-thrombotique en utilisant des spires de platine très fin de 0.18 inch.(125) Bien que le mécanisme électro-thrombotique n'a pas donné de résultat positif, les coils détachables ont réussi à combler l'anévrisme par un packing dense.(124) Cette technique endovasculaire s'est dès lors imposée comme traitement de référence par la communauté neuro-interventionnelle devant une efficacité importante aussi bien pour les anévrismes rompus que non rompus.(127) Initialement, la technique a été utilisée uniquement pour les cas présentant un risque important de morbi-mortalité chirurgicale, mais depuis les indications ont été considérablement élargies, devenant la technique de référence pour tout type d'AI confondu.(128)

4.2 Évidences cliniques

L'International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) avec 2 143 patients dont 1 070 dans le groupe chirurgical et 1 073 dans le groupe endovasculaire a été publié un premier essai randomisé prospectif multicentrique comparant la sécurité et l'efficacité du TEV par coils et par clipping chirurgical pour le traitement des AI rompus.(129) Cet article a rapporté que le traitement des AI avec la technique d'embolisation par coils réduit le risque de dépendance ou de mort de près d'un quart, et le risque absolu de près de 7% par rapport à la chirurgie ouverte. Les inclusions de cette étude avaient été interrompues précocement par le comité indépendant de suivi des données devant la supériorité du traitement endovasculaire.

L'efficacité et la sûreté du TEV des anévrismes non rompus ont été évaluées dans un méta-analyse de 71 études incluant 5 044 patients porteurs de 5 771 anévrismes. Un résultat défavorable de la procédure a été constaté chez 4,8 % des patients. Les résultats angiographiques immédiats ont montré une occlusion satisfaisante chez 86,1% des anévrismes traités. Des récurrences ont été observées chez 24,4 % des patients suivis pendant 0,4 à 3,2 ans. Un retraitement a été effectué chez 9,1 % des patients. Le risque annuel d'hémorragie après TEV était de 0,2 %, mais le suivi clinique était court, limité aux 6 premiers mois pour 76,7 % des patients. La conclusion de l'étude était que le TEV est sûr et efficace, mais les anévrismes de la circulation postérieure et les anévrismes larges ont des résultats post-opératoires moins bons que les autres.(130)

En conclusion le TEV représente le traitement de première intention pour les anévrismes rompus depuis qu'il a été démontré que cette approche permet de meilleurs résultats en termes de morbi-mortalité comparée à la microchirurgie.(131-133) De façon analogue, le TEV est la technique de référence pour les AI non rompus.(134-136) Le taux de succès du TEV en prenant l'ensemble des AI coilés est de 91 % avec une morbi-mortalité autour de 4.8%.(137)

4.3 Évolution des techniques endovasculaires

Les progrès techniques rapides dans le domaine endovasculaire ont révolutionné le traitement des AI. Depuis l'approbation par la Food and Drug Administration des coils GDC en 1995 aux États-Unis, une variété de nouveaux coils de conception et de propriétés physiques différentes, tels que les coils complexes, résistants à l'étirement et bioactifs, ont progressivement été développés, dans le but d'augmenter la densité de packing et de réduire le taux de récurrence des anévrismes.(138) Le nombre de cas d'AI traités par embolisation augmente constamment chaque année à la suite des progrès continus des techniques endovasculaires.(139) Le développemenet de ces nouvelles techniques permettent le traitement par voie endovasculaire d'anévrismes auparavant non traitables ou necessitant un abord chirurgical. Parmi ces nouvelles techniques, le developpenet de ballons de remodeling et de nouveaux dispositifs d'assistance intra et extra sacculaires permettent le traitement d'AI à collet large. Des nouveaux dispositifs endovasculaires permettront à partir de nouvelles données issues de la morphologie de l'anévrisme, de la mécanique des fluides et de la biologie moléculaire de la thrombose de l'anévrisme de rendre les technologies endovasculaires plus sûres et de résoudre les problèmes actuels comme par exemple la question de recanalisation post coiling des AI.

4.3.1 L'embolisation d'AI avec des coils à l'aide de ballon de remodeling

Cette technique permet le traitement des anévrismes à collet large. En effet, contrairement à un anévrisme à collet étroit permettant de maintenir les coils à l'intérieur du sac anévrismal, un collet large expose au risque de protrusion des coils dans l'artère porteuse. Afin de maitriser ce risque, l'utilisation d'un ballon de petite taille placé dans l'artère porteuse en regard du collet anévrismal et gonflé transitoirement permet de déployer les coils dans l'anévrisme en évitant leur protrusion dans l'artère. Grand nombre d'anévrismes à collet large peuvent être traités aujourd'hui avec succès grâce à ces ballons compliants mono ou double lumière, permettant ainsi d'obtenir une densité de packing plus élevée que sans ballon. Un autre avantage potentiel est que si une rupture de l'anévrisme se produit pendant la procédure, il est possible par gonflage immédiat du ballon d'empêcher le saignement, en plaçant des coils supplémentaires si nécessaire pour occlure complètement l'anévrisme. Les risques possibles qui peuvent survenir sont la migration des coils en dehors de l'anévrisme après déflation du ballon; la dissection ou rupture de l'artère liée au surgonflage du ballon et la rupture de

l'anévrisme.(123) Il est important de noter que cette technique ne nécessite pas un recours à l'anti-agrégation plaquettaire et peut être également utilisée pour les anévrismes rompus **(Figure 11)**.(140-142)

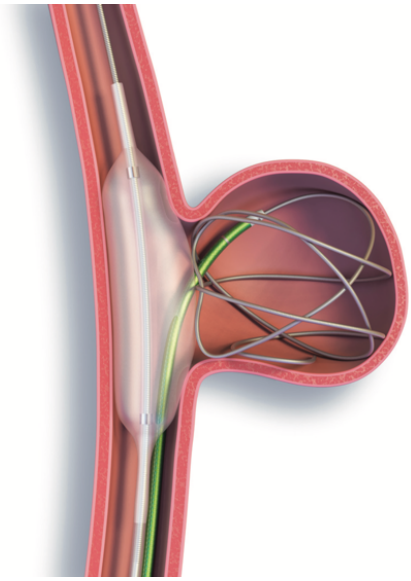


Figure 11. Technique de remodeling

Technique de remodeling à l'aide d'un ballon compliant d'un anévrisme situé sur la paroi latérale de l'artère porteuse. Figure issue de Pierot et al.(141)

4.3.2 L'utilisation des stents pour embolisation des AI

Les dispositifs de reconstruction intravasculaire ou stents sont des dispositifs auto-expansibles constitués de nickel, titane, cobalt, chrome, platine ou une combinaison / alliage de ceux-ci. L'idée est similaire à celle du remodeling par ballon : l'objectif est que ces dispositifs fournissent du support au collet de l'anévrisme, mais contrairement au ballon, cette solution est permanente, car le stent reste en place dans la lumière du vaisseau à la fin de la procédure. Le but principal est de stabiliser les coils qui sont progressivement déployés dans l'anévrisme à travers le microcathéter, le stent permettant d'empêcher la migration, le délogement ou la protrusion des coils dans l'artère porteuse. À l'heure actuelle nous ne disposons pas d'étude randomisée prospective pour comparer les techniques de stenting par rapport au remodelling. Les données actuelles sont basées surtout sur des études rétrospectives. Le coiling avec stenting permet des résultats similaires en termes d'occlusion complète et de stabilité que la technique par remodeling avec un taux de récidive plus faible à long terme sans être associé à un risque plus élevé de complications intra-procédurales.(143-145) Une des principales limites liées à

l'utilisation d'un stent est la nécessité d'une double anti-agrégation plaquettaire afin de prévenir les complications thromboemboliques. Cette double anti-agrégation rend l'utilisation des stents non applicable en première intention pour les AI rompus avec HSA **(Figure 12)**.(146)

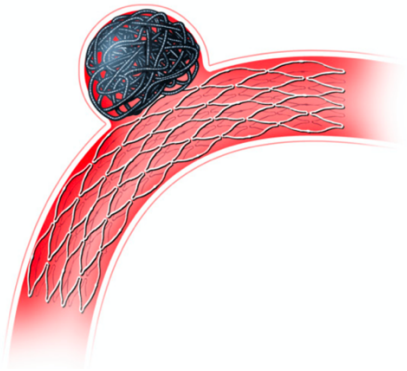


Figure 12.Technique de stenting

Traitement par stenting et coiling d'un AI. Figure issue de Oushy et al. (147)

4.3.3 Stent à diversion de flux (Flow-diverter)

Les stents flow-diverters sont utilisés chez l'homme depuis la fin des années 2000. Cette technique est prometteuse dans le traitement des anévrismes intracrâniens de grande taille et difficiles à traiter aussi bien que les anévrismes blister like.(148-150) Les flow-diverters sont des endoprothèses tubulaires flexibles composées de fils tressés, fabriqués à partir de matériaux similaires aux stents traditionnels (une combinaison de nickel, de titane, cobalt, chrome ou platine), développés à l'origine pour les anévrismes dysplasiques atypiques, larges, à collet large de la circulation antérieure **(Figure 13)**. Ils représentent un changement de paradigme par rapport aux méthodes endovasculaires précédentes, car leur placement intravasculaire ne nécessite théoriquement pas de traitement intrasacculaire supplémentaire dans la plupart des cas pour obtenir l'occlusion de l'anévrisme. Ils ont une couverture de surface métallique plus élevée (environ 30%) et une porosité inférieure comparativement aux stents intracrâniens conventionnels.(151) Leur objectif principal est la redirection du flux sanguin du sac anévrismal dans la direction de l'artère porteuse, avec pour but de provoquer une thrombose et une occlusion du sac anévrismal. (152, 153) Contrairement aux stents couverts, la porosité des stents flow-diverters permettraient de maintenir perméables des branches artérielles couvertes par le dispositif en raison d'un flux aspiratif cependant l'occlusion des artères perforantes surtout dans la circulation postérieure avec les flow-diverters est une complication potentielle.(154) Ils constituent également un échafaudage, support pour la prolifération néo-endothéliale et la cicatrisation de la paroi vasculaire.(155) Ils créent ainsi un néo-vaisseau à l'intérieur de l'artère

porteuse, permettant d'exclure le segment anévrismal pathologique en reliant les segments artériels sains.(156) Ainsi, par la cicatrisation du collet de l'anévrisme, ils permettent l'involution/régression du sac anévrismal et la diminution de l'effet de masse associé.(157) La reconstruction vasculaire grâce aux flow-diverters est donc un processus évolutif dans le temps qui, est le support d'une occlusion progressive de l'anévrisme.(158) De la même façon que pour les stents intracrâniens traditionnels actuellement disponibles, les flow-diverters nécessitent l'utilisation de traitement anti-agrégant plaquettaire pour éviter les complications thromboemboliques.(159, 160)

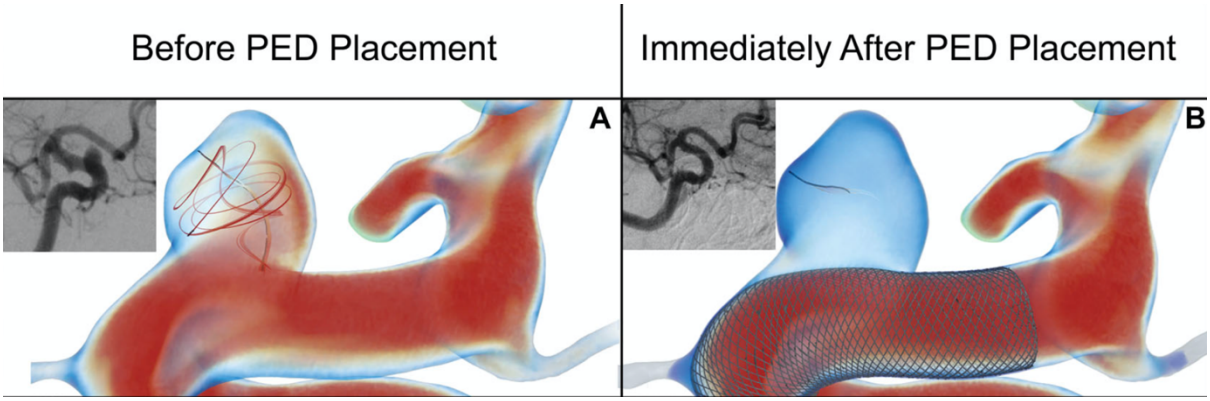


Figure 13. Traitement par flow diverter

Mise en place d'un *Pipeline Embolisation Device* (PED) pour le traitement d'un anévrisme carotido-ophtalmique. A. Avant traitement B. Après traitement. La modification du flux dans l'anévrisme après mise en place du PED est notable directement post-traitement. Image issue de Maragkos et al.(161)

4.3.4 Autres dispositifs et orientations futures

D'autres dispositifs prometteurs en cours d'investigation sont des stents auto-extensibles en nitinol qui peuvent être déployés le temps de l'intervention et non implantés définitivement.(162) Les dispositifs extrasacculaires-intravasculaires (par exemple PulseRider, pCONUS), qui ont une extrémité distale en forme de « pétales de fleur » sont déployés au niveau des bifurcations de l'artère porteuse au niveau du collet anévrismal pour maintenir les coils dans l'anévrisme. Une fois le placement adéquat confirmé, ces stents peuvent être détachés par électrolyse comme pour un coil. Ils offrent une alternative potentielle au Y stenting pour le traitement des anévrismes de bifurcation difficiles.(163, 164) Ils ont montré des résultats prometteurs dans les essais cliniques initiaux, et d'autres résultats sont attendus dans un avenir proche.(165, 166)

Une autre l'alternative récemment développée sont les dispositifs intra-sacculaires auto-expansibles à maillage dense (par exemple : WEB et Luna) qui couvrent le collet de l'anévrisme et servent de barrière au flux à l'interface entre le collet de l'anévrisme et l'artère porteuse **(Figure 14).** Le mécanisme d'occlusion qui est presque immédiat dans la plupart des cas, est celui d'une perturbation du flux et d'une stase provoquant une thrombose intrasacculaire. La réduction des vitesses du flux entrainent la stase sanguine à l'intérieur de l'anévrisme et la formation de thrombus puis la cicatrisation du sac anévrismal.(167) À l'histologie conventionnelle dans une étude chez le lapin à un mois du traitement dans la moitié des anévrismes le dôme étaient cicatrisé avec du tissu conjonctif et à travers le collet de l'anévrisme du tissu conjonctif organisé a été détecté dans la majorité des cas. À trois mois il y avait du tissu conjonctif organisé couvrant le collet anévrismal avec dépôt de collagène.(167)

Un avantage supplémentaire par rapport aux stents flow-diverters est l'absence de matériel dans l'artère porteuse permettant d'éviter l'utilisation d'une double antiagrégation plaquettaire et leur utilisation dans les anévrismes rompus en phase aiguë. (168)

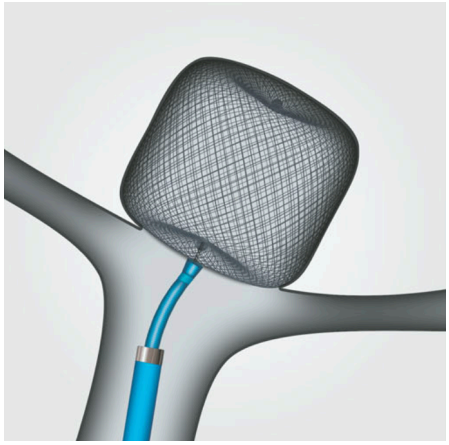


Figure 14. Dispositif WEB placé dans un anévrisme.

Image issuesde Chiu et al. (169)

Il existe plusieurs autres dispositifs endovasculaires actuellement en développement. Parmi les derniers développements, plusieurs stratégies de modification de surface des dispositifs ont été développées avec des revêtements de surface visant à réduire le risque des événements thromboemboliques, ainsi que des stents avec une technologie biorésorbable.(169-171)

Plusieurs méthodes physiques et chimiques ont été suggérées pour améliorer les taux d'occlusion des anévrismes à long et à court terme :

- L'idée d'une électro-thrombose par l'utilisation d'un courant électrique direct induisant le développement rapide de thrombus n'a pas été confirmée dans les études sur les animaux ni en pratique clinique.(172)
- L'implantation ionique est un procédé efficace pour immobiliser des protéines sur une surface de platine sans augmenter leur diamètre de manière significative ; cela modifie les qualités physiques et chimiques à la surface des coils de GDC comme la thrombogénicité. Ces coils modifiés ont été comparés aux coils standard de GDC et il a été observé une meilleure migration et adhésion des cellules endothéliales ainsi qu'une réponse inflammatoire accrue.(173, 174)
- L'ablation par radiofréquence peut empêcher la recanalisation après occlusion de l'anévrisme par coils du moins dans un modèle artériel.(175)
- La cryoablation a également été expérimentée mais n'a pas révélé être aussi bénéfique que l'ablation par radiofréquence dans les modèles canins.(176)
- Des faibles doses de radiation *in situ* se sont révélées efficaces pour prévenir la recanalisation après embolisation par coils. L'utilisation de coils radioactifs enrobés de ^{32}P a entraîné une meilleure occlusion anévrismale et une couverture néointimale plus complète du collet de l'anévrisme que les coils non radioactifs mais ces dispositifs n'ont pas été utilisés au-delà des études animales preuve de concept chez le chien.(177, 178)

Cependant, malgré le développement de ces nouvelles techniques, le remplissage du sac anévrismal même en cas de coiling assisté par ballon ou stent, n'excède pas 30-40 %, même en cas d'occlusion dite complète.(179, 180) Cela signifie que malgré l'utilisation de dispositifs pour augmenter le volume de coils à l'intérieur de l'anévrisme (densité de packing de coils), il n'est pas possible d'obtenir un comblement du volume du sac anévrismal de plus de 30-40% par les coils, le volume résiduel étant occupé par du thrombus. La récurrence anévrismale étant une limite préoccupante pour la stabilité du traitement par coils, de multiples travaux de recherche sont en cours pour diminuer ce risque(181).

5 Cicatrisation des AI après traitement endovasculaire par coiling

L'embolisation d'AI par coiling est actuellement principalement guidée par la volonté d'obtenir un comblement le plus complet possible du sac anévrismal avec des considérations basées sur la structure et la géométrie des anévrismes plutôt que sur leurs caractéristiques biologiques. Un aspect important dans la compréhension de la guérison après le traitement endovasculaire est la discordance entre l'angiographie et l'évaluation histologique après embolisation par coils. Plusieurs auteurs ont montré que l'occlusion angiographique complète n'est pas synonyme de cicatrisation complète et de guérison de l'anévrisme.(182)

Une meilleure compréhension des mécanismes biologiques de guérison de l'anévrisme permettrait d'élaborer de nouvelles stratégies ou d'apporter des modifications aux dispositifs actuels pour favoriser la guérison et réduire les taux de recanalisation.(183)

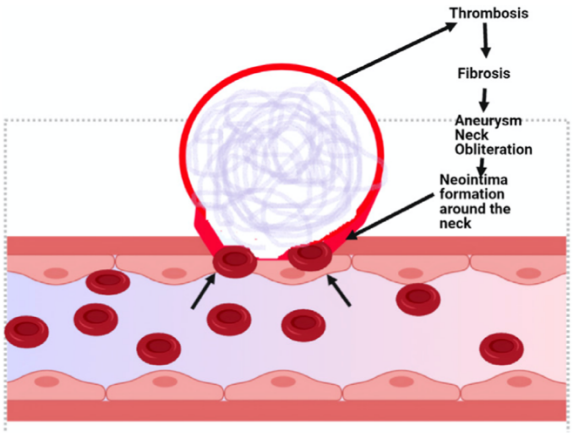


Figure 15. Cicatrisation d'un AI post coiling.

Image issue de Shrivastava et al.(182)

5.1 Clipping vs. Coiling

La guérison après clipping repose sur l'occlusion mécanique, tandis que la guérison après coiling nécessite principalement l'induction d'une réponse biologique **(Figure 15 et 16)**. La guérison après embolisation dépend de l'organisation du thrombus et de la croissance de néo tissus sur le thrombus formé sur le matériel d'embolisation. Les variations dans la guérison et les résultats à long terme des anévrismes pourraient en partie être expliquées par la biologie de la paroi de l'anévrisme, ce qui est fondamental pour la guérison des anévrismes embolisés et le succès à long terme de la thérapie endovasculaire (TEV).(184) La mobilisation des cellules

progénitrices endothéliales et des cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse serait une autre source potentielle pour favoriser la cicatrisation des AI selon les résultats de la recherche experimentale sur des lapins. (185)

Cependant, l'occlusion angiographique après traitement endovasculaire (TEV) ne doit pas être assimilée à une guérison biologique.(186, 187) Des études histopathologiques humaines après embolisation par coils ont révélé que le thrombus intraluminal non organisé évolue en du tissu de granulation. Avec le temps une néointima peut se développer au collet mais ce phénomène n'est pas systématique et ce tissu de granulation au collet est le plus souvent seulement partiel pour les anévrisme à collet large dans l'étude menée par Bavinzski.(188)

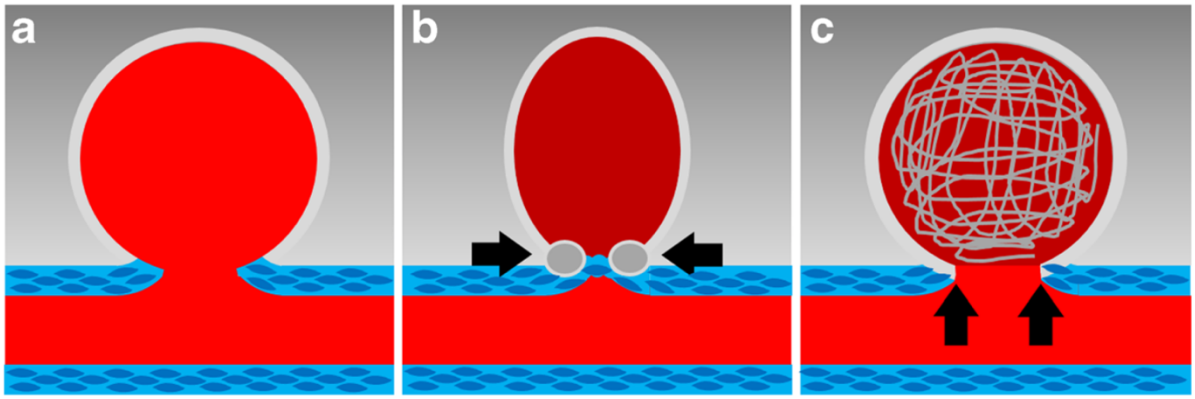


Figure 16. Guérison des anévrismes après clipping vs. coiling.

a.) Illustration schématique d'un AI avec artère porteuse saine (paroi du vaisseau en bleu) et le segment dilaté pathologique (paroi anévrismale en gris plus mince). b.) Le clips exclut le segment du vaisseau malade, ferme le collet de l'anévrisme et réaligne les parois artérielles saines (flèches noires) et excluent l'AI de la circulation. c.) Dans l'anévrisme coilé, la zone de transition saine au niveau du collet n'est pas réalignée (flèches noires). Les coils maintiennent le collet ouvert, induisent une thrombose intraluminale et ne permettent pas l'exclusion du sac anévrismal tant que la néointima n'est pas formée sur l'orifice de l'anévrisme ou que le thrombus s'organise en tissu fibreux. Illustration issue de Marbacher et al.(184)

5.2 Mécanismes de recanalisation

Les limites majeures du traitement endovasculaire sont l'occlusion anévrismale incomplète et la recanalisation qui survient le plus souvent dans les six premiers mois après traitement.(181, 189) Six anévrismes humains sur douze qualifiés de complètement occlus à l'angiographie cérébrale dans l'étude de Bavinzski présentaient lors de l'analyse anatomopathologique à l'examen macroscopique des minuscules espaces ouverts entre les coils au collet.(188)

Les mécanismes de la recanalisation sont mal compris. La plupart des hypothèses reposent sur une interprétation subjective des modifications morphologiques de l'AI. Les mécanismes axés sur le volume de l'AI comprennent la compaction des coils, la migration des coils dans le thrombus intraluminal et la résorption du thrombus intraluminal préexistant.(190, 191) Basé sur des observations histopathologiques et les modèles expérimentaux de cicatrisation des AI il semblerait qu'une fibrose intra-sacculaire insuffisante et le manque de formation de néointima au collet seraient des potentiels mécanismes de recanalisation. (192, 193) Fondé sur un modèle de bifurcation carotidien chez le chien, Raymond et al. ont proposé le concept que la recanalisation serait caractérisée par des espaces ouverts avec écoulement sanguin au travers de la néointima, formant des micro-invaginations dans des tissus conjonctifs nouvellement formés, vers le fond de l'anévrisme entièrement recouverts d'une néointima (toujours endothélialisée). Selon ce modèle, les récidives ne seraient pas causées par un mécanisme de cicatrisation déficient, mais par le fait que si les mécanismes de cicatrisation parviennent à remplacer le thrombus et à former un tissu conjonctif organisé remplissant le fond de l'anévrisme, alors la contraction du tissu conjonctif entraînerait le rétrécissement de la cavité fibrosée, ce qui se traduirait par un déplacement vers le fond. Il semblerait se produire simultanément la formation d'un espace qui se reformerait près de la paroi de l'anévrisme au niveau du collet. Il en résulterait l'ouverture progressive de l'espace récurrent, un agrandissement progressif et un compactage des coils.(186)

Il y a une forte relation entre le volume de l'anévrisme, la densité de packing des coils (DPC) et la recanalisation. Dans les anévrismes expérimentaux, le volume était négativement corrélé avec la DPC.(194) La petite taille des anévrismes était associée à des résultats plus stables à long terme après coiling, quelle que soit la localisation de l'AI.(195) Dans les petits anévrismes avec un packing dense des coils, approximativement 70 % du volume anévrismal est rempli de thrombus. (196-198) Augmenter la densité de packing des coils est plus difficile à atteindre dans les anévrismes larges. La DPC est inversement proportionnelle au volume d'un anévrisme avec une quantité plus importante de thrombi dans les anévrismes plus volumineux.(199) Quand la DPC est basse et le thrombus intraluminal représente plus de 80% du volume anévrismal, le risque de recanalisation de l'anévrisme est accru.(199, 200) La recanalisation des petits anévrismes (4-10 mm) a été rapportée entre 5 et 20 % des cas selon la taille du collet. Ce risque augmente à 35-50% des cas dans les anévrismes larges (10-25mm) et à 60-90% des cas pour les anévrismes géants (>25mm).(139, 201)

L'analyse d'une cohorte appariée (emplacement de l'anévrisme, diamètre et taille du collet) a démontré non seulement un risque global plus élevé de recanalisation en cas de rupture

de l'AI, mais aussi une surevnue plus précoce et des degrés plus élevés de recanalisation et un pourcentage plus élevé de retraitement comparativement à des AI non rompus.(202)

5.3 Mécanisme histopathologique de la cicatrisation anévrismale après embolisation avec des coils nus chez l'homme

Il existe très peu de description fiable de ces phénomènes chez l'homme à cause de très nombreuses difficultés à obtenir des pièces histologique de clipping ou d'autopsie à différentes dates.

Des études histopathologiques ont montré que le caillot sanguin composé de globules rouges et de fibrine est généralement présent dans la semaine suivant le coiling.(188, 203, 204)

À la fin de la première semaine suivant l'embolisation, les fibroblastes et les macrophages commencent à envahir le caillot et des cellules géantes à corps étranger prolifèrent autour des coils. La formation de fibrine sur la surface des coils au collet et dans le dôme anévrismal a été rapportée au cours de la première semaine.(205)

Une à deux semaines après le traitement, un envahissement par les cellules inflammatoires, les macrophages et les fibroblastes est observé sur les coupes histologiques chez la plupart des patients. Au collet de l'anévrisme une fine membrane de fibrine peut se former, d'autres études ont rapporté la formation d'une couche fine de cellules endothéliales. (203, 206)

Deux semaines à un mois après le traitement, il a était observé que les coils du dôme de l'anévrisme sont recouverts d'une fine couche de fibrine. L'envahissement fibroblastique du caillot dans le dôme serait plus importante à cette phase. Un envahissement continu du dôme de l'anévrisme par les cellules inflammatoires, les macrophages et les fibroblastes a été noté. Des dépôts de collagène ont été constatés pendant cette période. Au niveau du collet de l'anévrisme, une formation néo-intimale accrue avec dépôt d'une fine couche de fibrine le long de la surface des coils peut apparaître.(207) L'endothélialisation sur les bords du collet a été rapportée aussi dans certains cas.(208)

Un à trois mois après le traitement, les coils sont couverts de fibrine, avec un envahissement du sac anévrismal par des macrophages ; les cellules inflammatoires sont largement absentes et des capillaires peuvent être visibles au dôme. Au collet, une membrane fine est souvent présente, constituée de cellules endothéliales et fibroblastes.

Entre *trois mois à un an,* une formation importante de tissu conjonctif vascularisé dans le dôme de l'anévrisme et autour des coils a été montrée. Une importante réaction à corps étrangers avec des cellules géantes multinucléées autour des coils a été décrite. Le collet peut être couvert par une couche de cellules ressemblant à l'endothélium.(203)

Après un an, les coils sont intégrés dans l'anévrisme. Le dôme est alors rempli de tissu conjonctif fibreux avec persistance d'une réaction continue à corps étranger avec des cellules multinucléés géantes autour des coils. Les cellules inflammatoires et les macrophages seraient en général des composants mineurs parce qu'il y a peu de réaction inflammatoire cellulaire. Le collet anévrismal peut être complètement couvert avec une couche fine de fibrine et des cellules endothéliales **(Figures 22 et 23)**.(209-212)

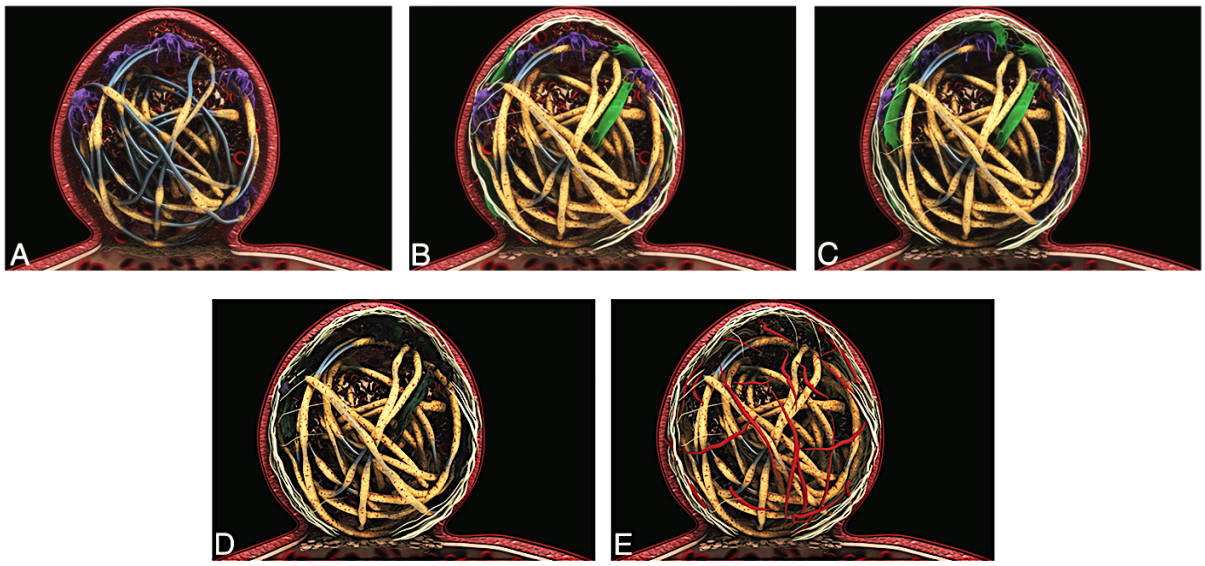


Figure 17. Cicatrisation des anévrismes coilés

A, *Première semaine* : une mince couche de fibrine recouvre les coils (beige). L'envahissement par des macrophages est observée dans la périphérie des coils (violet). Un thrombus non organisé entoure les coils (rouge). Une couche de fibrine mince, mais incomplète est observée au niveau du collet anévrismal. B, *Deuxième semaine* : augmentation du revêtement de fibrine sur les coils (beige). On observe des macrophages sur la périphérie des coils (violet) et une invasion de myofibroblastes (vert). On remarque une fine couche de fibrine au niveau du collet de l'anévrisme. L'endothélialisation à la périphérie du collet et le long des coils est observée. C, *Deux semaines à un mois* : invasion accrue de myofibroblastes (vert). Le thrombus est plus organisé (rouge), et des macrophages dans la périphérie de l'anévrisme (violet) sont aperçus. Endothélialisation accrue au collet. D, *Un à trois mois* : la cellularité diminue dans l'anévrisme. Les myofibroblastes (vert foncé) et les macrophages (violet foncé) meurent par apoptose. Endothélialisation intensive au collet. E, *Au-delà de trois mois :* le dôme de l'anévrisme est acellulaire. Le tissu conjonctif vascularisé est visible dans le dôme (fibres rouges). Majoration de la couche de fibrine sur les coils (beige) et de l'endothélialisation au collet. Il y a une augmentation progressive de la quantité de collagène dans l'anévrisme. Image issue de Brinjikji et al.(183)

5.4 Comparaison histologique et immuno-histologique entre humain et modèles animaux de la cicatrisation des anévrismes post-embolisation avec des coils nus

À long terme, l'embolisation des AI humains par coils de platine produit un réseau tissulaire hypocellulaire dans le dôme, associé à une membrane fine recouvrant le collet. Les dépôts de collagène et les infiltrations par des cellules contractiles sont quasi-absents, le collagène et les myofibroblastes sont clairsemés dans le dôme et au collet. Dans le modèle d'anévrisme expérimental chez le lapin, le dôme est également rempli d'un tissu hypocellulaire souple, le collagène et les myofibroblastes sont clairsemés dans le dôme. Les études les plus récentes montrent qu'il y a une différence significative de dépôt de collagène à six mois post-coiling chez le lapin comparativement à un et trois mois, sans différence significative entre un et trois mois.(213) Les cellules productrices de matrice extracellulaire, les myofibroblastes ainsi que la composante primaire de la matrice extracellulaire (le collagène de type 1) sont absents du modèle lapin et l'anévrisme humain dans la phase chronique après coiling. Chez le lapin, il y a une absence de déposition de collagène et une faible réaction myofibroblastique secondaire aux coils nus contrairement à ce qui est observé dans les anévrismes porcins. Les anévrismes porcins quant à eux sont remplis de tissus fortement infiltrés, y compris de tissus inflammatoires chroniques et de faisceaux de fibres de collagène atténués et étendus associés aux myofibroblastes. (214)

La biologie du collet diffère de celle du dôme de l'anévrisme. Le recrutement de cellules endothéliales au collet est essentiel pour assurer une guérison adéquate de l'anévrisme traité. Les modèles chez le lapin ne montrent généralement qu'une seule couche partielle de cellules endothéliales au niveau du collet alors que dans les modèles porcins de cicatrisation de l'anévrisme, les coils sont le support d'une formation de néointima robuste avec une couche épaisse de CML et un dépôt important de cellules endothéliales est observé.(188, 206, 208, 214, 215)

En conclusion chez le lapin et chez l'Homme, les coils de platine n'induisent que peu ou pas de fibrose ainsi qu'une prolifération cellulaire très modérée, tandis que les anévrismes chez le porc sont l'objet d'une importante cicatrisation collagène après coiling. La réponse cellulaire secondaire au traitement des anévrismes par coils de platine dans les anévrismes chez l'Homme est donc plus proche des phénomènes observés chez le lapin que dans les modèles anévrismaux porcins.(216)

5.5 Biologie moléculaire de la cicatrisation des AI

5.5.1 Molécules impliquées dans la cicatrisation d'anévrismes intracrâniens

Différentes molécules participent à l'augmentation de l'adhésion cellulaire, de la migration, de la survie, de la croissance de l'endothélium et de la dégradation de l'élastine. Ces molécules jouent un rôle important dans la promotion de la survie des cellules participant à la cicatrisation et à l'oblitération du sac anévrismal.

Signalisation cellulaire et expression de molécules d'adhésion cellulaire (CAM)

Les CAM sont une famille de glycoprotéines ayant des fonctions bien plus importantes que juste l'adhésion cellulaire. Elles sont situées sur la surface des cellules et leur rôle dans la guérison de l'AI est mal compris. Quatre grands groupes sont connus : intégrines, immunoglobulines, sélectines et cadhérines.(217-219)

Ostéopontine

L'ostéopontine qui est une CAM qui est l'un des principaux constituants de la matrice osseuse organique non collagénique. Sa présence a été établie dans divers tissus tels que l'os, le cerveau, le placenta, le muscle lisse, les reins, les fluides corporels et les cellules endothéliales. L'ostéopontine est une protéine qui est exprimée de manière accrue dans les anévrismes avec packing dense. Il s'agit d'un facteur clé pour la migration des cellules et la cicatrisation ; elle favorise également l'adhésion cellulaire à la matrice extracellulaire, inhibe l'apoptose et favorise la prolifération cellulaire.(220, 221) De plus, dans le système immunitaire en agissant comme la cytokine Th1, l'ostéopontine participe à la réponse immunitaire. L'ostéopontine, par inhibition de l'interleukine 1B, participe également dans le remodelage de la matrice extracellulaire. D'autre part, la surexpression de l'ostéopontine induit un épaississement de la média et la formation néointimale, deux phénomènes impliqués dans la guérison des anévrismes. Vis-à-vis des CML, l'ostéopontine participe à leur prolifération, à leur migration et à leur accumulation. Ses effets sur les cellules endothéliales sont similaires à ceux sur les CML.(182)

Fibronectine

La fibronectine est l'un des éléments les plus importants de la matrice extracellulaire et elle a été reconnue comme l'une des principales protéines du corps humain. Il s'agit d'une glycoprotéine adhésive ayant des concentrations plasmatiques de 300±100 mg/mL. Dans l'endothélium, la production et le stockage de la fibronectine sont médiés par la détection du débit sanguin par les cellules endothéliales. Parmi les fonctions de la fibronectine, son rôle dans le système hémostatique a été reconnu pour la cicatrisation vasculaire après la formation de thrombus. In vitro, son rôle prothrombotique a été observé, favorisant la croissance et la stabilité du thrombus.(222, 223)

Protéine chimiotactique monocytaire-1

La protéine-1 chimiotactique monocytaire (MCP-1) est une chimiokine qui participe à la cicatrisation des plaies et à l'hyperplasie néointimale. Cette protéine contribue également à la prolifération et à la stimulation des fibroblastes pour la production de collagène. Hoh et al. ont montré dans un modèle murin que MCP-1 favorise la cicatrisation des anévrismes en recrutant des fibroblastes, des cellules endothéliales, des cellules musculaires lisses et des macrophages.(224)

Inhibiteurs de l'apoptose

Dans des modèles animaux, le myofibroblaste est décrit jouant un rôle actif dans la cicatrisation des anévrismes, et l'apoptose du myofibroblaste est impliquée dans la recanalisation post coiling.(225) Des études animales ont montré que l’activation de TNF-alpha et les caspases médiées par le Bcl-2 jouent un rôle dans la recanalisation et pourraient être une cible biologique pour améliorer la cicatrisation après coiling des anévrismes. L'inhibiteur recombinant de l'apoptose lié à X s'est révélé neuroprotecteur et anti-apoptotique avec l'inhibition de l'expression des caspases clivées 3,8,9.(226)

5.5.2 L'activité biologique associée à la cicatrisation des AI

L'activité biologique associée à la cicatrisation des AI est intense dans les quatre premières semaines après embolisation et ce processus est complexe. Il y a une différence significative concernant l'expression des gènes entre les anévrismes correctement *versus* mal cicatrisés. Les anévrismes avec une densité de packing élevée et bien cicatrisés expriment de manière plus intense des molécules d'adhésion, des protéases, cytokines comparativement à des anévrismes avec un packing faible dont l'expression des gènes de collagène de type I et III est également réduite.(227) Les analyses protéomiques chez le lapin ont montré que les anévrismes avec un packing dense comparativement à un packing faible étaient associés à une régulation positive de la signalisation intercellulaire et de l'adhésion cellulaire à 2 semaines post-traitement. Les protéines présentant l'expression relative la plus élevée à 2 semaines dans le dôme d'anévrismes à packing dense comparativement aux anévrismes à packing faible sont les protéines C-réactive (CRP) qui sont des marqueurs de l'inflammation. La CRP est une protéine synthétisée par les hépatocytes et sa synthèse est stimulée par l'interleukine-6. Un autre stimulus pour la production de CRP est l'interleukine-1 qui est présente au cours du vasospasme post-HSA. L'expression de CRP par rapport au packing peut apporter une certaine crédibilité à l'hypothèse inflammatoire mise en avant par de nombreux chercheurs qui ont proposé l'utilisation de matériaux bioactifs pour améliorer la guérison des AI. (222)

La polarisation des macrophages a un rôle potentiel dans la cicatrisation des anévrismes. La plasticité de ces cellules permet de changer de phénotype du type M1 à M2 en réponse aux stimuli de l'environnement. Le phénotype M2 serait important pour la promotion de la guérison des plaies et de la réparation tissulaire et pour la résolution de l'inflammation.(228) Dans un modèle d'anévrisme de lapin, le phénotype de macrophage pro-inflammatoire M1 était significativement plus élevé à 1 mois après coiling qu'à trois et six mois. Au contraire, la prévalence de phénotype anti-inflammatoire M2 était à son maximum d'expression à six mois du TEV. Le pourcentage de collagène formé a progressivement augmenté avec le temps avec une différence statistiquement significative trois et six mois après traitement. Le nombre de macrophages M2 avait une forte corrélation positive avec les scores histologiques à 6 mois après embolisation. (213) La synthèse de collagène et un score histologique élevé sont associés à une meilleure cicatrisation de l'anévrisme **(Tableau III)**. (194)

Scale Number	Grading Components			
	Gross Neck	Micro Neck	Neck Compaction	Dome
0	No coverage	Unorganized clot	Macro-concave	Blood clot (all)
1	<50% coverage	Fibrin	Micro-concave	Organized tissue in <1/3 of dome area
2	50–75% coverage	Fibrin with organized tissue	Flat	Organized tissue in 1/3–2/3 dome area
3	>75% coverage	Completely organized tissue, thickness ≤1/3 coil diameter	Convex	Organized tissue in >2/3 of dome area
4	N/A	Completely organized tissue, thickness >1/3 of coil diameter	N/A	Completely organized loose tissue
5	N/A	N/A	N/A	Completely organized dense fibrous or cellular tissue

Tableau III. Échelle de classement histologique pour les anévrismes sacculaires induits à l'élastase.

Tableau issu de Dai et all.(229)

Une façon dont les macrophages M2 pourraient être impliqués dans ce processus de guérison est par la sécrétion de *Transforming Growth Factor β-1* (TGF β-1) qui induit la prolifération de fibroblastes qui se différencient ensuite en myofibroblastes. Ces cellules sont responsables de la production de collagène et de la cicatrisation des plaies cutanées.(230) Les macrophages M2 impliqués dans la cicatrisation des anévrismes ne se limiteraient pas au dépôt de collagène, mais pourraient également aider par d'autres mécanismes comme le dépôt et l'augmentation de la matrice extracellulaire, et la formation des cellules endothéliales. Les macrophages M2a sécrètent des facteurs de croissance dérivés des plaquettes (PDGF-BB) qui sont des chimiotactiques stabilisateurs des péricytes, et favorisent également l'adhésion entre elles, des cellules endothéliales en développement in vitro. Les macrophages M2c sécrètent les plus fortes concentrations de MMP9, une protéase importante impliquée dans le remodelage vasculaire.(231, 232)

Le rôle des métalloprotéases (MMP) est plus ambivalent ; la MMP-9 aurait simultanément un effet inhibiteur et promoteur de cicatrisation de l'anévrisme. L'ARN messager de MMP-9 a été détecté en plus grande quantité dans les anévrismes recanalisés comparativement à des anévrismes guéris dans des modèles d'anévrismes chez la souris et chez le chien alors que dans un modèle de lapin, MMP-9 était surexprimé dans les anévrismes guéris comparativement aux non guéris. (233, 234)

5.6 Le rôle de la paroi anévrismale dans la cicatrisation des AI post-coiling

La thrombose intra-anévrismale provoquée par le traitement endovasculaire peut être support de la cicatrisation (formation de néointima par infiltration de CML ou de myofibroblastes) ou bien favoriser la déstabilisation de la paroi (entraînée par des processus inflammatoires principalement destructifs). Dans ce dernier cas, l'organisation du thrombus intraluminal échoue et la guérison altérée rend l'AI plus sensible à la récurrence.

D'après des travaux réalisés sur un modèle de souris d'anévrisme sacculaire, Frösen et al. ont émis l'hypothèse que la plupart des cellules néo-intimales qui jouent un rôle dans la cicatrisation proviendraient de la paroi anévrismale avec une contribution probablement négligeable des progéniteurs circulants.(235) La théorie selon laquelle la cicatrisation du thrombus intraluminal est principalement médiée par des cellules de la paroi de l'AI serait conforme aux études histologiques réalisées chez l'Homme après embolisation par des coils GDC, qui ont révélé que la réponse tissulaire de granulation commence sur la périphérie du caillot intrasacculaire adjacent à la paroi de l'anévrisme.(188, 204, 208) Cependant, de nombreux processus de guérison de l'anévrisme ne sont pas bien élucidés et restent controversés. Des études récentes suggèrent que les cellules progénitrices endothéliales dérivées de la moelle osseuse contribuent aussi à la ré-endothélialisation au niveau du collet anévrismal et non seulement les cellules endothéliales de l'artère porteuse. En outre, dans un modèle d'anévrisme chez la souris, des coils enrobés avec du *monocyte chemotactic protein 1* (MCP-1) étaient en mesure de recruter des fibroblastes, CML, cellules endothéliales et macrophages dérivés de la moelle osseuse favorisant ainsi la croissance tissulaire intra-anévrismale et la cicatrisation de l'anévrisme par la voie MIP-1$^{\alpha}$ et MIP2 **(Figure 18)**.(224, 236)

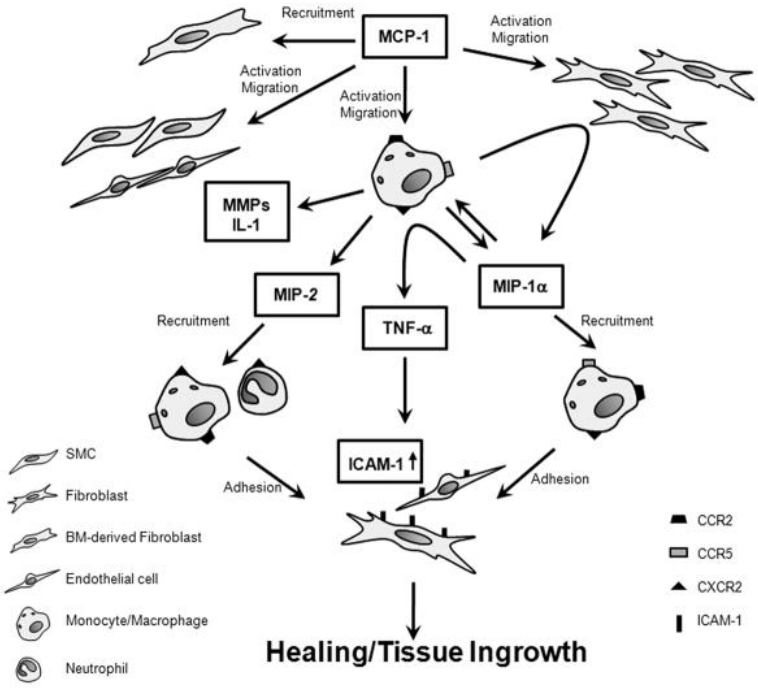


Figure 18.Voie hypothétique par laquelle MCP-1, MIP-1, et MIP-2 interagissent dans la cascade de cicatrisation du tissu inflammatoire.

MCP-1 active les fibroblastes, les cellules des muscles lisses et les monocytes et macrophages. Les monocytes et les macrophages issus de la moelle osseuse recrutée libèrent une variété de cytokines, y compris MIP-1, MIP-2, métalloprotéinases matricielles, IL-1 et autres, qui induisent une infiltration supplémentaire des monocytes et des macrophages par activation autocrine. MIP-1, qui est régulé à la hausse par l'interaction entre les macrophages et les fibroblastes, induit à son tour la sécrétion de TNF11 qui régule à la hausse l'expression de ICAM-1 par les fibroblastes, les cellules endothéliales et les macrophages. MIP-1- et MIP-2, sécrétés par les macrophages activés, recrutent directement la migration des neutrophiles, macrophages et autres leucocytes vers le site de lésion et de réparation. Image issue de Hoh et al.(224)

De nombreuses parois d'AI manquent de CML notamment les anévrismes rompus qui ont la paroi la plus pathologique. Ces CML sont pourtant indispensables à la cicatrisation du thrombus induit par l'embolisation et ainsi à la guérison de façon permanente de l'anévrisme embolisé. Cette perte des CML ralentirait la cicatrisation du thrombus, ce qui entrainerait un retard de cicatrisation de l'AI embolisé qui reste dans un état instable avec persistance de l'activité du thrombus secondaire à l'activation des voies de lyse de caillot. Cela pourrait conduire à la lyse du caillot, à la recanalisation et à la récurrence de l'AI. De plus, les résultats provenant de modèles expérimentaux suggèrent que la dégradation continue du thrombus non organisé pourrait favoriser le recrutement de neutrophiles et de cellules inflammatoires, qui augmenteraient les lésions protéolytiques de la paroi des AI. (52, 237, 238) Les AI non rompus ont tendance à avoir des CML plus viables dans leurs parois, ce qui donne aux AI non rompus une meilleure chance de guérison après l'embolisation. Cela pourrait expliquer pourquoi les AI non rompus ont des taux de recanalisation plus faibles, nécessitent moins de retraitement, et

sont plus stables après embolisation que les AI rompus.(202, 239-243). L'organisation du thrombus serait très dépendante de la présence des CML de la paroi anévrismale et leur raréfaction serait source de croissance et rupture de l'AI avec une inflammation concomitante et le recrutement de neutrophiles.(237, 238) La contribution des cellules dérivées de la moelle osseuse pour la cicatrisation anévrismale varie probablement en fonction des conditions de la paroi anévrismale (perte de cellules murales). Les données de recherche confirment l'importance des CML et suggèrent fortement que la perte de ces cellules peut expliquer la défaillance du TEV des patients **(Figure 19)**.(184, 244)

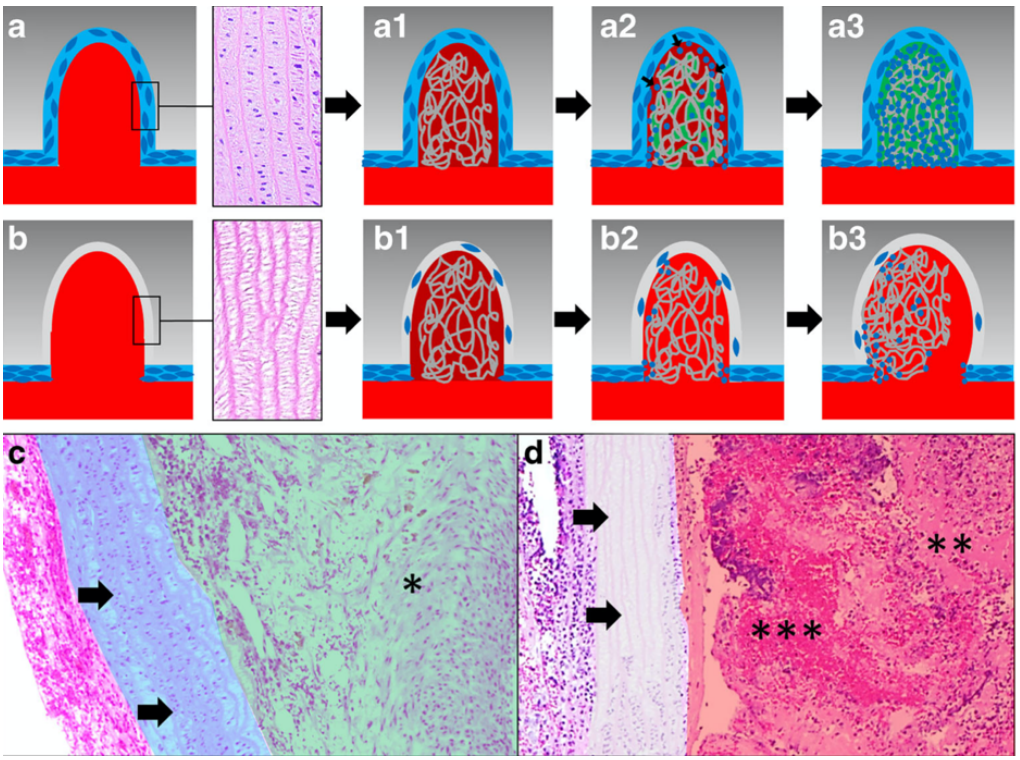


Figure 19. Illustration schématique comparant la guérison après coiling d'un AI

Le cours naturel de guérison de l'anévrisme après coiling n'est pas uniquement dicté par l'angioarchitecture de l'anévrisme ; il est largement déterminé par l'état de la paroi de l'anévrisme. Illustration schématique comparant la guérison après coiling d'un AI avec de nombreuses CML fonctionnelles (a : paroi anévrismale épaisse-en bleu) et un AI avec une paroi fortement dégénérée et perte de CML (b : paroi anévrismale mince-en gris). Dans l'AI avec paroi saine, le coiling induit une thrombose intraluminale (a1 : zones rouge foncé), les CML vont subir une modification phénotypique, migre dans le thrombus (a2 : points bleus) et le transforme en tissu cicatriciel (a3 : zones vertes). Le TEV induit également une thrombose intraluminale dans les AI avec une paroi dégénérée (b: zones rouge foncé). Cependant, les cellules murales manquantes empêchent l'organisation des thrombus (b2 : zones rouges) et peuvent endommager davantage la paroi de l'anévrisme, ce qui pourrait entraîner une progression de la maladie (b3 : croissance et récidive). c: Histologie d'un anévrisme de rat guéri (zone verte avec formation de tissu conjonctif intraluminal (astérisque)) avec une paroi riche en CML (flèches noires). d : thrombus non organisé (zone rouge avec maille de fibrine (double astérisque) et globules rouges (triple astérisque)) dans un anévrisme expérimental avec cellules murales manquantes (flèches noires). Image issue de Marbacher et al.(184)

5.7 Rôle et implication du collagène dans la cicatrisation des anévrismes

Les collagènes sont des protéines matricielles extracellulaires qui jouent un rôle dominant dans le maintien de l'intégrité structurale de divers tissus, et les parois vasculaires sont particulièrement riches en collagènes. Les collagènes de la paroi vasculaire sont principalement des collagènes fibrillaires (type I, III, V), des collagènes microfibrillaires (type VI) et un collagène de membrane basale (type IV). Le collagène de type I fournit une raideur à la traction et il définit des propriétés biomécaniques considérables en ce qui concerne la charge, la résistance à la traction et la raideur à la torsion des artères. (245) Les fibres de collagène de type III sont connues pour être plus minces que les fibres de type I. Les études indirectes montrent que le collagène de type III est plus extensible et plus faible que le collagène de type I. Le collagène de type V forme typiquement des hétérofibrilles avec des collagènes de types I et III. Le collagène de type V peut servir de structure centrale des fibrilles avec des collagènes de types I et III polymérisant autour de cet axe central.(246)

Ensemble, les collagènes de type I et III représentent probablement 80 à 90 % du collagène artériel total. Les collagènes de type I seraient répartis de façon homogène dans la paroi anévrismale. Les collagènes de type III seraient surtout présents dans la média. (247) Il a été rapporté que les CML synthétisent principalement du collagène de type III et une quantité plus faible de collagène de type I.(248, 249) Les fibrilles de collagène de l'adventice ont un diamètre d'environ 50-100 nm et seraient principalement produites par des fibroblastes. Les fibroblastes produisent, organisent et éliminent la matrice extracellulaire. La réparation et l'entretien des tissus conjonctifs seraient principalement réalisés par ces cellules. Inversement, la matrice extracellulaire influencerait le développement, la forme, la migration, la prolifération, la survie et la fonction des fibroblastes. La matrice de collagène est un cadre essentiel, que les fibroblastes utiliseraient comme échafaudage pour proliférer le long. Ainsi, l'orientation du collagène influencerait également l'orientation des fibroblastes et leur capacité à migrer.(247)

Il y a un processus continu de dépôt et de dégradation du collagène dans la paroi artérielle. Dans le processus de remodelage de la matrice de collagène, les fibroblastes contracteraient la matrice environnante, et le nouveau collagène matriciel serait déposé dans un état précontraint. Les molécules de collagène seraient synthétisées en quelques minutes et sécrétées en moins d'une heure par les fibroblastes. Ils s'auto-assembleraient avec d'autres molécules de collagène dans l'espace extracellulaire pour former des fibrilles et finalement des

fibres réticulées. Le renouvellement du collagène serait assez rapide dans des conditions normales avec une demi-vie de 3 à 90 jours.Les collagènes doivent être réticulés pour présenter les propriétés physiques normales de résistance à la traction.(250)

Lorsqu'une plaie apparaît dans le corps, les fibroblastes migrent vers cette plaie, prolifèrent et synthétisent une nouvelle matrice riche en collagène.(246) Les fibroblastes matures percevraient des charges appliquées à travers la matrice de collagène environnante, et une lésion artérielle entraînerait une activité cellulaire accrue dans les fibroblastes en termes de réplication, de recrutement et de synthèse de collagène.(251) De plus, une charge mécanique accrue augmente la prolifération et la production de collagène par les fibroblastes.(252) Il a été observé que les fibroblastes de la paroi anévrismale ont tendance à être allongés et qu'ils présentent souvent un alignement parallèle.(250)

Idéalement, le thrombus intraluminal est organisé par des CML, des myofibroblastes ou des fibroblastes qui synthétisent le collagène et transforment finalement le thrombus en tissu cicatriciel fibrotique stable. Les cellules peuvent être mobilisées de la paroi artérielle et aussi de la circulation en mobilisant les cellules souches de la moelle osseuse. Le thrombus peut avoir un effet délétère sur la paroi anévrismale avec déplacement de l'équilibre d'un état de cicatrisation vers la destruction et le collagène jouerait un rôle important pour apporter une meilleure cicatrisation et stabiliser l'anévrisme.(184) La matrice extracellulaire et les propriétés biomécaniques des AI et des artères cérébrales sont fondamentalement différentes.(253) Il existe quatre explications possibles aux différentes propriétés mécaniques des collagènes dans la paroi de l'anévrisme :(i) la dégradation du collagène mature dans l'anévrisme (ii) la présence de collagène de type III, (iii) l'interaction des protéoglycanes avec les fibres de collagène, et (iv) la prédominance du collagène immature dans la paroi de l'anévrisme.(246) Dans un modèle de rongeurs Aoki et al. ont clarifié l'implication de l'IL-1β et du NF-κB dans la dérégulation du pro-collagène de type I et III dans les parois de l'AI(254)

Les collagènes exercent des fonctions importantes dans le microenvironnement cellulaire et sont impliqués dans le stockage et la libération de médiateurs cellulaires, tels que les facteurs de croissance. Les collagènes contribueraient au piégeage, au stockage local et à la libération de facteurs de croissance et de cytokines et jouent donc un rôle important pendant la cicatrisation des plaies et la réparation des tissus. La régulation du collagène serait contrôlée par de nombreux facteurs de croissance comme par exemple le TGF-bêta et les facteurs de croissance de type insuline.(245)

6 Les coils bioactifs

Les coils GDC ont révolutionné le domaine de la neuroradiologie interventionnelle, en offrant une méthode endovasculaire qui pouvait être utilisée de manière sûre et fiable pour traiter les anévrismes de manière peu invasive.(255, 256) Le matériau de choix pour les coils est le platine, car c'est un métal dense inerte qui présente une grande résistance à la corrosion et aux perturbations de l'environnement chimique du corps. Il est ductile, malléable et peut être fabriqué sous forme de fil fin, surtout, il est radio-opaque et donc visible sous rayons X. Le nitinol et le tungstène n'ont pas été à la hauteur de leurs espoirs en tant que matériaux primaires en raison de leurs rigidités relatives et le tungstène se dissout dans le corps avec des traces retrouvées dans le foie.(257-260) Le nitinol, le nickel, l'iridium et le tungstène ont été utilisés pour développer des alliages permettant d'atteindre une résistance plus optimale **(Figure 20)**. Un alliage de platine (92 %)/tungstène (8 %) est devenu la référence pour la plupart des coils contemporains.(261)

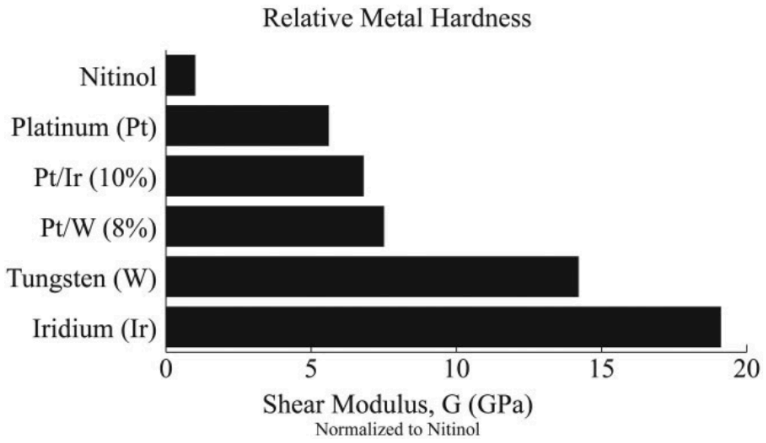


Figure 20. Métaux utilisés pour la fabrication des coils

La dureté relative des métaux et de leurs alliages couramment utilisés pour la fabrication des coils. Le G de chaque métal et alliage est référencé puis normalisé à une valeur de nitinol de 1 gigapascal (GPa). Diagramme issu de White et al.(261)

La stabilité de l'occlusion après un traitement avec des coils détachables est une question primordiale. Il est très important de fournir une protection contre la croissance ou la recanalisation de l'anévrisme, en particulier dans le cadre d'un traitement préventif des anévrismes non rompus, même si la rupture d'un anévrisme non rompu embolisé est un événement peu fréquent.(262, 263)

Depuis la conception des GDC, les recommandations pour le traitement des AI n'ont cessé d'évoluer. Bien que les traitements récemment mis au point et discutés dans le chapitre précédent aient donné des résultats prometteurs, les coils restent le dispositif de référence pour le traitement endovasculaire des anévrismes **(Figure 21)**.

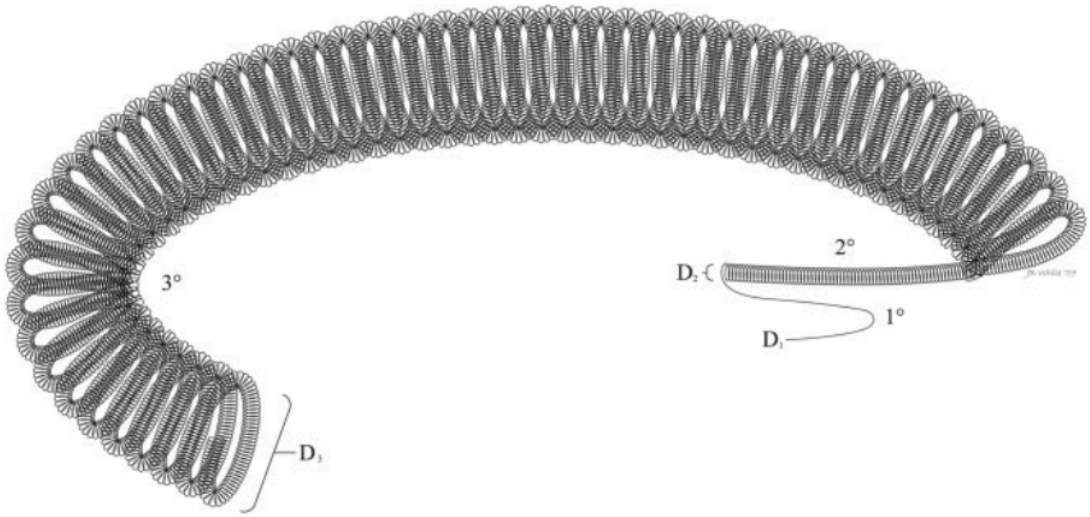


Figure 21. Structure d'un coil hélicoïdale

Dessin illustrant un coil hélicoïdal avec représentation de la configuration primaire (1°) avec D1, la configuration secondaire (2°) avec D2, et la configuration tertiaire (3°) avec D3. Figure issue de White et al.(261)

Majoration de l'impact bioactif des coils

Les coils métalliques nus sont des dispositifs de comblement constitués de métaux bio-inertes. Cependant, l'efficacité de ces dispositifs métalliques, au-delà du comblement mécanique, repose sur leur potentiel à être le support de la cicatrisation biologique de l'anévrisme. Bien que ces coils puissent parfois être support de cette cicatrisation et de la guérison de l'anévrisme par la production de thrombus et l'accélération de la cicatrisation, ils sont en certaines occasions inefficaces pour induire une prolifération néo-tissulaire et une guérison de l'anévrisme.(183, 205) L'observation des taux de récidive après le traitement avec des coils de platine nus a conduit au développement de coils hybrides en modifiant la surface métallique afin d'améliorer la cicatrisation des anévrismes.

6.1 Coils modifiés utilisés en pratique clinique

À l'heure actuelle, les traitements disponibles sont principalement orientés vers une approche mécanique avec pour objectif l'occlusion du sac anévrismal plutôt qu'une stratégie biologique recherchant la cicatrisation de la lésion, la reconstruction et la recolonisation du segment artériel pathologique. Plusieurs stratégies ont été envisagées pour le développement de coils modifiés. L'une d'elles concerne des coils avec revêtement de fibres composées de divers polymères (Dacron, Nylon, PGLA) fixées sur les coils qui peuvent être bénéfiques en induisant une stase et une thrombose intra-anévrismale **(Figure 22)**. Le VortX coil (Stryker, Boston, Massachusetts) a été l'un des premiers coils détachables avec revêtement de fibres sur le marché pour le traitement des AI, approuvé par la FDA en 2000. Il s'agissait de coils GDC avec des fibres Dacron (DuPont, Wilmington, DE). Le Sapphire (SDCf, Dendron/MTI) était un autre type de coil à usage clinique. Les fibres de dacron comparées aux fibres de nylon sont plus thrombogènes mais en raison de complications thromboemboliques, elles ont été abandonnées pour le traitement des AI.(264, 265) Le coil Nexus (Ev3/Covidien, Irvine, CA, USA) est constitué d'un coil interne en alliage de platine/nitinol avec de multiples excroissances de filaments polyglycoliques (PGPLA). Le coil Axium FX (Medtronic) est un coil de platine avec des microfilaments de nylon ou de PGLA distincts interposés entre les spires de coil. La technologie Lattice FX est censée fournir d'importants effets hémodynamiques intra-anévrismaux en plus de l'activité biologique relative au PGLA. Bien que le concept de coils avec revêtement de fibres soit intéressant, ils n'ont jamais été répandus pour le traitement des AI.(266) Plusieurs études monocentriques ont montré une amélioration des taux d'occlusion malgré une faible densité de packing, cependant les registres prospectifs et multicentriques ayant évalué les coils Nexus ou les coils Axium FX n'ont pas mis en évidence une meilleure efficacité pour prévenir la recanalisation des anévrismes par rapport aux coils nus.(258, 267-269)

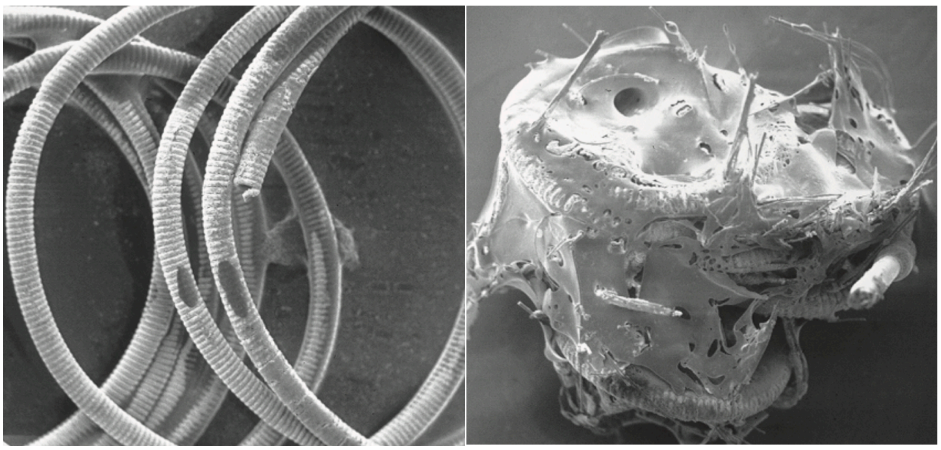


Figure 22. Coïl nu vs avec revêtement en fibre

Images de microscope électronique avec à *gauche* : coil nu ; *à droite* : coil avec revêtement de fibres, après exposition à du sang pendant trois minutes et application de courant direct de 0.1mA/4V. Images issues de Liebeg et al.(264)

6.1.1 Coïls contenant de l'acide polyglycolique polylactique (PGPLA)

L'acide polyglycolique a un profil de sécurité élevé pour les humains et il est couramment utilisé dans les sutures telles que le Vicryl (Ethicon, Cincinnati, Ohio). Les coils contenants du PGPLA une fois implantés dans l'anévrisme, le polymère s'hydrolyse en réponse au flux sanguin, ce qui entraîne une réponse inflammatoire. Ils sont destinés à induire du thrombus intra-anévrismal structuré plus rapidement et à provoquer une prolifération néo-endothéliale plus rapide au collet de l'anévrisme.

Les coils contenants du PGPLA pour l'embolisation de l'AI sont les coils Matrix, Cerecyte et Axium FX. La première formulation du système de coil détachable Matrix (Stryker, Kalamazoo, Michigan) était un coil en alliage de tungstène platine recouvert d'un polymère biocompatible absorbable constitué à 90% de polyglycolide et 10% de polylactide. Pour les coils Matrix le PGLA est présent sur la surface externe du coil. Les coils de Cerecyte (Cerenovus Johnson&Johnson) divergent des coils Matrix car l'acide polyglycolique est localisé dans l'espace situé entre les spires du coil et non pas à la surface du coil **(Figure 23)**.

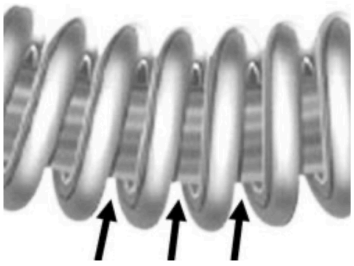


Figure 23. Coïl Cerecyte

Dessin d'un coil de Cerecyte, consistant de spirale de platine avec de l'acide polyglycolique (PGA) dans la lumière interne des spires de platine (flèches). Cela donne également une résistance à l'étirement lors de la mise en place des coils dans l'anévrisme. Il y a un espace entre les spires de platine pour que l'eau passe à l'intérieur, ce qui conduit à l'hydrolyse du PGA dans le coil. Image issue de Bendszus et al. (270)

Les coils Matrix ont montré des résultats aléatoires et une importante friction des coils dans le microcathéter a également été signalée.(271-273) Après révision, les coils Matrix 2 (Stryker, Kalamazoo, Michigan) ont été développés avec un filament à l'intérieur de la configuration secondaire du coil limitant le degré de perte de volume du coil après la dissolution de PGLA.

Les caractéristiques histopathologiques des coils de platine nu (GDC), des coils avec revêtement de fibres (VortX) et des coils de PGPLA (Matrix2) ont été comparées dans une étude expérimentale et ont montré que dans le groupe PGPLA la fibrose était plus importante que les autres groupes. Parallèlement, les coils avec revêtement de fibres induisaient une inflammation plus importante avec l'infiltration par des cellules géantes à corps étranger à la phase chronique. Cette étude a confirmé l'intérêt des coils PGPLA et les coils avec revêtement de fibres dans le processus de guérison des anévrismes, mais en situation clinique, plusieurs autres facteurs entrent en jeu.(274) De même que les coils avec revêtement de fibres, plusieurs études observationnelles ont permis d'établir la stabilité du traitement par coils PGPLA par rapport aux coils de platine nu standard, néanmoins, les essais randomisés MAPS et Cerecyte Coil Trial n'ont pas révélé de différences en termes de retraitement ou en termes de résultat radiologique entre le PGPLA et les coils de platine nu.(275, 276) De plus, ces essais ont mis en évidence un résultat clinique inférieur à la sortie d'hospitalisation pour la cohorte d'anévrismes rompus lorsque les coils de PGPLA ont été utilisés.(277-279)

6.1.2 Hydrocoils

Les coils Hydrogel (Microvention, Terumo) sont des coils de platine recouvert d'un polymère acrylique (hydrogel). L'hydrogel n'induit pas de réaction inflammatoire, mais lorsqu'il entre en contact avec le sang les chaînes polymères se démêlent, il absorbe de l'eau et déclenche un gonflement volumétrique dans l'espace mort augmentant ainsi la densité de packing avec le volume maximal atteint à 20 min. La formulation initiale à base d'acrylamide pouvait absorber quatre fois son volume lors du déploiement dans un environnement aqueux. Les expériences précoces avec les Hydrocoils de première génération ont montré une très nette augmentation du packing des anévrismes par rapport aux coils de platine standard (72 % contre 32 %) et ont confirmé une diminution du taux de récurrence.(196, 280) Le temps du déploiement des coils était limité à 5 minutes et ce temps de travail limité pouvait être source de complications. Le délai d'expansion de l'hydrogel et la migration secondaire des coils pouvait potentiellement compromettre l'artère porteuse (2 %).(281) Ces inconvénients ont conduit au développement de nouvelles générations d'hydroCoils avec les coils HydroSoft et Hydroframe pour lesquels est utilisée une quantité réduite de gel avec une nouvelle formulation **(Figure 24)**. Dans l'étude HELP le taux de recanalisation était de 24 à 30 % à 18 mois sans différence dans les résultats radiographiques ou cliniques entre les hydrocoils ou les coils de platine nu. De plus, 5 cas d'hydrocéphalie inexpliquée ont été observés dans le groupe Hydrocoils.(282) L'étude HEAT publiée en 2018 est un essai randomisé multicentrique comparant les hydrocoils de deuxième génération à des coils de platine nu pendant une période de suivi de deux ans, un effet supérieur des coils Hydrogel a été révélé. Le critère principal était le taux de recanalisation qui était de 15,4 % dans le groupe des coils standard contre 4,4 % dans le groupe Hydrogel sur l'échelle de Raymond Roy ($P<.001$). L'effet bénéfique des Hydrocoils a été démontré tant pour les anévrismes rompus que pour les anévrismes non rompus. La densité de packing était également significativement plus élevée dans le groupe hydrogel.(283) L'étude randomisée PRET n'a pas montré de supériorité des Hydrocoils par rapport des coils nus pour les anévrismes larges ou récidivants en terme de recanalisation. (284)

1. Système Hydrocoil 2. Système Hydrosoft

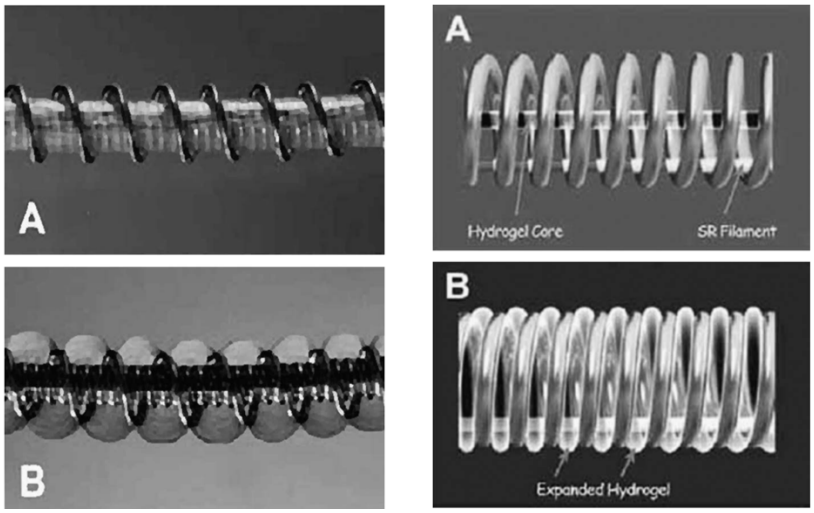


Figure 24. Hydrocoils de 1ère et 2ème génération

1. État avant (A) et après expansion (B) du système HydroCoil (MicroVention, Aliso Viejo, CA). Une couche extérieure d'hydrogel enveloppe le noyau de platine interne. 2. État avant (A) et après expansion (B) du système Hydrosoft (MicroVention, Aliso Viejo, CA). Dans la spirale de platine externe se trouve le noyau hydrogel interne. Images issue de Guo et al.(285)

6.2 Matériels d’embolisation en développement

6.2.1 Thérapie cellulaire

Le but du TEV des AI théoriquement serait de supporter une cicatrisation du sac anévrismal, par la formation d’un thrombus restreint en activités protéolytiques, et sans risque thrombotique pour les artères porteuses. La stratégie biologique vise des objectifs plus ambitieux encore, avec pour intention d’altérer la biologie péjorative de la paroi artérielle pour régénérer le segment artériel pathologique plutôt qu’une occlusion mécanique par simple remplissage.

La thérapie cellulaire est une option attrayante qui consiste en l'administration d'un grand nombre de cellules pour favoriser la régénération tissulaire et la guérison de l'anévrisme. Plusieurs processus cellulaires peuvent être ciblés avec la thérapie cellulaire pour inhiber la recanalisation de l’anévrisme. Les résultats d'études histopathologiques et de biologie moléculaire sont exploités pour mettre en œuvre de nouvelles stratégies visant à améliorer la guérison de l'anévrisme.

6.2.1.1 Cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV)

Les études précliniques ont mis l'accent sur le rôle important de la CMLV dans la pathologie et la guérison des anévrismes.(216, 238, 286) Les CML sont les éléments cellulaires constitutifs des vaisseaux sanguins qui donnent l'intégrité structurale et assurent la régulation du flux sanguin local en entraînant une constriction ou une relaxation des vaisseaux.(287) Les CML vasculaires sont principalement concentrées dans la média et produisent la matrice extracellulaire (MEC) qui est l'élément principal de la paroi artérielle. Les transformations structurelles et pathologiques des CML vasculaires sont impliquées dans la progression et la rupture des AI. Suite à une lésion des cellules endothéliales (CE) les CML vasculaires se multiplient et se déplacent vers l’intima, en générant une hyperplasie myointimale.(288) Les CML vasculaires contractiles (différenciées) se démarquent en CML vasculaires synthétiques (non différenciées). Les CML vasculaires contractiles sont dominantes dans les artères adultes normales et ont des fonctions opposées à celles des CML vasculaires synthétiques, qui sont plus actives pendant la dégénérescence de la paroi.(289) Après une lésion, le type contractile change de phénotype en type synthétique, qui a une activité de synthèse élevée de MEC.

L'inflammation et la stimulation hémodynamique sont les deux principales raisons de l'apoptose des CML vasculaires dans la pathogenèse des AI.(290) La disparition des CML vasculaires est l'étape finale de la cascade des incidents conduisant à la rupture de l'anévrisme.

Une approche thérapeutique possible consiste à rétablir l'équilibre dans la production de collagène en renouvelant les CML vasculaires perdues avec des CML vasculaires exogènes. La substitution de CML autologues pourrait améliorer l'épaississement de l'intima en déposant la matrice extracellulaire. Les expériences sur les animaux ont prouvé que l'embolisation des anévrismes avec les CML mène à une intima plus épaisse, augmente la teneur en élastine de la média et diminue la croissance de l'anévrisme par rapport aux témoins.(291, 292) Ces études sur les animaux soulignent que l'administration de CML vasculaires autologues, directe ou sur des coils a le potentiel de favoriser la guérison des anévrismes humains, bien que les protocoles d'isolement des CML vasculaires sont invasifs par nature, car il est nécessaire d'exposer les artères chirurgicalement.(287, 293) Ces limites pratiques sont probablement la raison pour laquelle les CML vasculaires n'ont pas encore été utilisées dans des essais cliniques.

6.2.1.2 Fibroblastes

Les fibroblastes semblent être essentiels à la guérison des AI. En réaction à l'inflammation, ils migrent vers la lésion, favorisent la synthèse et le dépôt de collagène, puis ils se différencient en myofibroblastes qui sont responsables de la contraction des tissus de granulation et des rétractions des tissus mous avant de subir l'apoptose.(183, 294) Des études histopathologiques ont confirmé que les myofibroblastes sont des acteurs importants dans la guérison du dôme de l'anévrisme.(192, 295) L'administration intra-anévismale de fibroblastes génétiquement modifiés sur les coils GDC ont montré une amélioration de la prolifération et de la migration cellulaire sur les coils modifiés avec des couches protéiques in vitro.(296, 297) Les études précliniques suggèrent que l'administration de fibroblastes à l'intérieur de l'anévrisme pourrait seulement augmenter la vitesse, mais pas le degré de guérison.(298, 299) Les fibroblastes sur coils ont l'avantage de pouvoir être délivrés localement sans occlusion distale de l'artère, mais la méthode n'est pas idéale, car elle est limitée par la petite surface des coils, le faible taux de survie des cellules et la perte de cellules pendant la navigation du coil.(300)

6.2.1.3 Cellules Progénitrice Endothéliale (CPE)

Les CPE sont des cellules de lignée déterminée provenant de précurseurs hématopoïétiques majoritairement présentes dans la moelle osseuse. Après l'activation de différents facteurs, elles migrent vers le sang périphérique vers les zones ayant des dommages endothéliaux pour commencer le processus réparateur en sécrétant une variété de cytokines pro-angiogéniques et anti-inflammatoires. Elles sont impliquées dans le maintien de l'homéostasie vasculaire et dans le maintien de l'intégrité endothéliale. Les CPE contribuent à la néoangiogenèse dans les lésions vasculaire et sont impliquées dans la cicatrisation des anévrismes et l'endothélialisation au collet de l'anévrisme.(301) Les CPE sont aussi des biomarqueurs utiles pour l'analyse de la fonction endothéliale et de l'intégrité vasculaire.(302, 303) Une corrélation a été démontrée entre l'absence de CPE circulante et l'incidence des AI.(304) Des CPE ont été implantées avec succès dans des anévrismes dans plusieurs études précliniques avec une occlusion angiographique améliorée et une meilleure guérison histologique.(185, 305, 306) L'utilisation de CPE autologues pour la guérison des anévrismes est potentiellement limitée aux anévrismes non rompus, car un certain temps est nécessaire pour leur isolement et leur culture *ex vivo*. L'utilisation de cellules allogéniques, ou de facteurs de croissance, pourrait augmenter l'utilisation de cette technologie pour les anévrismes rompus nécessitant un traitement en urgence.

6.2.1.4 Cellules Souches Mésenchymateuses (CSM)

Les CSM sont des cellules souches pluripotentes non hématopoïétiques qui peuvent migrer et se greffer dans différents tissus et peuvent se différencier en différents types de cellules dans les tissus adultes lorsque l'environnement local leur est favorable. La différenciation peut se faire en cellules mésenchymateuses à sécrétion de MEC, mais aussi en myofibroblastes vasculaires qui pourraient soutenir la guérison des lésions mécaniques dans les artères.(307) Elles peuvent avoir un effet anti-inflammatoire local et systémique par divers mécanismes. Elles présentent également des capacités immunomodulatrices.(308) Aucun effet secondaire aigu n'a été observé après la perfusion intraveineuse de CSM chez les humains. Elles déclenchent la disparition de réaction du greffon contre l'hôte et ont une influence sur l'hématopoïèse entraînant une récupération hématopoïétique rapide.(309, 310) Les CSM semblent de très bons candidats pour la thérapie des cellules anévrismales en raison de leur caractère immunomodulateur et leur facilité de mise en culture. Elles sont plus faciles à prélever

sur les humains, permettant une greffe autologue et éviter les problèmes d'histocompatibilité traditionnellement constatés dans un contexte de greffe allogénique. Les CSM sont aisément recueillies par aspiration au niveau de la crête iliaque sous anesthésie locale. Elles sont isolées de la moelle osseuse par adhésion au plastique et il est possible de les amplifier par culture *ex vivo*. Elles ont de plus la propriété de n'être ni tumorogènes ni immunogènes et de ne pas susciter de questions éthiques associées à l'utilisation des cellules souches embryonnaires.(311, 312) Finalement, les CSM sont peu immunogènes, car elles expriment des molécules HLA de classe I, mais n'expriment pas de molécule HLA de classe II.(308) Ces cellules sont déjà largement utilisées dans plus de 600 essais de thérapie cellulaire pour d'autres indications.(313) Kuwabara et al. ont rapporté qu'une perfusion intraveineuse de CSM après la formation d'anévrisme aurait empêché la rupture anévrismale chez les souris. Le mécanisme d'implication des CSM dans la guérison des anévrismes intracrâniens semble être en partie médié par la stabilisation des mastocytes.(314) Rouchaud et al. en 2013 dans un modèle d'élastase de lapin ont injecté sous protection d'un ballon gonflé pendant 20 min, 5 millions de CSM autologues à l'intérieur d'anévrismes expérimentaux. Des signes de guérison de la paroi artérielle ont été observés avec colonisation cellulaire, hyperplasie intimale et la réduction de taille des anévrismes, tandis que les anévrismes dans le groupe placebo ont continué d'augmenter en taille.(315) Adibi et al. en 2016 ont également obtenus des résultats similaires dans un modèle à l'élastase chez le lapin en effectuant un coiling avec injection intra-anévrismale de 5 millions de CSM allogéniques avec 4 semaines de suivi. Le résultat final n'a pas montré de différence significative dans les résultats angiographiques mais une amélioration histologique dans les anévrismes traités par CSM et coils suggérant la capacité d'améliorer la guérison de l'anévrisme et la formation de néointima.(313) Dans la lignée de ces études, Rouchaud et al. ont publié en 2018 l'intérêt de CSM issues d'adipocytes autologues recouvrant les coils dans un modèle d'élastase de lapin et ont montré que les CSM couvrant les coils amélioraient significativement la guérison biologique des anévrismes avec une meilleure endothélialisation du collet et la formation de la matrice de collagène dans le sac de l'anévrisme. Cependant, les résultats angiographiques étaient meilleurs dans le groupe témoin. (316)

6.2.2 Protéines, Facteurs de Croissance, Nanoparticules

6.2.2.1 Osteopontin; Métalloprotéinases; Interleukine 10 (IL-10)

- L' ostéopontine (OPN) est une molécule d'adhésion cellulaire à effet anti-apoptotique qui stimule la prolifération, la migration et l'adhésion des cellules endothéliales et des CML engagées dans le processus de remodelage et de réparation vasculaire.(220)
- Le rôle des métalloprotéinases (MMP) dans la guérison des anévrismes est plus ambigu. Il est possible que l'expression MMP-9 ait des caractéristiques inhibitrices, mais aussi bénéfiques pour la guérison de l'anévrisme.(74, 183, 234, 317-320)
- L'interleukine 10 (IL-10) est une cytokine anti-inflammatoire clé, qui peut inhiber les réponses pro-inflammatoires des cellules immunitaires innées et adaptatives. L'IL 10 supprime la production de cytokines anti-inflammatoires, y compris l'IL-6.(321)

Dans un modèle d'anévrisme chez le rat, des coils de PGLA étaient enrobés de protéines OPN, MMP-9 ou IL-10 et implantés dans les anévrismes. Il a été observé que les coils enrobés de l'OPN et de l'IL-10 pouvaient considérablement accélérer la croissance des tissus, tandis que les coils enrobés de MMP-9 n'avaient pas d'influence sur la croissance des tissus par rapport aux coils PGLA standard.(322)

6.2.2.2 Angiopoietin-1 (Ang-1)

En 2018, Lu et al. ont étudié dans un modèle chez le rat le rôle de Ang-1 sur la régulation des CPE et son effet sur la guérison de l'anévrisme. Deux semaines après coiling, la surexpression de l'Ang-1 a considérablement accru la formation, la migration et la capacité de prolifération des CPE *in vitro*. Les CPE modifiées par le gène de l'Ang-1 ont intensifié l'organisation dans les anévrismes et l'occlusion du collet de l'anévrisme.(323)

6.2.2.3 Facteurs de croissance

Les facteurs de croissance ont un impact sur la vitesse de réparation, la résistance de la lésion et la quantité de tissu cicatriciel développé. Les récepteurs TGF- ß, VEGF et bFGF ont été associés au remodelage de la paroi des AI sacculaires, mettant en évidence la possibilité que

ces récepteurs puissent être des cibles pour les implants endovasculaires bioactifs ou la pharmacothérapie destinée à renforcer la paroi des AI sacculaires.(84)

- Le *facteur de croissance endothéliale vasculaire* (VEGF), également connu sous le nom de facteur de perméabilité vasculaire est impliqué dans l'induction de la perméabilité endothéliale des cellules et de la prolifération vasculaire, essentielle à la guérison des plaies. Différents types cellulaires le produisent, y compris les CML vasculaires. Les cellules endothéliales possèdent leurs récepteurs, et leur comportement mitogène est sélectif pour les cellules endothéliales. Il s'agit d'une glycoprotéine de signalisation essentielle impliquée dans l'angiogenèse, qui peut améliorer l'organisation du caillot et stimuler la formation d'endothélium à travers le collet de l'anévrisme et inhibe la fuite dans la zone coilée. Dans un modèle d'anévrisme chez le rat, les coils recouverts de VEGF intensifiaient l'organisation du caillot et remplissaient entièrement la cavité anévrismale, mais la prolifération des cellules endothéliales n'a pas pu être observée au niveau du collet de l'anévrisme.(324)
- Le *monoocyte Chemoattractant Protein 1* (MCP-1) régule la migration et l'infiltration de monocytes/macrophages vers des sites d'inflammation, de néovascularisation et de lésions vasculaires et peut être modulé par le VEGF. Des coils de platine recouverts de médiateurs d'inflammation comme le VEGF et le MCP-1 ont également été expérimentés dans divers modèles animaux et ont révélé une amélioration significative de la prolifération tissulaire.(325-327)
- Le *facteur de croissance des fibroblastes* (FGF) stimule la prolifération et la migration des fibroblastes, des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales, ainsi que la production cellulaire de collagène de type I qui est sensé favoriser la fibrose dans les anévrismes. Le FGF peut induire la différenciation des cellules souches, mais il est également connu pour avoir des effets secondaires, y compris l'hypotension, la tachycardie, la tachypnée et l'oncogenèse.(328) Les coils revêtus de FGF ont révélé un certain succès dans des études animales, mais des problèmes tels que l'instabilité des facteurs de croissance, la cinétique de délivrance sous-optimale, les difficultés de navigabilité, ont empêché ces systèmes de passer aux essais cliniques.(329-334)
- Le *Transforming growth factor-ß* (TGF-ß), est un facteur moléculaire crucial de renforcement de la paroi tout au long du développement vasculaire, qui améliore la couverture cellulaire épithéliale et induit des fibroblastes pour générer du collagène de

type I et de la fibronectine. Le TGF-ß est libéré des plaquettes et affecte différentes cellules associées à la cicatrisation des plaies. Il déclenche l'expression des gènes de collagène fibrillaire et d'élastine, augmente l'expression du facteur de croissance du tissu conjonctif (CTGF), qui peut induire des processus cellulaires incluant la migration, l'adhésion, la prolifération et la synthèse de la matrice extracellulaire. En outre, il stimule les CML vasculaires et intervient dans la régulation à la baisse de l'inflammation. Le TGF-ß peut stimuler les cellules néointimales *in vitro* et la formation de néointima *in vivo*, mais le TGF-ß 1 et les extraits de plaquettes ne compensent pas une thrombose déficiente dans les anévrismes canins. Les effets sur les résultats à long terme de l'embolisation n'étaient pas concluants dans l'étude de Desfaits et al.(335) Raymond et al. ont réussi l'administration du facteur de croissance avec de l'alginate dans un modèle chez le chien, mais ils ont conclu que des modifications de formulation et un contrôle endovasculaire amélioré étaient nécessaires avant d'envisager son utilisation dans des AI.(336) L'étude préclinique de coils de platine couverts de TGF-ß a permis d'observer une infiltration cellulaire amplifiée et l'organisation du caillot adhérant aux coils avec une couverture cellulaire plus rapide que les coils de platine standard. Cependant, ces réactions histologiques positives n'ont été observées qu'aux premières phases de l'embolisation et ont eu tendance à disparaître plus tard, ce qui laisse supposer que le traitement par médiation par le TGF-bêta pourrait ne pas s'avérer cliniquement utile à long terme.(337)

6.2.2.4 SEK-1005

Le stockage prolongé des coils recouverts de facteurs de croissance est un défi persistant, car les facteurs de croissance sont fragiles à température ambiante. Des coils recouverts de molécules plus stables, comme par exemple SEK-1005, un peptide déclencheur du TGF ß connu pour soutenir la guérison des plaies, ont également été évalués. Bien que cette stratégie ait accéléré la guérison d'anévrismes chez le rat, le revêtement inégal des facteurs de croissance sur les coils était un problème. L'autre limite de l'étude était que les coils SEK-1005 n'étaient pas livrés dans un microcathéter et qu'on ne pouvait exclure la possibilité d'endommagement du revêtement dans le microcathéter.(338)

6.2.2.5 Tenascin C

Hamada et al. ont créé des coils de platine avec la ténascine-C, une protéine reconnue pour soutenir la fibrose, chargée dans un noyau de sulfate de Gellan. Le sulfate de Gellan est une molécule semblable à l'héparine qui se lie fortement à la ténascine-C, fournissant une libération graduelle et contrôlée(339). Des études précliniques ont montré une amélioration de la réorganisation tissulaire au collet de l'anévrisme et une organisation plus favorable du caillot intra-anévrismal, ce qui pourrait conduire à une amélioration de la réorganisation tissulaire.(340, 341)

6.2.2.6 Stromal cell-Derived Factor-1α (SDF-1α)

Le SDF-1α (CXCL12) est impliqué dans la guérison des plaies. L'utilisation du revêtement SDF-1α sur les coils de platine pour l'occlusion des anévrismes était censée recruter des CPE dans les tissus endommagés et accélérer la réparation vasculaire. La libération continue de SDF-1α a été réalisée en utilisant la fibroïne de soie comme support. Il a été observé une libération constante du facteur de croissance au fil du temps, ce qui a permis d'améliorer l'organisation tissulaire.(342) Dans une autre étude dans un modèle d'anévrisme chez le rat traité avec des coils enduits de SDF-1α et couverts de CSM ou de CPE comparativement à des coils de platine nus, la transplantation accélère efficacement l'organisation intra-anévrismale, et les coils enduits de SDF-1α avec CPE facilitent l'endothélialisation du collet de l'anévrisme(342).

6.2.2.7 Nanoparticules

Des particules magnétiques micrométriques ont également été étudiées pour le traitement des anévrismes. Les microparticules magnétiques sont généralement composées d'un noyau constitué de matériaux magnétiques comme les oxydes de fer et d'une coque externe faite de polymères naturels ou synthétiques.(343) Aucun effet aigu ou subaigu toxique ou mutagène n'a été détecté dans ces études. Le revêtement du cœur magnétique est d'une importance majeure puisqu'il protège les nanoparticules de la corrosion dans l'environnement aqueux du sang.(344) Dans une étude utilisant un modèle d'anévrisme chez le lapin, des microparticules magnétiques ont été délivrées par cathéter et ont été naviguées jusqu'au fundus de l'anévrisme par application d'un aimant externe, assurant une contrainte mécanique de la circulation sanguine intra-anévrismale. L'exclusion totale de l'anévrisme a été observée même 30 min après

le retrait du champ magnétique dans le groupe traité, mais des études angiographiques de suivi à long terme ont montré une recanalisation partielle de l'anévrisme **(Figure 25)**. De telles recherches offrent une possibilité thérapeutique innovante pour l'administration ciblée de microparticules à l'intérieur d'un anévrisme, même si les exigences techniques de l'orientation magnétique chez l'homme nécessitent plus de développements et de nouvelles recherches.(345)

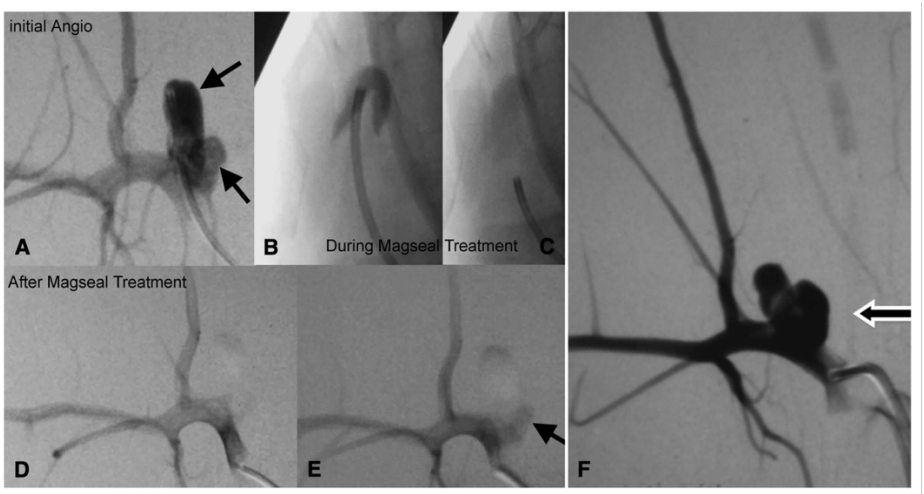


Figure 25. Traitement endovasculaire à l'aide de microparticules magnétiques.

A, angiographie initiale montrant l'anévrisme induit expérimentalement avec succès. B et C, fluoroscopie pendant le traitement aux microparticules magnétiques. D, anévrisme après injection de microparticules magnétiques se présentant sans flux sanguin intraluminal. E, les résultats sont stables pendant 30 minutes après l'élimination du champ magnétique. F, cependant, lors du suivi après 12 semaines, l'anévrisme est partiellement recanalisé. Images issues de Oechtering et al.(345)

6.2.3 Modifications des coils à base de polymères

6.2.3.1 Coïls en polymère à mémoire de forme (Shape Memory Polymers- SMP)

Le principe des coils SMP est de délivrer les SMP par l'intermédiaire d'un microcathéter dans une forme comprimée de façon transitoire et de lui permettre ensuite de s'étendre à sa forme permanente dans l'anévrisme via un stimulus externe. L'eau, la lumière et la chaleur peuvent être appliquées pour activer l'aspect mémoire de la forme. Lorsque la forme programmée est restaurée, l'anévrisme est comblé et un caillot est rapidement généré, rendant possible la guérison de l'anévrisme.(346) Les coils recouverts de SMP peuvent s'étendre pour remplir plus d'espace et favoriser en outre une guérison plus complète du dôme et du collet de l'anévrisme par rapport aux coils de platine nus in vivo.(347)

6.2.3.2 Mousses SMP

Parmi les technologies en cours de développement pour le traitement des anévrismes l'un des plus matures est la mousse SMP. Les mousses SMP sont des matériaux à base de polyuréthane qui ont le potentiel d'être fabriqués dans n'importe quelle forme. Les propriétés modulables et le temps de restauration de la forme voulue sont quelques-unes des fonctionnalités intelligentes des mousses SMP. Ces mousses déclenchent la cascade de coagulation et sont efficaces pour obstruer rapidement les vaisseaux dans les modèles *in vivo*.(348) En outre, ils ont démontré une occlusion efficace des anévrismes *in vivo* avec une réaction inflammatoire modeste et ont de nombreuses qualités favorables comme matériau d'embolisation pour les anévrismes, y compris le dimensionnement réglable des pores pour une infiltration cellulaire idéale, une excellente occlusion volumique, la flexibilité du dispositif, une réduction du stress de récupération circonférentiel, une bonne biocompatibilité et une radio-opacité**(Figure 26)**.(349-353)

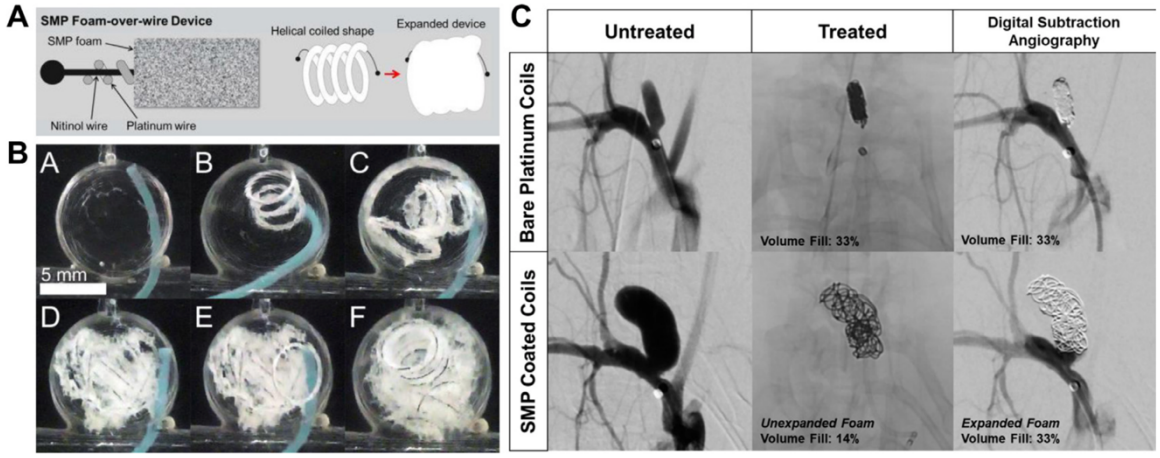


Figure 26. Mousse SPM

(A)Schéma de fabrication d'un dispositif SPM foam-over-wire; (B) Distribution in vitro du dispositif; et (C) Embolisation avec un coil revêtue de mousse pour le traitement d'anévrisme dans un modèle d'élastase chez le lapin. Le remplissage en volume des coils enrobés de SMP est le même que celui des coils de platine nue. Figure issue de Wang et al.(354)

6.2.3.3 Coil in gel et gel in shell

Moftakhar et al. ont mis au point deux versions d'un nouveau dispositif d'occlusion intra-sacculaire d'anévrisme qui a fait l'objet d'une publication en 2015 dans le cadre d'une étude pilote. Le premier modèle, connu sous le nom de *coil in gel*, est constitué d'un seul fil d'acier de nitinol-titane d'un diamètre de 6 à 10 mm comprenant une enveloppe polymérique composée d'un acide polyuréthane hyaluronique (PU-HA) très élastique, translucide, biocompatible et hémocompatible. Le deuxième modèle, appelé *gel in shell*, est constitué d'un hydrogel enfermé dans une coquille polymère fabriquée à partir d'alginate de sodium et de PU-HA. Une fois le dispositif intra-sacculaire placé dans l'anévrisme, une suspension d'alginate est administrée dans la coquille PU-HA. Cette formule d'alginate a été choisie pour obtenir une gélification progressive contrôlée qui est complète en 15 minutes. Les deux dispositifs ont été implantés dans des anévrismes de paroi latérale créés par chirurgie chez des porcs pour des études d'occlusion aiguë, également dans des anévrismes de paroi latérale et de bifurcation chez des chiens, afin de tester l'efficacité à long terme de l'occlusion. L'évaluation angiographique a démontré que les deux dispositifs ont assuré une occlusion totale des anévrismes immédiatement après la mise en place du dispositif dans les anévrismes de paroi latérale chez les porcs. Dans les études à long terme chez le chien, l'occlusion initiale variait de 71,3 à 100 %, et a été durable sans recanalisation dans aucun des anévrismes de paroi latérale à 6 ou 12 semaines. Une évaluation histologique de 12 semaines a révélé que le tissu fibro-musculaire était entièrement développé au collet de l'anévrisme sans réaction inflammatoire importante. La conclusion de l'étude était que les deux dispositifs se révélaient prometteurs en ce qui concerne l'occlusion initiale et à long terme des anévrismes et qu'il était nécessaire d'effectuer des recherches supplémentaires sur ces dispositifs pour le déploiement par voie endovasculaire. (355)

7 Résumé des options biologiques actuelles pour l'optimisation biologique du traitement par coils.

Nous avons publié un article de revue concernant les différentes options biologiques pour l'optimisation du traitement par coils. Cet article intitulé « *Bioactive refinement for endosaccular treatment of intracranial aneurysms* » a été publié dans *The Neuroradiology Journal*. Szatmary Z, Mounier J, Janot K, Cortese J, Couquet C, Chaubet F, Kadirvel R, Bardet SM, Mounayer C, Rouchaud A. Bioactive refinement for endosaccular treatment of intracranial aneurysms. Neuroradiol J. 2021 Jul 1:19714009211024631.doi: 10.1177/19714009211024631. Epub ahead of print. PMID: 34210195.

La figure récapitulative de l'article est présentée ci-dessous (**Figure 27**).

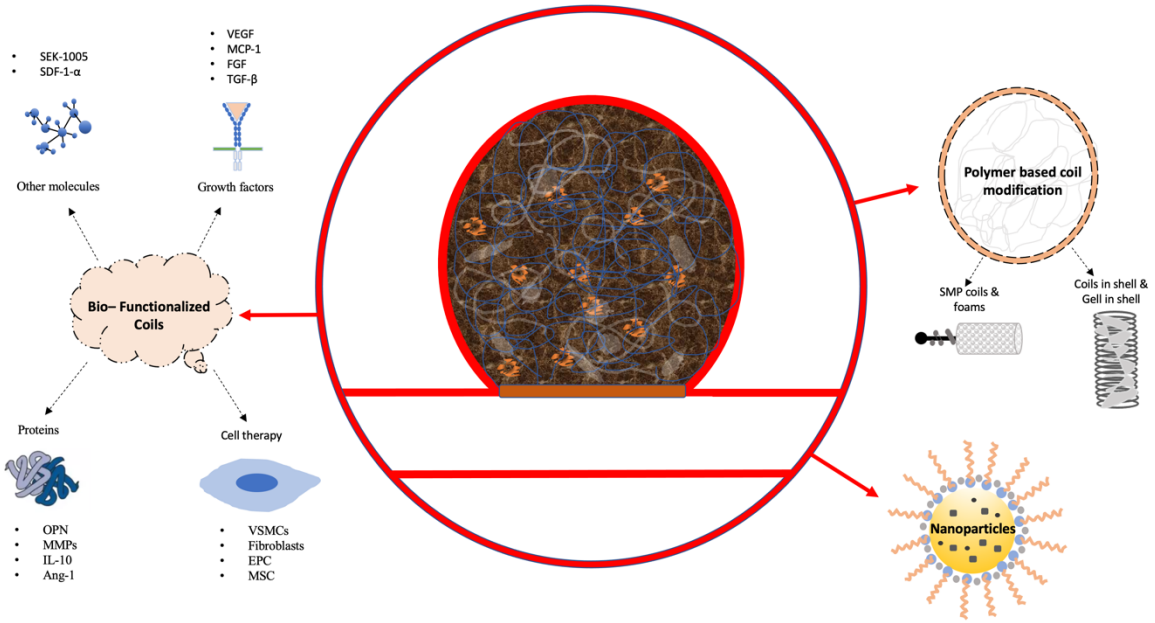


Figure 27. Différentes stratégies de modification de surface dans le développement des coils

VSMCs : *Vascular Smooth Muscle Cells*; EPC: *Endothelial Progenitor cells*; MSC: *Mesenchymal Stem/Stromal cells*; OPN: *Osteopontin*; MMPs: *Matrix Metalloproteinase*; IL-10: *Interleukin 10* Ang-1: *Angiopoietin-1* VEGF: *Vascular endothelial growth factor* MCP-1: *Monocyte Chemoattractant Protein* 1; FGF: *Fibroblast Growth Factor*; TGF-β: *Transforming growth factor-ß*; SDF-1-α: *Stromal cell-Derived Factor-1α* Szatmary et al.

Check for updates

Review Article

NRJ

The Neuroradiology Journal
0(0) 1–8
© The Author(s) 2021
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/19714009211024631
journals.sagepub.com/home/neu
SAGE

Bioactive refinement for endosaccular treatment of intracranial aneurysms

Zoltan Szatmary[1,2], Jérémy Mounier[2], Kevin Janot[2,3], Jonathan Cortese[2,4], Claude Couquet[2], Frédéric Chaubet[5,6], Ramanathan Kadirvel[7], Sylvia M Bardet[2], Charbel Mounayer[1,2] and Aymeric Rouchaud[1,2]

Abstract

Endovascular treatment is the first-line therapy for most intracranial aneurysms; however, recanalisation remains a major limitation. Developments in bioengineering and material science have led to a novel generation of coil technologies for aneurysm embolisation that address clinical challenges of aneurysm recurrence. This review presents an overview of modified surface coil technologies and summarises the state of the art regarding their efficacy and limitations based on experimental and clinical results. We also present potential perspectives to develop biologically optimised devices.

Keywords

Intracranial aneurysm, healing, bioactive, review, coils, biological optimisation, endovascular treatment

Introduction

The introduction in the early 1990s of Guglielmi detachable coils (GDCs) revolutionised the field of neurointervention, offering an endovascular method which could be safely and consistently used to treat aneurysms in a minimally invasive way. A platinum (92%)/tungsten (8%) alloy has become the core substance for most contemporary coil designs.[1]

The aim of aneurysm coiling is to fill the aneurysm sac in order to isolate it completely from the parent vessel. Recanalisation is a major limitation of coil embolisation, with recurrence in 5–20% for small aneurysms and up to 50% for giant aneurysms.[2]

Since the conception of the GDC, endovascular treatment techniques and management recommendations for intracranial aneurysms (IAs) have constantly evolved, nevertheless coils are still widely utilised. In this article, we discuss recurrence mechanisms and focus on biological modifications of coil attributes, materials and particularly coil surfaces developments. Finally, we also offer potential perspectives to develop biologically optimised devices.

Aneurysm healing

The healing mechanism of aneurysms after bare platinum coiling involves several steps in a dynamic and progressive fashion. Coil delivery in the aneurysm causes blood stagnation resulting in the formation of unorganised thrombus around the coil mass. During the first month there is progressive inflammatory cell and myofibroblast invasion in the aneurysm dome to support collagen synthesis. At around 3 months in the aneurysm dome inflammatory cells disappear and it is mostly composed of vascularised loose hypocellular tissue. After a year usually the coils are embedded in the aneurysm wall, the dome is filled with vascular fibrous connective tissue. Around the coils a foreign body reaction is witnessed with multinucleated giant cells enveloping the coils. The aneurysm neck biology is different from the dome. Along the coil surface of the neck a fibrin layer forms by proliferation of mesenchymal and endothelial cells and enhances neointima formation. Several months after aneurysm embolisation re-endothelialisation is observed across the aneurysm neck.[3]

[1]Department of Radiology, Dupuytren Hospital, Limoges University, France
[2]XLIM UMR CNRS No. 7252, Limoges University, France
[3]Regional University Hospital Center Tours, Radiology, Diagnostic and Interventional Neuroradiology, France
[4]Bicêtre Hospital, Interventionnel Neuroradiology, Paris, France
[5]Laboratory for Vascular Translational Science, UMRS 1148, INSERM, Université de Paris, France
[6]Université Sorbonne Paris Nord- Campus de Bobigny, France
[7]Mayo Clinic Rochester, Radiology, USA

Corresponding author:
Zoltan Szatmary, Dupuytren Hospital, Limoges 87000, France.
Email: saintmaryz@hotmail.com

Recurrence

Histological studies of coiled aneurysms have identified that even in aneurysms that appear completely occluded angiographically there is still space left between coils, which opens the opportunity for recanalisation. Further, inadequate thrombus organisation and degradation by fibrinolysis of fresh unorganised thrombus in the dome, lack of neointimal formation at the level of the neck and neo-vessel development in the aneurysm pouch with recirculation in the aneurysm lead to the recurrence of aneurysms.[3]

Bioactive enhancement of coils

Bare metallic coils are made of bio-inert metals. Although these coils aim at favouring aneurysm healing through the generation of thrombus and acceleration of wound healing, they are sometimes ineffective in inducing neo-tissue proliferation and aneurysm cure.[3,4] Observation of recurrence rates after treatment with bare platinum coils has led to the development of modified hybrid coils by altering the metallic surface in order to enhance aneurysm healing.

Modified coils in clinical use. Several strategies have been considered for the development of modified coils. One approach involves fibre coating coils with various polymers (dacron, nylon, polyglycolic acid (PGLA)) attached to the primary coil that may be beneficial by inducing stasis and intra-aneurysmal thrombosis. Although the concept of fibred coils is interesting, these coils have never been widespread for intracranial aneurysm treatment. Several single centre studies have shown improved occlusion rates despite poor packing density; however, in a prospective, consecutive, multicentre non-randomised registry, efficacy to prevent aneurysm recanalisation was not better than with bare platinum coils.[5,6]

Others have explored the role of PGLA contained within the coil. PGLA has a high safety profile for humans. Once implanted in the aneurysm, the PGLA polymer hydrolyses in response to blood flow resulting in an inflammatory response. They are meant to initiate quicker structuralised intra-aneurysmal thrombus and to elicit faster neointimal overgrowth at the neck of the aneurysm. Polyglycolic polylactic acid (PGPLA) containing coils did not demonstrate significant advantage in achieving durable aneurysm occlusion compared to bare platinum coils, also worse clinical outcome was demonstrated at discharge for ruptured aneurysm patients treated with PGPLA in prospective, randomised, controlled studies.[7,8]

Hydrogel coils (Microvention, Terumo) are bare platinum coils loaded with hydrophilic acrylic polymer that does not induce an inflammatory reaction, but rather triggers volumetric swelling to dead space. A multicentre controlled randomised trial has demonstrated the positive effect of second-generation hydrogel coils with recanalisation rates of 15.4% in the bare platinum coils group versus 4.4% in the hydrogel group. The beneficial effect of hydrocoils has been demonstrated for both ruptured and unruptured aneurysms. Packing density was also significantly higher in the hydrogel group (Table 1).[9]

Embolic material in development

Cell therapy. The formation of the intraluminal thrombus and ensuing neointima formation after coil implantation relies on the integrity and physiology of the aneurysmal wall. IA walls, particularly in ruptured aneurysms are distinguished by loss of endothelial cells, mural smooth muscle cells (SMCs) and fibroblasts that could explain delayed or impaired healing and recanalisation following coiling.[10] The healing reaction after aneurysm embolisation could potentially be optimised with cell therapy, which consists of the administration of cells that can promote tissue regeneration and aneurysm cure. Findings from histopathological and molecular studies are exploited to implement new strategies focused to enhance aneurysm healing.

Vascular smooth muscle cells (VSMCs): VSMCs are mostly localised in the media layer of the arterial wall and produce extracellular matrix (ECM) which is the main element of the vessel wall. Inflammation and haemodynamic stimulation are the two main reasons for VSMC apoptosis in the pathogenesis of IAs. The disappearance of SMCs is the final step in the pathological process leading to aneurysm rupture. A possible therapeutic approach is to reestablish the balance in collagen production by renewing the lost VSMCs with exogenous VSMCs. Substituting autologous SMCs may improve intimal thickening by depositing ECM in the impaired aneurysm wall. Preclinical studies have shown that aneurysm embolisation with SMCs results in thicker intima, raised medial elastin content and decreased aneurysm growth versus controls and may improve the healing of human aneurysms. However, VSMC isolation protocols are invasive as a surgically collected artery explant is necessary.[11,12] These practical limitations make it a major difficulty for clinical translation and is probably the reason why it has not been used in clinical trials yet.

Fibroblasts: Fibroblasts are essential to wound healing. In reaction to inflammation, they migrate towards the wound, promote collagen synthesis and deposition, afterwards they differentiate into myofibroblasts that are responsible for granulation tissue contraction and soft tissue retractions before undergoing apoptosis. Histopathological studies have confirmed that myofibroblasts are important actors in the healing of the aneurysm dome. Preclinical cell studies suggest that delivering fibroblasts inside the aneurysm might only escalate the speed but not the degree of healing. Fibroblasts on the coil have the advantage that it can be delivered locally without distal occlusion; however, the method is not ideal as it is limited by the small surface area of the coil and the low survival rate of

the cells and cell loss during delivery.[13] Also, fibroblasts express a high level of tissue factor which presents an important procoagulant activity, which could be at risk of ischaemic complications in the case of endovascular administration.[14]

Endothelial progenitor cells (EPCs): EPCs are circulating lineage-committed cells from haematopoietic precursors, mostly present in the bone marrow. Following activation of different factors, they migrate to the peripheral blood to areas with endothelial damage to start the reparative process by secreting a variety of pro-angiogenic and anti-inflammatory cytokines. They are involved in keeping vascular homeostasis, also in maintaining endothelial integrity. EPCs are crucial in aneurysm repair and endothelialisation at the aneurysm neck. EPCs have been successfully implanted in aneurysms in several preclinical studies, with enhanced angiographic occlusion and histological healing in aneurysms.[15] The usage of autologous EPCs for the cure of aneurysms is potentially limited to unruptured aneurysms as time is necessary for harvesting and ex-vivo culture. Also, the number of circulating EPCs is extremely low, which makes their isolation very difficult. Using allogeneic cells or growth factors could raise the scale of this technology to ruptured aneurysms necessitating urgent treatment.

Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): MSCs are pluripotent non-haematopoietic progenitor cells that can migrate and engraft in different tissues and can differentiate into diverse cell types in adult tissues when the local environment is favourable. MSCs can develop into ECM secreting mesenchymal cells and vascular myofibroblasts which might support the healing of mechanical injury in arteries. MSCs can have local and systematic anti-inflammatory impact. They seem to support the best translational potential for aneurysm cell therapy because of their immune-evasive and immunomodulatory abilities, also they are easier to harvest from humans and it is possible to grow them in culture. The mechanism of involvement of MSCs in the healing of intracranial aneurysms seems to be mediated in part by the stabilisation of mast cells.[16] In a rabbit elastase model, after the injection of autologous MSCs inside aneurysms under balloon protection, signs of arterial wall healing were noted with cell colonisation, intimal hyperplasia and the reversal of aneurysm growth, while aneurysms in the placebo group continued to increase in size.[14] In another study, autologous adipose-derived MSC-covered coils were associated with significantly improved biological healing of aneurysms with improved neck endothelialisation and collagen matrix formation within the aneurysm sac.[17]

Proteins, growth factors and nanoparticles.

Osteopontin: Osteopontin is a cell adhesion molecule with anti-apoptotic effect that boosts the proliferation, migration and adhesion of endothelial cells and SMCs engaged in the remodelling and repair procedure of the vasculature.

Metalloproteinase: The role of metalloproteinase (MMP) in aneurysm healing is more ambiguous. It is possible that MMP-9 expression has inhibitory but also beneficial features for aneurysm healing.[3]

Interleukin (IL)-10: IL-10 is a key anti-inflammatory cytokine that can inhibit pro-inflammatory responses of both innate and adaptive immune cells. IL-10 suppresses the production of anti-inflammatory cytokines, including IL-6.

In a rat aneurysm model, implanted PGLA coils were coated with osteopontin, MMP-9 or IL-10 proteins. It was observed that osteopontin and IL-10-coated coils could substantially accelerate tissue ingrowth, whereas MMP-9-coated coils did not have an influence on tissue ingrowth compared with the standard PGLA coil.[18]

Angiopoietin-1 (Ang-1): In a rat model the role of Ang-1 on EPC regulation was investigated. Two weeks after coiling, overexpression of Ang-1 considerably increased EPC formation, migration and proliferation capability in vitro. Ang-1 gene-modified EPCs intensified organisation within the aneurysms and occlusion of the aneurysm neck (Table 2).[19]

Growth factors: Growth factors impact the repair pace, wound strength and quantity of scar developed. Transforming growth factor beta (TGF-β), vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (FGF) receptors have been associated with saccular cerebral artery aneurysm wall remodeling, raising the possibility that these could be targets for bioactive endovascular implants or drug therapy intended to strengthen the saccular cerebral artery aneurysm wall.[20]

- VEGF is implicated in the induction of endothelial cell permeability and vascular proliferation, crucial for wound healing. It is an essential signalling protein involved in angiogenesis, and may improve clot organisation and stimulate endothelium formation across the aneurysm neck, hindering leakage into the coiled area. In a rat aneurysm model, VEGF-coated coils intensified clot organisation and entirely filled the luminal cavity; however, endothelial cell proliferation at the aneurysm neck level could not be witnessed.[21]
- Monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) regulates the migration and infiltration of monocytes/macrophages to sites of inflammation, neovascularisation and vascular injury and can be modulated by VEGF. Platinum coils coated with inflammation mediators such as VEGF and MCP-1 have also been experimented with in diverse animal models and revealed significant improvements in tissue ingrowth.[22,23]
- FGF stimulates the proliferation and migration of fibroblasts, SMCs and endothelial cells, along with the cellular production of type I collagen, thus

Table 1. Modified coils in clinical use.

Systems	Coils			Trials	Results
Fibre coating coils	Dacron coils VortX coils (Stryker) Not in use anymore	Nylon coils Sapphire (SDCf, Dendron/MTI) Not in use anymore	PGPLA coils Nexus coil (ev3/Covidien) Not in use anymore	Multicentre non-randomised registry for Nexus coils Observational registry for Axium FX coils	Efficacy to prevent aneurysm recanalisation was not better than published series of intracranial aneurysms treated with bare platinum coils
PGPLA coils	Matrix coils (Stryker)	Cerecyte coils (Cerenovus, Johnson&Johnson)	Axium FX coils (Medtronic) overlapped distinct nylon or PGLA microfilaments between coil loops	MAPS trial Cerecyte Coil Trial (CCT)	MAPS and CCT randomised trials did not reveal differences in retreatment incidence or radiographic result between PGPLA and bare platinum coils
	Not in use anymore	Still in use	Still in use		
Hydrocoils	First generation Hydrocoils (Microvention, Terumo) Not in use anymore	Second generation HydroSoft (Microvention, Terumo) Still in use	Second generation Hydroframe coils (Microvention, Terumo) Still in use	HELP trial HEAT study	Beneficial effect of second generation hydrocoils was demonstrated for both ruptured and unruptured aneurysms in HEAT study also in for medium sized recently ruptured aneurysm in HELP trial

PGPLA: polyglycolic polylactic acid.

should support fibrosis within aneurysms. Basic FGF (FGF2) may induce the differentiation of stem cells but it is also known to have side effects including hypotension, tachycardia, tachypnea and oncogenesis. Basic FGF-coated coils revealed some success in animal studies, although problems such as growth factor instability, suboptimal discharge kinetics and delivery difficulties halted these systems from moving forward to clinical trials.

- TGF-β is a crucial molecular factor of wall strengthening throughout vascular development, which improves epithelial cell coverage and induces fibroblasts to generate type I collagen and fibronectin. TGF-β is discharged from platelets and affects different cells associated with wound healing. In addition, it stimulates VSMCs and the downregulation of inflammation. A preclinical study of TGF-β-covered platinum coils identified amplified cellular infiltration and organisation of the clot adherent to the coil, with faster cellular coverage than standard platinum coils. However, these positive histological responses were observed only in the early phases of embolisation and tended to disappear at a later time suggesting that TGF-β-mediated therapy may not prove to be clinically useful in longer-term outcomes.[24]

Extended storage of growth factor-coated coils is a persistent challenge because growth factors are fragile at room temperature. Coils coated with more stable molecules such as, for example, SEK-1005, a TGF-β triggering peptide known to support wound healing, has also been evaluated. Although this strategy speeded up aneurysm healing in rats, uneven growth factor coating on the coil was an issue. Another limitation of the study was that SEK-1005 coils were not delivered in a micro-catheter and the possibility of coating damage in the micro-catheter could not be ruled out.[25]

Stromal cell-derived factor-1 alpha (SDF-1α): SDF-1α (CXCL12) is involved in normal wound healing. The usage of SDF-1α coating on platinum coils for aneurysm occlusion was expected to recruit EPCs to the damaged tissue and speed up vascular repair. Continuous release of SDF-1α was fulfilled using silk fibroin as a carrier. The steady release of growth factor over time was observed, resulting in better tissue organisation.[26] In another study of the rat aneurysm model treated with SDF-1α-coated coils covered with MSCs or EPCs compared to bare platinum coils, transplantation efficiently sped up intra-aneurysmal organisation and SDF-1α-coated coils with EPCs facilitated endothelialisation at the aneurysm neck.[27]

Nanoparticles: Tiny magnetic particles have also been studied for aneurysm treatment. Magnetic microparticles are commonly built of a core made from magnetic material such as iron oxides and a shell made from natural or synthetic polymers. The coating of the magnetic core is of major significance as it protects the nanoparticles from corrosion in the aqueous

Table 2. Proteins and bioactive coils development.

		Active molecule appellation			
		Osteopontin	Matrix metalloproteinase (MMP2 and MMP9)	Interleukin 10 (IL-10)	Angiopoietin(Ang-1)
Proteins	Relevance	Matricellular cytokine	Matrixin	Anti-inflammatory cytokine	Glycoproteins
	Expression and synthesis	Endothelial cells, macrophages and VSMCs	VSMCs, macrophages and fibroblasts*	Monocytes and lymphocytes	VSMCs
	Function	Boosts proliferation, migration and adhesion of endothelial cells and SMCs	Takes part in cells proliferation, migration, differentiation, angiogenesis, neovascularisation and wound healing**	Capable of inhibiting synthesis of pro-inflammatory cytokines. Promotes proliferation of VSMCs	Vascular development and angiogenesis. Blood vessel maturation and stability. Enhances migration and proliferation of EPCs
	Effect on aneurysm healing	Accelerates tissue ingrowth	No influence on tissue ingrowth	Accelerates tissue ingrowth	Intensified organisation within the aneurysms and occlusion of aneurysm neck

VSMCs: vascular smooth muscle cells; EPCs: endothelial progenitor cells; SMCs: smooth muscle cells.

environment of blood. In one study using a rabbit model, magnetic microparticles were delivered by catheter and by application of an external magnet were navigated to the aneurysm fundus, securing a mechanical constraint of intraluminal blood circulation. Such research presents an innovative therapeutic possibility for the targeted delivery of microparticles inside an aneurysm, even though the technical demands of magnetic guidance in humans probably requires more sophistication and further research.[28]

Polymer-based coil modifications. Shape memory polymer (SMP) coils: The idea behind SMP coils is to deliver the SMP through a micro-catheter in a transiently compressed shape and then allow it to expand to its permanent form within the aneurysm via an external stimulus. Water, light and heat can be applied to activate the shape memory aspect. When the programmed form is restored, the aneurysm is filled and clot is shortly generated, making aneurysm healing possible. Coils coated in SMP can extend to fill in more space and additionally promote a more thorough aneurysm healing of the dome and neck compared to bare platinum coils in vivo.[29]

SMP foams: SMP foams are polyurethane-based, compliant materials that have the potential to be fabricated into basically any form. Tunable properties and short shape recovery time on release are some of the smart functionalities of SMP foams. These foams trigger the coagulation cascade and are efficient at obstructing vessels quickly in in vivo models. Also, they have demonstrated efficient occlusion of aneurysms in vivo with modest inflammatory reaction and have many favourable qualities as embolisation material for aneurysms, including adjustable pore sizing for ideal cellular infiltration, excellent volume occlusion, device flexibility, reduced circumferential recovery stress, good biocompatibility and radio-opacity.

Coil in shell and gel in shell: Two versions of a new aneurysm intra-saccular occlusion device (coil-in-shell and gel-in-shell) made of nitinol-titanium and a very elastic, translucent, bio and haemo-compatible gel made of polyurethane–hyaluronic acid (PU-HA) have been shown to be somewhat promising regarding acute and chronic aneurysm occlusion. Challenges remain in the delivery of these devices through an endovascular route (Figure 1).[30]

Current challenges and future directions

There are many challenges when designing a drug-eluting medical device. The connection between coating modification substances and platinum coil surfaces is usually weak. Coated coils may also generate adverse alterations in coil performance, affecting smoothness, flexibility, thickness and memory shape. Coatings can also be stripped off from the coil during delivery inside the micro-catheter by friction. Sometimes the biological activity of modified coils is not adequate. Inter-

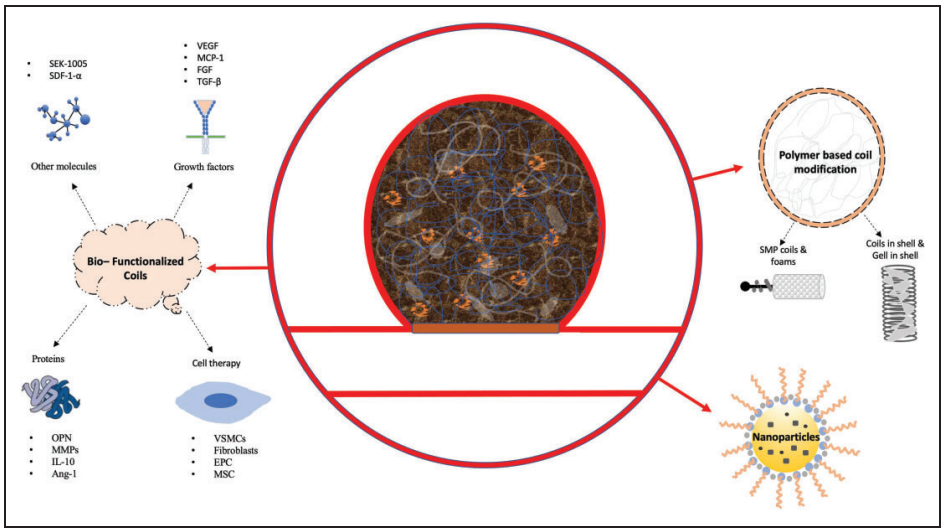


Figure 1. Surface modification strategies in coils development.

individual variability in the immune and inflammatory reactions, healing, thrombus and re-endothelialisation further complicates matters, as these variables can impact diffusion into the tissue, molecular release and material degradation. Optimal discharge kinetics is the key for these biological enhancing modified coils. Developing methods that can supply controlled, continuous release of stable therapeutics for boosting clot organisation and tissue maturation is crucial.

Ideally designed bioactive coils should be easy to handle and amenability to long periods of storage at room temperature is needed to improve the clinical effectiveness of endovascular aneurysm treatment. Also, cell therapy necessitates the application of autologous cells to prevent cell rejection. The need for autologous cellular supplies restricts availability for cell therapy in an individual. Translating cell-coated coils to clinical practice is challenging as domestic cell culture centres and trained personal are required. The efficacy of stem cells to cure pathological vessel walls is still restricted to modest population animal studies and needs more research before translational studies can be launched. The appropriate delivery system for stem cells to their targets is also so far to be defined. Present drug-release models are commonly found in animal studies that might not be possible to translate to humans. Treatment of human intracranial aneurysms represents a much higher level of complexity than currently used animal models. This might partially clarify why good healing in an animal model does not constantly ensue in satisfactory cure in humans. Finally, as cells, materials, scaffolds and eluted molecules are prepared separately, quality control testing could be necessary to be conducted both before and after manufacturing.

To overcome these technical difficulties future developments of bioactive coils that could attract several growth factors while at the same time target different and complementary aspects of aneurysm healing by attracting distinct cell types into the aneurysm to promote and accelerate healing could be a promising strategy to explore. Further, despite the widespread use of coils, the aneurysm healing mechanism is not fully understood. Exploring molecular pathways that are associated with aneurysm healing would allow researchers to find novel targets.

Conclusion

Bioactive enhancement of coils has tremendous potential for the treatment of IAs. New treatment methods described in this article bring hope to the field by promoting targeted treatment and repair of the vessel wall itself; however, several problems remain to be solved. Upcoming work in tissue engineering should bring forth new biomaterials optimised for larger availability.

Conflict of interest

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship and/or publication of this article: The study has received support from Project case

number: DCM20181039543 financed by Fondation Recherche Médicale (FRM).

ORCID iDs

Zoltan Szatmary https://orcid.org/0000-0002-2543-6535
Sylvia M Bardet https://orcid.org/0000-0002-0217-6910

References

1. White JB, Ken CG, Cloft HJ, et al. Coils in a nutshell: a review of coil physical properties. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008; 29: 1242–1246.
2. Raymond J, Guilbert F, Weill A, et al. Long-term angiographic recurrences after selective endovascular treatment of aneurysms with detachable coils. *Stroke* 2003; 34: 1398–1403.
3. Brinjikji W, Kallmes DF and Kadirvel R. Mechanisms of healing in coiled intracranial aneurysms: a review of the literature. *AJNR Am J Neuroradiol* 2015; 36: 1216–1222.
4. Szikora I, Seifert P, Hanzely Z, et al. Histopathologic evaluation of aneurysms treated with Guglielmi detachable coils or matrix detachable microcoils. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006; 27: 283–288.
5. Gory B and Turjman F. Endovascular treatment of 404 intracranial aneurysms treated with nexus detachable coils: short-term and mid-term results from a prospective, consecutive, European multicenter study. *Acta Neurochir (Wien)* 2014; 156: 831–837.
6. Fargen KM, Blackburn S, Deshaies EM, et al. Final results of the multicenter, prospective Axium MicroFX for Endovascular Repair of IntraCranial Aneurysm Study (AMERICA). *J Neurointerv Surg* 2015; 7: 40–43.
7. McDougall CG, Johnston SC, Gholkar A, et al. Bioactive versus bare platinum coils in the treatment of intracranial aneurysms: the MAPS (Matrix and Platinum Science) trial. *AJNR Am J Neuroradiol* 2014; 35: 935–942.
8. Molyneux AJ, Clarke A, Sneade M, et al. Cerecyte coil trial: angiographic outcomes of a prospective randomized trial comparing endovascular coiling of cerebral aneurysms with either cerecyte or bare platinum coils. *Stroke* 2012; 43: 2544–2550.
9. Abi-Aad KR, Aoun RJN, Rahme RJ, et al. New generation Hydrogel Endovascular Aneurysm Treatment Trial (HEAT): a study protocol for a multicenter randomized controlled trial. *Neuroradiology* 2018; 60: 1075–1084.
10. Marbacher S, Niemela M, Hernesniemi J, et al. Recurrence of endovascularly and microsurgically treated intracranial aneurysms – review of the putative role of aneurysm wall biology. *Neurosurg Rev* 2019; 42: 49–58.
11. Marbacher S, Frosen J, Marjamaa J, et al. Intraluminal cell transplantation prevents growth and rupture in a model of rupture-prone saccular aneurysms. *Stroke* 2014; 45: 3684–3690.
12. Raymond J, Desfaits AC and Roy D. Fibrinogen and vascular smooth muscle cell grafts promote healing of experimental aneurysms treated by embolization. *Stroke* 1999; 30: 1657–1664.
13. Marx WE, Cloft HJ, Helm GA, et al. Endovascular treatment of experimental aneurysms by use of biologically modified embolic devices: coil-mediated intra-aneurysmal delivery of fibroblast tissue allografts. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001; 22: 323–333.
14. Rouchaud A, Journe C, Louedec L, et al. Autologous mesenchymal stem cell endografting in experimental cerebrovascular aneurysms. *Neuroradiology* 2013; 55: 741–749.
15. Aronson JP, Mitha AP, Hoh BL, et al. A novel tissue engineering approach using an endothelial progenitor cell-seeded biopolymer to treat intracranial saccular aneurysms. *J Neurosurg* 2012; 117: 546–554.
16. Kuwabara A, Liu J, Kamio Y, et al. Protective effect of mesenchymal stem cells against the development of intracranial aneurysm rupture in mice. *Neurosurgery* 2017; 81: 1021–1028.
17. Rouchaud A, Brinjikji W, Dai D, et al. Autologous adipose-derived mesenchymal stem cells improve healing of coiled experimental saccular aneurysms: an angiographic and histopathological study. *J Neurointerv Surg* 2018; 10: 60–65.
18. Chen J, Yang L, Chen Y, et al. Controlled release of osteopontin and interleukin-10 from modified endovascular coil promote cerebral aneurysm healing. *J Neurol Sci* 2016; 360: 13–17.
19. Lu Z, Wang Q, Chen C, et al. Overexpression of Angiopoietin-1 potentiates endothelial progenitor cells for the treatment of aneurysm. *Ann Vasc Surg* 2018; 48: 214–221.
20. Frosen J, Piippo A, Paetau A, et al. Growth factor receptor expression and remodeling of saccular cerebral artery aneurysm walls: implications for biological therapy preventing rupture. *Neurosurgery* 2006; 58: 534–541; discussion 41.
21. Wang Q, Gao Y, Sun X, et al. Acceleration of aneurysm healing by P(DLLA-co-TMC)-coated coils enabling the controlled release of vascular endothelial growth factor. *Biomed Mater* 2014; 9: 045004.
22. Hourani S, Motwani K, Wajima D, et al. Local delivery is critical for monocyte chemotactic protein-1 mediated site-specific murine aneurysm healing. *Front Neurol* 2018; 9: 158.
23. Ohyama T, Nishide T, Iwata H, et al. Vascular endothelial growth factor immobilized on platinum microcoils for the treatment of intracranial aneurysms: experimental rat model study. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2004; 44: 279–285; discussion 86–87.
24. de Gast AN, Altes TA, Marx WF, et al. Transforming growth factor beta-coated platinum coils for endovascular treatment of aneurysms: an animal study. *Neurosurgery* 2001; 49: 690–694; discussion 4–6.
25. Sano H, Toda M, Sugihara T, et al. Coils coated with the cyclic peptide SEK-1005 accelerate intra-aneurysmal organization. *Neurosurgery* 2010; 67: 984–991; discussion 92.
26. Gao Y, Wang Q, Cui X, et al. Controlled release of stromal cell-derived factor-1alpha from silk fibroin-coated coils accelerates intra-aneurysmal organization and occlusion of neck remnant by recruiting endothelial progenitor cells. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 8366–8380.
27. Gao Y, Lu Z, Chen C, et al. Mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells accelerate intra-aneurysmal tissue organization after treatment with SDF-1alpha-coated coils. *Neurol Res* 2016; 38: 333–341.

28. Oechtering J, Kirkpatrick PJ, Ludolph AG, et al. Magnetic microparticles for endovascular aneurysm treatment: in vitro and in vivo experimental results. *Neurosurgery* 2011; 68: 1388–1397; discussion 97–98.
29. Herting SM, Ding Y, Boyle AJ, et al. In vivo comparison of shape memory polymer foam-coated and bare metal coils for aneurysm occlusion in the rabbit elastase model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2019; 107: 2466–2475.
30. Moftakhar R, Xu F, Aagaard-Kienitz B, et al. Preliminary in vivo evaluation of a novel intrasaccular cerebral aneurysm occlusion device. *J Neurointerv Surg* 2015; 7: 584–590.

8 Modèles précliniques d'AI

Les modèles précliniques animaux d'AI sont un outil indispensable pour étudier les aspects moléculaires, cellulaires et et certains aspects pathophysiologiques des l'AI ainsi que pour tester de nouveaux dispositifs endovasculaires. Idéalement, le modèle d'AI doit reproduire les phénomènes que l'on souhaite étudier, en l'occurrence ces phénomènes d'intérêt peuvent être par exemple la reproduction des forces hémodynamiques, les contraintes des forces de cisaillement et les réponses cellulaires et tissulaires observées qui seraient le plus proches possible des AI humains. Cependant, actuellement aucun modèle animal ne reproduit parfaitement la maladie humaine étudiée. La formation naturelle d'AI étant rare chez les animaux, des techniques visant à induire artificiellement des AI chez les animaux de laboratoire ont été développées. Les chercheurs s'intéressant à l'étude de la pathophysiologie des AI ont à disposition une grande variété de modèles animaux.(216)

Au total, au moins 20 modèles d'occlusion artérielle différents ont été décrits pour créer et étudier la pathobiologie des AI dans différentes espèces animales comme par exemple la ligature unilatérale ou bilatérale de l'artère carotide commune (ACC), ligature unilatérale ou bilatérale de l'artère rénale, injection d'élastase (avec ou sans ligature de l'ACC) chez la souris, rat, lapin, cochon etc. La ligature chirurgicale de l'ACC et la dégradation de la paroi artérielle par injection d'élastase ont été identifiées comme les techniques prédominantes pour créer des AI chez les animaux de laboratoire.(356)

Les modèles petits animaux (souris, rats) sont souvent utilisés, mais présentent des limites pour l'utilisation de dispositifs endovasculaires liées à la petite taille des artères. En général, les modèles d'AI chez les rongeurs sont utiles pour étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires de la formation, de la croissance et de la rupture de l'anévrisme, dans le but d'identifier et tester des cibles médicamenteuses pour l'intervention thérapeutique et le potentiel translationnel.(97) Néanmoins ces modèles présentent un désavantage important étant donnée la petite taille des anévrismes et des artères de ces animaux ne permettant pas l'évaluation des outils endovasculaires.

Plusieurs modèles d'AI ont été élaborés chez le gros animal principalement chez les lapins, les chiens et les porcs pour l'évaluation de nouvelles interventions thérapeutiques et l'amélioration de nouvelles thérapies endovasculaires.

Les règles éthiques pour l'utilisation d'animaux à des fins de recherche ont été améliorées et sont devenues plus contraignantes en ce qui concerne les espèces animales et les nombres requis à utiliser dans les études expérimentales. Les études portant sur des animaux qui soulèvent des préoccupations éthiques particulières, comme celles menées sur des chiens, des primates et des porcs, sont susceptibles d'être confrontées à davantage d'obstacles tout au long du processus d'approbation de l'éthique animale, ce qui peut retarder la réalisation de l'étude ou empêcher son achèvement. Un autre critère concernant le choix de modèle animal expérimental est la fiabilité de la production d'anévrismes sur une période relativement très courte de moins de trois mois. Une fois le type de modèle d'AI identifié, le choix des espèces animales expérimentales doit être pris en considération, étant donné que la situation chez l'animal devra reproduire le plus fidèlement possible les aspects pathophysiologiques humains des anévrismes dont on souhaite étudier les caractéristiques.

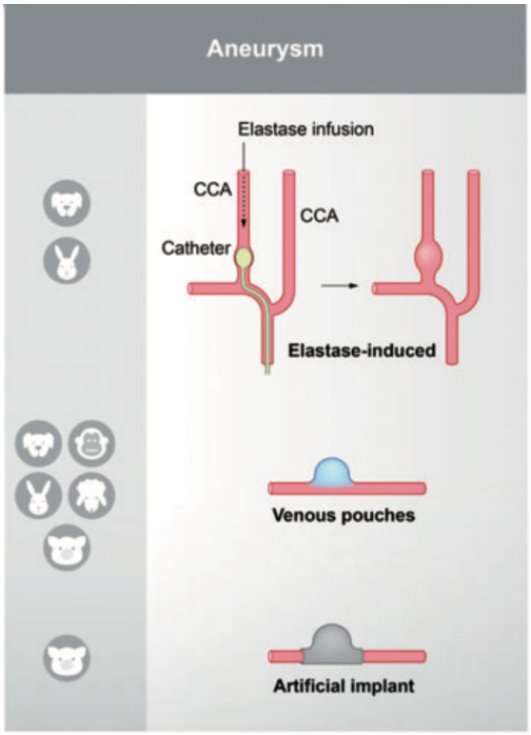


Figure 28. Illustration des différentes techniques d'induction du modèle d'anévrisme chez les gros animaux

Il existe trois façons différentes d'induire un modèle d'anévrisme : anévrismes induits par l'élastase (un anévrisme se développe dans un vaisseau fermé par perfusion d'élastase), anévrismes de poche veineuse (préparation d'une poche veineuse et suture à l'artère, habituellement sur l'ACC) et utilisation d'implants artificiels. Abréviations : CCA : Common Carotid Artery. Image issue de Herrmann et al.(357)

La formation d'anévrismes chez les gros animaux nécessite une manipulation des vaisseaux par une intervention microchirurgicale ou endovasculaire, et ces anévrismes sont

typiquement crées et formés sur l'ACC **(Figure 28)**. Par conséquent, ces modèles sont extra-crâniens et souffrent des effets de la création chirurgicale au niveau du collet et du dôme de l'anévrisme.(358) Malgré ces faiblesses, chaque modèle présente des caractéristiques particulières qui sont avantageuses pour les buts d'une étude particulière. Parmi les modèles gros animaux, le modèle d'anévrisme à partir de poche veineuse permet de sélectionner la taille, la morphologie et l'emplacement de l'anévrisme, et l'anévrisme peut être créé dans des vaisseaux avec un calibre et un débit sanguin similaires à ceux des vaisseaux cérébraux humains. Cependant, le modèle de poche veineuse souffre en termes de traumatisme chirurgical et de matériel de suture impliqué dans la formation des anévrismes et d'un collet anévrismal artificiel. De plus, étant donnée la nature veineuse de la poche, la constitution de ces anévrismes diffère de celle des anévrismes artériels. Un inconvénient majeur du modèle de greffe veineuse pour les AI chez le porc est une tendance à la thrombose spontanée et à la cicatrisation même sans embolisation.(359, 360) Les modèles gros animaux permettent également d'étudier la cicatrisation de l'anévrisme après une thérapie. Un autre inconvénient des modèles gros animaux est la présence de cellules viables de CML murales, qui sont significativement réduites ou absentes dans la paroi des AI humains. Marbacher et al. ont démontré que les greffes vasculaires décellularisées pour la création d'anévrisme forment un thrombus luminal non organisé et provoquent une inflammation importante favorisant la croissance et la rupture de l'anévrisme.(237) Par conséquent, la réponse de guérison dans les modèles d'AI avec une cellularité normale de la paroi de l'anévrisme serait potentiellement plus substantielle qu'on pourrait observer dans un anévrisme humain décellularisé et ne refléterait pas forcement l'évolution de la cicatrisation ou les défauts de cicatrisation chez l'homme.(358)

8.1 Modèle interventionnel d'anévrisme sacciforme chez le lapin

Le modèle le plus courant est un modèle chez le lapin d'anévrisme sacculaire créé par dégradation enzymatique de la paroi artérielle. Une méthode fiable a été mise au point, permettant de produire des anévrismes par occlusion de l'ACC droite avec un ballonnet endovasculaire et infusion d'élastase créant ainsi des anévrismes sacculaires sur le tronc artériel brachio-céphalique à l'origine de la CCA droite.(361) Par la suite, le même groupe a perfectionné sa technique, qui consistait à exposer chirurgicalement l'ACC droite, à la canuler et à l'occlure avec un ballonnet endovasculaire à son origine, puis à infuser dans la carotide droite de l'élastase au-dessus du ballonnet avant la ligature distale de l'artère.(362) Alors que les premières techniques d'incubation endovasculaire avec l'élastase étaient efficaces pour

produire des anévrismes, les fuites d'élastase provoquaient souvent des lésions de la trachée et d'autres organes. Afin d'atténuer cette complication, la technique a été modifiée de façon à introduire un microcathéter en position crâniale par rapport au ballonnet d'occlusion et l'élastase a été perfusée sous guidage fluoroscopique pour éviter une fuite rétrograde vers la trachée au travers des artères aberrantes.(363) Enfin, pour dégrader le collagène de la média, certains ont proposé d'ajouter de la collagénase à l'élastase dans des modèles endovasculaires permettant d'obtenir des anévrismes presque histologiquement identiques aux AI humains, montrant une fragmentation et une diminution de la limitante élastique interne et des niveaux accrus de CML.(364)

Le modèle à l'élastase chez le lapin présente des caractéristiques qui en font un modèle efficace pour les études précliniques permettant de reproduire des problèmes liés au traitements endovasculaires des AI auxquels on cherche une solution.

Les différences de coagulation entre les humains et les animaux sont cependant significatives. Ceci doit être pris en compte lorsque on veut transferer des données d'essais sur les animaux à l'homme. Les lapins ont certaines caractéristiques de coagulation comparables à l'homme comme le temps de saignement et la fermeté maximale du caillot, largement dépendants sur les taux des plaquettes et fibrinogène. (**Tableau IV.**) Les lapins blancs de Nouvelle-Zélande ont des valeurs d'hémoglobine, d'hématocrite et de fibrinogène similaires à celles des humains. Au contraire, les facteurs V, X et XIII, ainsi que le plasminogène, sont en plus forte concentration, en particulier le premier. Le facteur II est présent à environ la moitié de la concentration humaine. Le seuil d'anticoagulation est plus élevé dans le plasma du lapin que chez l'homme.(365, 366) Pour des études d'activation et agrégation des plaquettes in vivo pour un modèle de thrombose artérielle, l'utilisation des lapins serait plus avantageux que les autres espèces animales.(365)

NATEM	Human	Pig	Sheep	Rabbit	Dog
CT (%)	100	45	41	40	44
CFT (%)	100	66	52	71	52
α (%)	100	78	54	92	59
MCF (%)	100	37	63	73	32
LI 45 (%)	100	2	6	6	6
Mean relative deviation (%)	100	45.6	43.2	56.4	38.6

Tableau IV. Comparaison descriptive des données de la coagulation obtenues par NATEM chez l'homme, le porc, le mouton, le lapin et le chien

NATEM :La coagulation est activée par le contact du sang avec les surfaces de la cuvette et de la broche.Les moyens des animaux ont été mis en proportion relative par rapport aux valeurs humaines.
α, alpha angle; CFT, clot formation time; CT, clotting time; LI 45, lysis index à 45 min après le début de la coagulation MCF, maximum clot firmness; NATEM, non-activated thromboelastometry. Issue de Lechner et al.(366)

Le modèle anévrismal chez le lapin a des caractéristiques histologiques semblables à celles des anévrismes humains et une cicatrisation avec des traits potentiellement comparables après coiling.(367) La morphologie et les caractéristiques hémodynamiques de ces anévrismes peuvent imiter celles des AI humains.(368) De plus, les anévrismes créés avec cette méthode montrent une perméabilité à long terme de plus de 24 mois. Malgré ces points forts, le modèle présente des faiblesses, notamment le fait que ces anévrismes ne sont pas un modèle de croissance ni de rupture anévrismale.(369) De plus, le site extra-crânien de création de l'anévrisme ne reproduit pas l'environnement plus complexe de la localisation sous-arachnoïdienne des AI chez l'Homme.(41, 370)

8.1.1 Possibles complications lors de la création d'anévrismes chez le lapin

L'une des complications les plus fréquemment rapportées est la nécrose trachéale après infusion d'élastase dans l'ACC. Cette complication est due à l'artère trachéo-œsophagienne provenant de l'ACC droite conduisant à la perfusion d'élastase dans la trachée.(371, 372) Une série de plus de 700 interventions chez le lapin a démontré que le processus de création d'anévrismes est associé à un risque de mortalité de 8,4 % lié à des facteurs tels que l'anesthésie, l'automutilation (par morsure aux sutures) et l'accident vasculaire cérébral.(373) D'autres complications qui ont été rapportées sont la survenue d'anévrismes de l'aorte thoracique, la paralysie laryngée due à une lésion chirurgicale du nerf laryngé récurrent, trachéite-laryngite due à l'intubation, pneumonie et thrombose vasculaire. (374-376)

9 Polysaccharides marins

Les cellules d'algues sont entourées d'une paroi cellulaire riche en polysaccharides comme pour les plantes terrestres. La variation de la composition est évidente par rapport à la phylogénie.(377) Les polysaccharides marins sont classés en tant que macromolécules sulfatées et non sulfatées qui sont principalement dérivées de micro- et macroalgues **(Figure 29)**.(378) En particulier, les macroalgues sulfatées présentent des caractéristiques chimiques plus diverses que les analogues non sulfatés, en termes de poids moléculaire, de composition de monosaccharides, de teneur en sulfates et de position, qui interagissent avec diverses cibles biologiques à différents niveaux conduisant à des activités pharmacologiques variées. On les trouve dans différents phylums, comme les algues brunes (p. ex. fucoïdanes), les algues rouges (p. ex. carraghénane), et les algues vertes (p. ex. ulva-laitue de mer).(379) Bien que les algues brunes, avec 1 755 espèces, ne soient pas la classe la plus abondante, leurs fucoïdanes sulfatés présentent plus d'applications potentielles dans différents domaines que celles isolées de l'ulva et du carraghénane.(380) Outre le fucoïdane, les algues brunes contiennent également d'autres types de polysaccharides, à savoir la laminarine et les alginates. Ces polysaccharides se trouvent dans les matrices de la paroi cellulaire des algues brunes.(381)

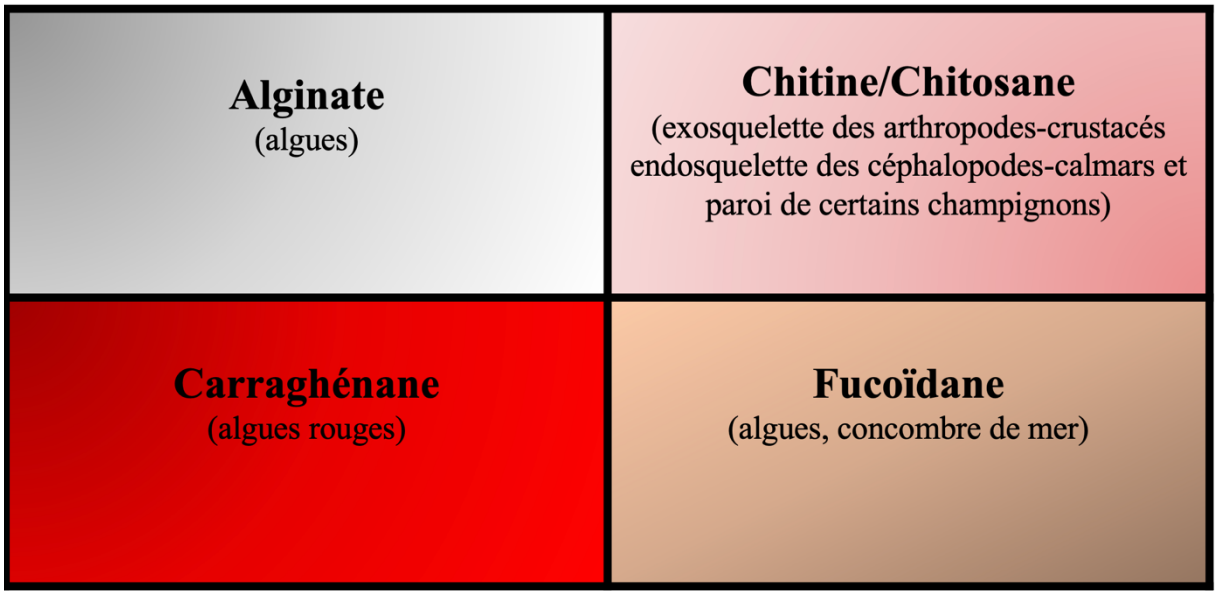


Figure 29. Polysaccharides marins

Polysaccharides marins d'intérêt pour des applications pharmacologiques, cosmétiques, nutraceutiques. Les sources d'organismes marins sont également indiquées. Modifé de Ruocco et al.(378)

9.1 Le fucoïdane

Les fucoïdanes sont des biopolysaccharides sulfatés qui ont des structures chimiques hétérogènes et complexes. Leur présence est abondante dans les parois cellulaires de l'algue brune et d'autres espèces marines.(382) La chaîne principale est constituée d'un squelette linéaire de L-fucose qui prédomine toujours sur d'autres monosaccharides, tels que le galactose, le mannose, le glucose et les acides uroniques. Le L-fucose peut dépasser 90% de la composition totale en sucre des fucoïdanes **(Figure 30)**.(383)

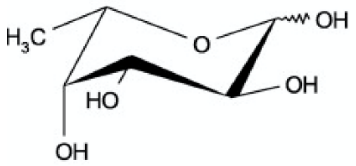


Figure 30. Formule de L-fucose

Le fucoïdane a d'abord été extrait et caractérisé par Kylin, un botaniste suédois, à partir de diverses espèces de Laminaria et de Fucus. Initialement nommé fucoïdine par Kylin en 1913, environ 45 ans plus tard, le polymère a été rebaptisé fucoïdane (McNeely, 1959) afin de se conformer au suffixe "- an" recommandé par la nomenclature d'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Le terme fucoïdane a été récemment adopté spécifiquement pour les polysaccharides sulfatés marins hétérogènes riches en fucose et dérivés des différentes espèces d'algues brunes.(377)

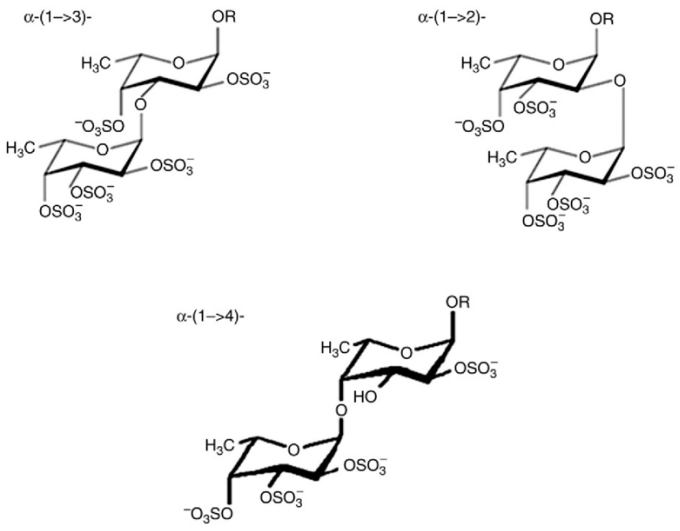


Figure 31. Structures fucoïdanes

Quelques structures de fucoïdanes différant par les liaisons glycosidiques entre les unités L-fucose (α-(1→2)-, α-(1→3)- et α-(1→4)-. Figure issue de Lim et al.(381)

La composition chimique des fucoïdanes issus de macroalgues est très variée selon la source des algues, l'emplacement géographique, et le processus d'extraction **(Figure 31)**. Divers monosaccharides, différentes liaisons glycosidiques, nature et nombre de ramifications et contenu en ester de sulfate participent à la complexité de leurs structures. La présence de groupes ester de sulfate confère une charge négative sur le squelette macromoléculaire responsable de la caractéristique anionique de fucoïdanes. Ces caractéristiques sont fortement liées aux activités biologiques potentielles du fucoïdane **(Figure 32)**.(384, 385)

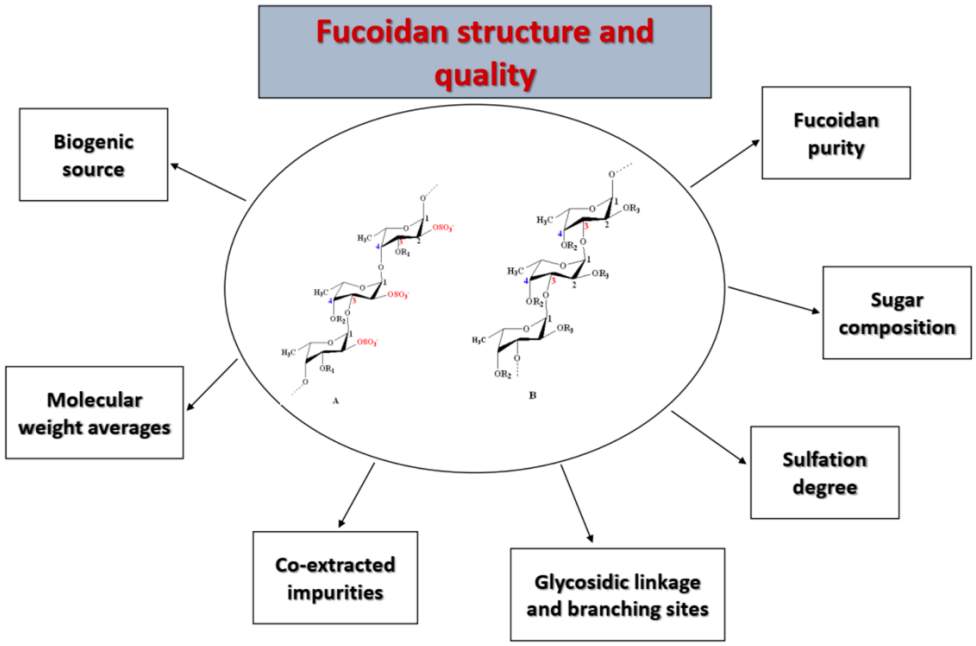


Figure 32. Résumé des différents facteurs affectant le comportement biologique des fucoïdanes.

Figure issue de Zayed et al. (384)

De nombreuses publications ont tenté de coupler ces activités à certaines caractéristiques structurelles, notamment la composition en monomère, le poids moléculaire, la teneur en sulfates et leur distribution le long de la chaîne macromoléculaire. Cependant, les relations structure-activité ne sont toujours pas bien élucidées et restent controversées.(386, 387) De plus, la plupart des activités pharmacologiques ont été testées à l'aide d'extraits bruts ou de produits partiellement purifiés.(388) La raison en est probablement la nature complexe de l'extrait brut ainsi que la grande variété des protocoles d'extraction et de purification.(389) En outre, les contaminants co-extraits tels que les polyphénols qui ont une forte activité anti-oxydante peuvent interférer avec l'activité propre biologique des fucoïdanes.(390) Dès lors, la caractérisation complète des extraits est une étape indispensable pour identifier et isoler les fucoïdanes bioactifs, prélude indispensable à l'établissement des relations structure-activité. Par conséquent, un fucoïdane de qualité pure est une condition préalable à tout usage pharmacologique ultérieur.(384)

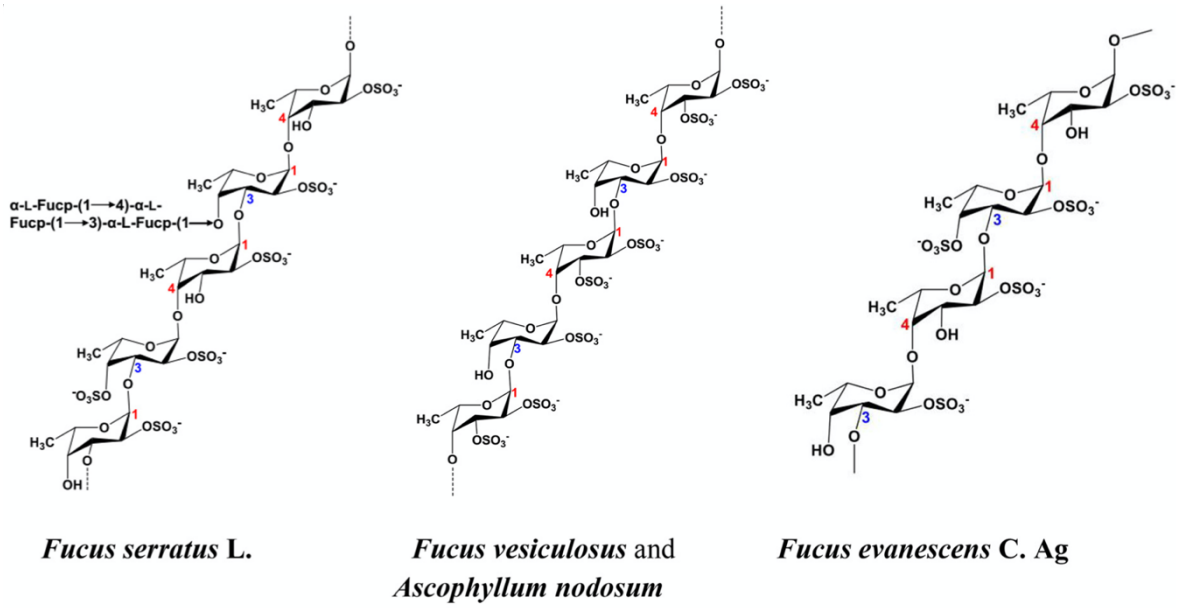


Figure 33. Algues Fucales

Différentes structures chimiques du fucoïdane de certaines algues Fucales. La structure de base est un squelette de L-fucopyranoside avec une alternance de liaisons α-(1-4) et α-(1-3). Le C-2 est habituellement substitué par des groupes ester de sulfate en plus de l'alternance du C-3 ou du C-4 dans le résidu L-fucopyranose, selon les liaisons glycosidiques. En outre, on peut également trouver des polymères à chaîne ramifiée comme chez F. serratus. D'autres monosaccahrides en quantités plus faibles (p. ex. mannose, galactose...etc.,) sont distribués dans la structure du fucoïdane, leurs positions précises restant difficiles à établir. Figure issue de Zayed et al.(384)

L'hétérogénéité n'est pas seulement liée aux espèces et aux méthodes d'extraction, mais aussi au contenu en fucoïdane de la paroi de l'algue tout au long de l'année. Ainsi cette variation saisonnière de la teneur en fucoïdane a été mise en évidence chez le Fucus serratus, le Fucus vesiculosus et l'Ascophyllum nodosum récolté au Royaume-Uni et étudiée avec les extraits les plus riches en fucoïdanes recueillis en automne et les moins riches en fucoïdanes au printemps **(Figure 33)**.(391) Une standardisation serait nécessaire pour les applications des polysaccharides en médecine. Une nomenclature de normalisation devrait indiquer la saison de récolte optimale pour avoir la plus forte activité biologique possible.(392)

Le poids moléculaire très varié (13 kDa à 950 kDa) des fucoïdanes est un paramètre important de leurs activités biologiques.(384) Ils peuvent être classés, selon leur poids moléculaire, en trois catégories: fucoïdanes de faible poids moléculaire (LMWF) ayant une taille polymère inférieure à 10 kDa, fucoïdanes de poids moléculaire moyen (MMWF) (10-10 000 kDa) et fucoïdanes de poids moléculaire élevé (HMWF) (>10 000 kDa).(393) Parmi les exemples : la relation entre un poids moléculaire élevé et une activité anticoagulante (394, 395), un poids moléculaire faible et l'apoptose du cancer (396), et une activité angiogénique sélective

dans des tumeurs comme anti-angiogéniques (397) ou dans des tissus altérés comme agents proangiogéniques.(398) Malgré leur potentiel en tant que composés biologiquement actifs, la masse moléculaire élevée des extraits bruts riches en fucoïdanes et leur nature visqueuse ont limité leur application en tant qu'agent thérapeutique. Le fucoïdane de bas poids moléculaire (LMWF) a une bioactivité plus sûre et améliorée sans réactivité croisée et peut être préparé par des moyens chimiques, radicaux ou enzymatiques.(399)

Des études structure-fonction ont montré que la distribution des charges négatives des groupes sulfate sur le squelette de fucoïdane plutôt que son poids moléculaire serait importante pour les activités biologiques.(400) La bioactivité du fucoïdane dépend donc de la nature et de l'étendue de la sulfatation. Il y a une plasticité élevée dans la formation de sulfate des fucoïdanes chez les algues brunes à la fois entre les espèces vivant dans une même zone locale et pendant la régulation des réponses d'un seul organisme aux variations de salinité.(377) Sa teneur en sulfate varie entre 5 % et 38 %.(401, 402) Les groupes sulfate peuvent être positionnés dans un plan équatorial, c'est-à-dire en positions C2 et/ou C3, et/ou dans un plan axial, c'est-à-dire en position C4 du fucose. Les groupes sulfate du fucoïdane joueraient un rôle important dans ses activités biologiques, où il a été constaté que l'augmentation de la teneur en sulfate du fucoïdane augmenterait ses activités anticoagulantes et antioxydantes.(387, 403, 404) Il a été rapporté que le profil de sulfatation serait un facteur important, en particulier en C-4 pour l'activité antivirale (405) ou en C-2 et C-3 pour l'activité anticoagulante (406), ainsi que la teneur en sulfate (densité de charge) pour l'activité anticancéreuse (407, 408) ou le potentiel de réparation des cellules rénales lésées (409), le degré de ramification pour l'activité antitumorale.(410) Wang et al. (2010a) ont expliqué que les groupes sulfate agiraient comme des groupes attracteurs d'électrons sur le polysaccharide, et augmenteraient ainsi leur capacité à piéger les radicaux libres.(404)

9.1.1 Extraction du fucoïdane

La plupart des extractions réalisées par les scientifiques étaient dans des conditions acides douces avec des variations de température, puis des précipitations à l'éthanol. Au fil des ans, grâce à une meilleure compréhension de la structure et des caractéristiques du fucoïdane et d'autres composants de l'algue brune, des méthodes améliorées d'extraction du fucoïdane ont été mises en œuvre. L'extrait de fucoïdane est défini par la présence de fucoïdane en milieu liquide, qui peut aussi contenir d'autres composés/impuretés. Les techniques modernes d'extraction de fucoïdane sont assistée par micro-onde, ultrason ou par l'hydrolyse

enzymatique.(381) L'utilisation de la technologie enzymatique pour des extractions et des modifications sélectives a fait l'objet d'une attention accrue ces derniers temps, en particulier en ce qui concerne la préservation du caractère structurel spécifique et des propriétés fonctionnelles des composants cibles. L'hydrolyse enzymatique empêche la perte du groupe sulfate par rapport à l'hydrolyse chimique. Une enzyme bien connue pour l'hydrolyse des fucoïdanes est les fucoïdanases ou L-fucosidases, distribuées de manière extracellulaire et intracellulaire parmi plusieurs organismes.(411) La gamme de producteurs d'enzymes dégradant les fucoïdanes est large allant des bactéries au concombre de mer. Cette enzyme est également rapportée chez les vertébrés plus évolués.(399) Les techniques d'extraction enzymatique ont ainsi un potentiel d'application considérable pour le développement de la production durable de fucoïdanes.

9.1.2 Applications médicales des fucoïdanes

Au cours des vingt dernières années, les molécules de fucoïdane sulfatées ont été largement explorées pour leurs propriétés médicinales et leur intérêt pour les applications biomédicales, à savoir la régulation des réponses immunitaires, l'hémostase, l'infection virale et la croissance tumorale. Ces activités résident probablement dans la capacité des fucoïdanes sulfatés à imiter la structure des fractions glucidiques des glycosaminoglycanes de mammifères.(412) Le fucoïdane est non toxique et biocompatible (413), qui est étudié en nanomédecine pour l'administration de médicaments. (414-416) Des effets pharmacologiques très divers ont été rapportés, notamment antitumoral, antiviral, antimicrobien, anti-inflammatoire et anticoagulant.(382, 417)

Figure 34. Applications biomédicales proposées du fucoïdane

Figure issue de Apostolova et al.(418)

La large gamme d'activités biologiques est la source de multiples applications possibles. En effet, les activités pharmacologiques de fucoïdanes en font un candidat pour le traitement des troubles hémorragiques (419), de l'inflammation (420), des infections virales (421), des tumeurs malignes (422), et des troubles immunitaires **(Figure 34)**. (423) Cependant, le développement de suppléments de fucoïdane standardisés est un processus compliqué, de plus, ces activités sont rapportées principalement à partir d'expériences *in vitro* ou d'évaluations *in vivo* sur des animaux de laboratoire. Les fucoïdanes isolés à partir de la même source d'algues pourraient avoir l'effet inverse lorsqu'ils sont évalués dans différents modèles in vitro ou différents modèles animaux.(418)

9.1.3 Inflammation et effet immuno-modulateur du fucoïdane

L'action du fucoïdane est rapportée à différents stades du processus inflammatoire : (i) blocage de l'adhésion et de l'invasion lymphocytaire (ii) inhibition de multiples enzymes et (iii) induction de l'apoptose **(Figure 35)**.(418)

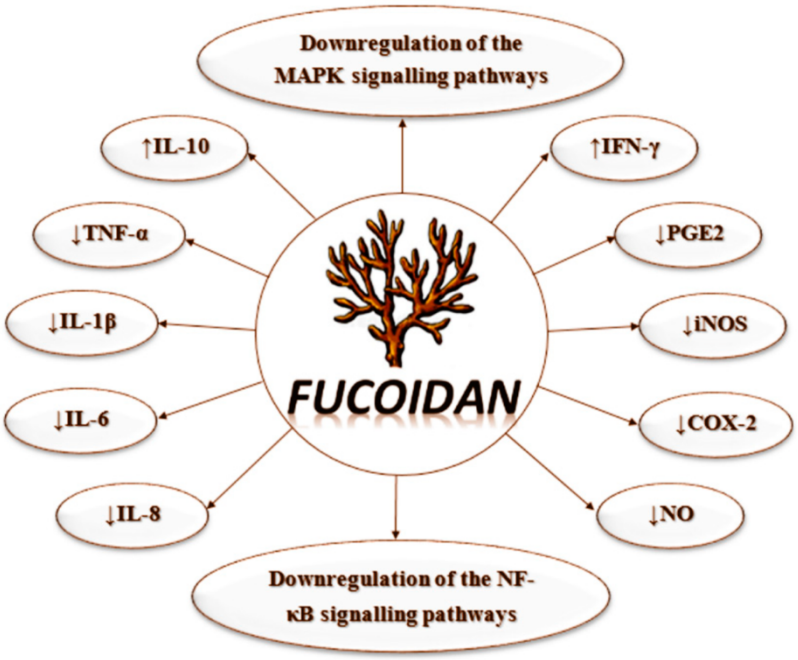


Figure 35. Mécanismes putatifs de l'activité anti-inflammatoire du fucoïdane

Figure issue de Apostolova et al.(418)

Le mécanisme d'action le plus largement étudié du fucoïdane est la régulation négative de la voie de signalisation MAPK et NF-κB et la diminution suivante de la production de cytokines pro-inflammatoires.(420, 424, 425) Le fucoïdane pourrait inhiber de manière significative la libération de NO induite par les lipopolysaccharides bactériens et réduire l'inflammation. Il serait également un ligand du récepteur A scavenger des macrophages, qui peuvent être absorbés par les macrophages et inhiber la production de NO. L'inhibition de la migration des leucocytes vers les tissus inflammatoires serait une autre manifestation de l'activité anti-inflammatoire du fucoïdane. (426)

Certains auteurs ont également suggéré le rôle de l'inhibition des sélectines. Le fucoïdane est capable de lier et de bloquer la fonction des P et L sélectines, qui médient les intéractions entre les plaquettes, les leucocytes et les cellules endothéliales dans la formation de thrombus.(427) Le fucoïdane de bas poids moléculaire se lie aux plaquettes activées et le niveau de liaison est corrélé au degré d'activation plaquettaire.(428)

En ce qui concerne la régulation immunitaire, les relations structure-activité du fucoïdane demeurent controversées. Khil'chenko et al. ont démontré que la présence de sulfates

et de groupes acétylés a un impact majeur sur l'activité immunomodulatrice du fucoïdane, ce qui pourrait réduire la libération de cytokines inflammatoires. (429) Même si l'activité anti-inflammatoire du fucoïdane est abondement rapportée, il existe également des études révélant une production accrue de cytokines pro-inflammatoires. Une étude comparative sur les effets des fucoïdanes obtenus à partir d'Ascophyllum nodosum, de Macrocystis pyrifera, d'Undaria pinnatifida, et de Fucus vesiculosus aurait révélé leur potentiel immunomodulateur. Tous les fucoïdanes augmenteraient de façon significative la production d'IL-6, d'IL-8 et de TNF-α à partir de neutrophiles humains purifiés.(430) On suppose que le fucoïdane se lie à différents récepteurs tels que les récepteurs Toll-like (TLR) sur les cellules dendritiques (DCs), les macrophages et d'autres monocytes, puis les activerait pour libérer des facteurs pro-inflammatoires, des cytokines et des chimiokines, qui peuvent aider l'hôte à former une réponse immunitaire forte et parvenir à une régulation multicanal et multiniveau du système immunitaire.(431)

9.1.4 Angiogenèse, cicatrisation et fucoïdane

Les polysaccharides sulfatés peuvent se lier aux protéines. Des groupes d'acides aminés basiques chargés positivement sur des protéines forment ainsi des paires d'ions avec des groupes sulfates ou carboxylates (432) Par ses interactions avec les facteurs de croissance et le système du complément, le fucoïdane peut avoir des effets variés sur les cellules.(433) En particulier, le fucoïdane contribuerait à l'amélioration des fonctions cellulaires telles que l'adhésion, la migration, la prolifération et la différenciation par liaison aux protéines d'adhésion, aux facteurs de croissance et aux cytokines.(434)

Les fucoïdanes solubles, en partie en raison de leur structure ionique, pourraient agir comme réservoir de facteurs pro-angiogéniques et influencer l'équilibre entre le stockage et la libération de ces facteurs et moduler l'activité des facteurs de croissance pro-angiogéniques.(435) L'interaction entre certaines fractions de fucoïdanes et les facteurs de croissance empêcheraient leur inactivation par protéolyse (436) et induiraient une migration accrue des cellules endothéliales *in vitro*.

Les fucoïdanes de bas poids moléculaire pourraient moduler localement l'expression des métalloprotéinases matricielles pour la libération des composants matriciels.(437)

En raison de ses groupes sulfate chargés négativement, le fucoïdane se lie et modulerait l'activité de facteurs de croissance tels que le VEGF pour lequel il a une affinité élevée. (438)

Le VEGF stimule la prolifération et la migration des cellules endothéliales et recrute également des cellules mononucléaires et des macrophages qui produisent des facteurs angiogéniques supplémentaires.(439) Diverses études font état d'effets inhibiteurs et stimulateurs du traitement par le fucoïdane sur l'expression du VEGF et ses effecteurs en aval.(440, 441) Ainsi le fucoïdane extrait d'Undaria pinnatifida inhiberait *in vitro* la formation de micro-vaisseaux dans une lignée cellulaire endothéliale de veine ombilicale humaine en inhibant l'expression de l'isotype VEGF-A.(441) Avec sa structure de type héparine, le fucoïdane serait capable d'induire l'angiogenèse in vitro en modulant les propriétés proangiogéniques des facteurs de croissance de liaison à l'héparine tels que le bFGF-2 et le VEGF, en les protégeant de la protéolyse et en améliorant leur activité angiogénique, comme le démontre une augmentation de la formation de tubes dans Matrigel. (442) L'administration de fucoïdane est associée à des augmentations du VEGF et du SDF-1α dans la zone ischémique, où ces facteurs chimiotactiques pourraient mobiliser les cellules souches endothéliales et participer à la néovascularisation. Le fucoïdane aurait également le potentiel de réduit le remodelage myocardique en limitant la fibrose.(443) En effet le fucoïdane favoriserait l'angiogenèse post-ischémique, à la fois par son rôle sur le SDF-1 α qui mobilise les cellules souches de la moelle osseuse et par son action sur les facteurs de croissance. Le fucoïdane se lierait à SDF-1 α et le libèrerait ainsi de ses sites de liaison endogènes sur les protéoglycanes du sulfate d'héparane situés à la surface des membranes des cellules stromales ou de la matrice extracellulaire dans la moelle osseuse, augmentant ainsi de manière importante les taux plasmatiques de SDF-1α et sa biodisponibilité aux sites ischémiques.(438, 444) Le récepteur 4 de la chimiokine (motif C-X-C) couplé à SDF-1α est présent en particulier sur les cellules médullaires CD34+. SDF-1α induirait la mobilisation et la prolifération des cellules souches CD34+ ; il interviendrait dans l'angiogenèse avec le VEGF et le FGF 2, ce qui potentialise ses effets.(435, 445)

Diverses études ont montré les effets bénéfiques du fucoïdane dans les modèles de cellules souches/progénitrices et de maladies : le fucoïdane protègerait les cellules souches mésenchymateuses (CSM) contre la sénescence cellulaire médiée par le p-crésol par transduction du signal FAK-Akt-TWIST(446). Dans une autre étude, le fucoïdane protègerait les CSM de la mort cellulaire induite par ischémie par modulation des protéines associées à l'apoptose et des niveaux de ROS cellulaires par régulation des voies MnSOD et Akt, ce qui suggère que le fucoïdane pourrait être un adjuvant thérapeutique intéressant pour un traitement à base de CSM.(447) Lorsqu'il est administré par voie intraveineuse, le fucoïdane serait efficace pour mobiliser les cellules souches de la moelle osseuse grâce à sa capacité à se lier à SDF-

1/CXCL12, un chimiotactique (448, 449) dont il a été démontré qu'il induisait la mobilisation et le recrutement local de CPE pour augmenter leur différenciation en cellules endothéliales matures.(450) Les inhibiteurs sulfatés de la sélectine, en particulier les fucoïdanes, induiraient une mobilisation rapide et robuste des cellules souches hématopoïétiques (CSH). L'effet du fucoïdane semble également être médié par des mécanismes indépendants de la sélectine. La sulfatation, mais pas la fucosylation du glycane semble essentielle à son effet dans la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques.(451)

Le processus de cicatrisation et de réparation de plaie serait contrôlé par la libération de toutes sortes de facteurs de croissance, par exemple, les facteurs de croissance dérivés des plaquettes (PDGF), les facteurs de croissance des fibroblastes (FGF), et le facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages (GM-CSF). Parmi les facteurs de croissance disponibles, le facteur de croissance fibroblastique basique (bFGF) a un intérêt particulier. Le bFGF, un membre de la famille du FGF, est un facteur de croissance liant l'héparine. (452-454) Il interviendrait dans la cicatrisation et l'angiogenèse des plaies et jouerait un rôle clé dans la prolifération et la différenciation d'une grande variété de cellules et de tissus.(455, 456) Cependant, le bFGF n'est retenu que pendant une courte période au niveau des sites des plaies, en raison de sa susceptibilité à la dégradation enzymatique et thermique in vivo. (457) Le fucoïdane serait connu pour se lier à des facteurs de croissance se liant à l'héparine telle que le bFGF pour potentialiser son effet, pour mobiliser le facteur 1 SDF1 dérivé des cellules stromales et pour faciliter l'angiogenèse dans un modèle de rat (458). Les groupes sulfatés du fucoïdane affecteraient significativement l'activité et la libération du bFGF et seraient responsables des effets protecteurs du fucoïdane.(457, 459, 460) Un modèle de Matrigel in vitro a révélé que le fucoïdane améliorerait l'angiogenèse induite par le bFGF par l'activation médiée par JNK et p38 de la signalisation AKT/MMP-2.(461)

Parmi nos partenaires dans le cadre du projet “Programme Pionniers de la recherche - DCM20181039543“ financé par la Fondation de la Recherche Médicale, le groupe porté par le Pr Frédéric Chaubet et le Dr Jean-Baptiste Michel de l’unité INSERM U 1148 de l’hôpital Bichat a une très grande expérience dans la caractérisation et l’utilisation du fucoïdane à visée thérapeutique.

10 Méthodologie

Objectif du projet :

Améliorer la cicatrisation et l'exclusion à long terme des AI en greffant de façon covalente un polysaccharide sulfaté pro-cicatrisant, le fucoïdane, à la surface des coils utilisés pour le comblement des AI.

Type d'étude :

Il s'agit d'une étude préliminaire exploratoire, preuve de concept dont nous voulions vérifier la faisabilité. On mesure le remplissage de l'anévrisme et la cicatrisation par la fibrose anévrismale par quantification essentiellement des collagènes.

Hypothèse de travail :

Le fucoïdane favoriserait la formation du thrombus en se liant à la L sélectine exprimée par les leucocytes et P sélectine surexprimée par les plaquettes activées. Le fucoïdane mobiliserait aussi les facteurs de croissance impliqués pour le recrutement des cellules souches de la moelle osseuse et hématopoïétique qui elles-mêmes sont impliquées dans le processus de cicatrisation des anévrismes. Sur la base des potentiels avantages sus-mentionnés, nous avons émis l'hypothèse que le fucoïdane de bas poids moléculaire Ascophyscient® greffé sur des coils nus pourrait diminuer le taux de la recanalisation des anévrismes embolisés et apporter une meilleure cicatrisation quantitative et qualitative des anévrismes mesurée sur différentes échelles détaillées plus loin.

Modèle utilisé :

Il s'agit d'une étude in vivo basée sur un modèle d'anévrisme à l'élastase chez le lapin blanc de Nouvelle-Zélande (voir chapitre 11.1).

Groupes expérimentaux :

Nous avons inclus 45 lapins répartis en 3 groupes traités avec coils non recouverts ou recouverts soit avec du fucoïdane; soit avec du dextrane (à priori sans activité vis-à-vis les facteurs de croissance). Afin de respecter la règle des 3R visant à réduire le nombre d'animaux utilisés dans le cadre de la recherche et s'agissant d'une étude preuve de concept, nous n'avons

pas calculé de nombre de sujets nécessaires. L'implantation a été faite en aveugle du groupe de randomisation.

Les critères d'évaluation :

1. Résultats angiographiques pour évaluer la recanalisation à 1 mois du traitement comparant 3 groupes randomisés. Les angiographies ont été réalisés en aveugle du groupe de randomisation. Le grade d'occlusion angiographique a été analysé par trois neuroradiologues interventionnels expérimentés en aveugle du type de coils implantés et catégorisé selon la classification de Raymond-Roy modifiée. Ces évaluations ont été faites indépendamment par chacun des lecteurs et par consensus en cas de discordance. Une recanalisation était définie par la réopacification de la partie du sac anévrismal au contact du collet de l'anévrisme sur une artériographie de contrôle avec augmentation de classe selon le score Raymond-Roy modifié au cours du suivi. (**Figure 36**).

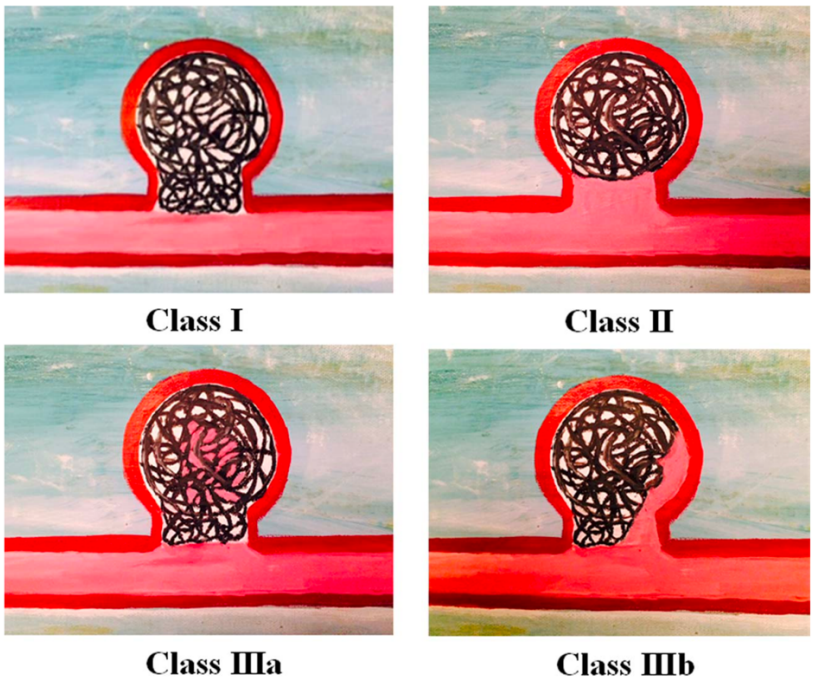


Figure 36. Classification Raymond-Roy modifiée (MRRC).

Classe I : oblitération complète ; Classe II : collet résiduel ; Classe III a : anévrisme résiduel avec contraste dans les interstices des coils ; Classe III b : anévrisme résiduel avec contraste le long de la paroi de l'anévrisme. Figure issue de Mascitelli et al.(462)

2. Le critère de jugement principal de l'étude est la cicatrisation histologique évaluée grâce à un critère composite associant histologie en microscopie classique et microscopie multiphotonique. Cette évaluation a été réalisée à trois endroits distincts du sac anévrismal de manière reproductible pour tous les anévrismes. Pour chaque anévrisme ont été définies une *zone distale* correspondant au fond de l'anévrisme, une *zone intermédiaire « milieu »* et une *zone proximale au collet* de l'anévrisme. Les prélèvements ont été réalisés à quatre semaines de l'embolisation. Les analyses histologiques ont été réalisés en aveugle du groupe de randomisation. Nous avons examiné trois critères dans chaque zone étudiée :
    - le score histologique selon le critère composite défini au chapitre 12.4.
    - la surface occupée par le collagène grâce au signal de second harmonique en microscopie multiphotonique SHG (en pourcentage par rapport à la surface totale, plugin FIJI Analyze-Measure)
    - un score de direction des fibres de collagène (grade de 1 à 3 en fonction de l'homogénéité de l'organisation de ces fibres, plugin FIJI Analyze-Directionality).

Afin d'évaluer les stades de cicatrisation en critère primaire, nous avons d'abord fait une analyse considérant l'ensemble de l'anévrisme et en critère secondaire nous avons comparé séparément chacune des trois zones anévrismales sur les trois critères précédemment cités.

Méthodes statistiques :

Résultats angiographiques : Échantillon de petite taille < 30 avec 3 groupes étudiés :

- groupe de coils recouverts de fucoïdane- 14 lapins
- groupe de coils recouverts de dextrane- 6 lapins
- groupe de coils nus- 7 lapins

- Les variables continues sont rapportées sous forme de médiane.
- Les variables catégorielles sont exprimées en fréquence (%).
- L'extension Freeman-Halton du test exact de Fisher était utilisée pour évaluer les variables qualitatives non paramétriques.
- Un test de Kruskal-Wallis était utilisé pour évaluer les variables quantitatives non paramétriques.

Les valeurs de $p<0.05$ ont été considérées comme statiquement significatives. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel R (v3.6.1).

Résultats histologiques : Échantillon de petite taille < 30 avec 3 groupes étudiés

- groupe de coils recouverts de fucoïdane- 8 lapins
- groupe de coils recouverts de dextrane- 5 lapins
- groupe de coils nus- 4 lapins

- Considérant l'ensemble de l'anévrisme pour la surface de couverture par le collagène, un test par ANOVA à 1 facteur a été utilisé.
- Considérant séparément chacune des trois zones anévrismales pour la surface de couverture par le collagène, un test par ANOVA à 2 facteurs a été utilisé (recouvrement et zone avec test de comparaison multiples post-hoc de Sidak).
- Considérant l'index histologique pour l'ensemble de l'anévrisme un test par ANOVA à 1 facteur a été utilisé (comparaison multiples avec un test de post hoc Dunett)
- Considérant séparément chacune des trois zones anévrismales pour l'index histologique un test par ANOVA à 2 facteurs a été utilisé (effet zone et coil avec test de comparaison multiples post-hoc de Tukey)

- Considérant l'organisation et l'orientation des fibres de collagène un test par ANOVA à 1 facteur a été utilisé (comparaison multiples avec un test de post hoc Dunett)

Les valeurs de $p<0,05$ ont été considérées comme statiquement significatives. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel graphPad Prism 8.

Déclaration sur les animaux et éthique :

Toutes les procédures de soin des animaux et les expérimentations ont été menées conformément à la législation française de 2013 et aux lignes directrices de la Communauté européenne (directive 2010/63/UE) et approuvée par le ministère français de la Recherche (C87-085-07).

11 Protocole de recherche

11.1 Création des anévrismes

Les anévrismes sont créés sur des lapins blancs de Nouvelle-Zélande (de 3.5-4kg) sous anesthésie générale par injection intra-musculaire de Kétamine (20 mg/kg) + Xylazine (4.5 mg/kg) + Acépromazine 1% (1mg/kg). Après rasage de la zone cervicale, une anesthésie locale par injection sous-cutanée de Xylocaïne à 2% (Xylocaïne®, ©AstraZeneca) est pratiquée suivie par une incision médiane pour exposer l'Artère Carotide Commune (ACC) droite. À la suite de dissection de l'artère, une artériotomie est réalisée, et un désilet de 5 French (Mini-guide plastique 5 Fr. Radiofocus®, Introducer II, Terumo Europe) est introduit de façon rétrograde à 1 cm de l'ostium de l'ACC droite. Deux-mille unités internationales d'héparine (Héparine Choay® sodique, 25000 U.I. / 5 mL) sont administrées par injection intraveineuse pour prévenir la formation de thrombus artériel per-procédure. Sous contrôle scopique par rayons X (Mobil C- arm – Siemens Arcadis Varic Model No.08079233 Serial No. 6676 IVK; Munchen, Germany), un cathéter d'embolectomie artérielle de 3 French (EMB 40, Fogarty®, Edwards LifesciencesTM, Edwards Lifesciences Germany) est avancé de façon rétrograde jusqu'à l'origine de l'ACC droite. A cet emplacement, le ballon d'embolectomie est gonflé avec une solution contenant du produit de contraste (Hexabrix® 320 mg/mL, Guerbet, Roissy CdG, France) afin de créer une chambre de remplissage (Fig.49). Une solution contenant 45 U.I. d'élastase pancréatique de porc (Classification of the enzyme by IUB System:3.4.21.36; Référence: Code :ES Cat. No. LS002280 Size 1gm ; Worthington Biochemical Corporation) est injectée dans cette chambre de remplissage à travers le désilet, et est laissée en incubation pendant 20 minutes. Le cathéter d'embolectomie et le désilet sont ensuite retirés, et la carotide est ligaturée en distalité. Après suture des plans musculaires profonds et du plan cutané avec un surjet de Vicryl 4-0, le lapin est réinséré dans sa cage pour suivi post-opératoire **(Figure 37)**.

Le développement d'un anévrisme requiert trois semaines après la création chirurgicale de l'anévrisme. Durant cette période, les forces hémodynamiques exercées sur la paroi artérielle lésée par l'élastase permettront la croissance de l'anévrisme qui sera stabilisée à environ 3 semaines après la création. Ce modèle expérimental permet d'obtenir des anévrismes histologiquement semblables aux AI humains avec des tailles variant de 5 à 10 mm de plus grand diamètre et un collet d'environ 4 mm.

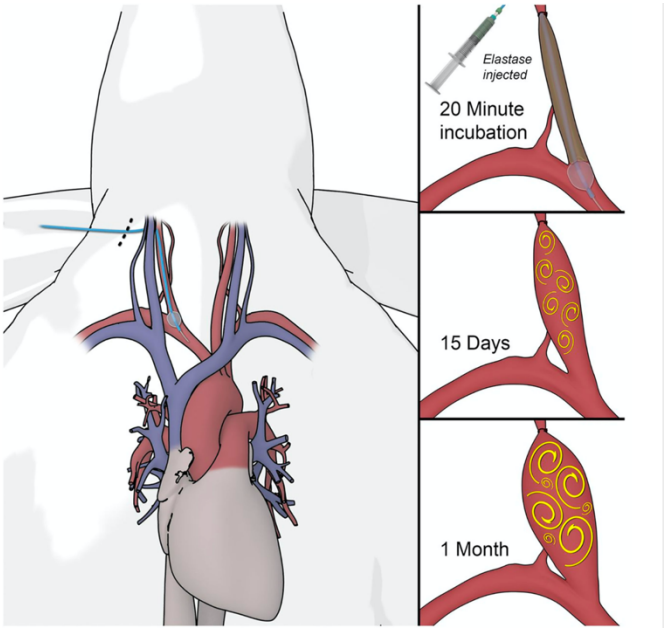


Figure 37. Modèle d'anévrisme d'élastase de lapin.

La création d'anévrisme chez le lapin consiste à exposer l'ACC droite. Après avoir obtenu un accès artériel, un ballon est avancé à l'origine de l'ACC. Lorsque le ballon est gonflé, l'élastase est injectée remplissant l'artère. L'élastase est incubée dans l'artère pendant 20 minutes. L'élastase et le ballonnet sont ensuite retirés, et la partie distale de l'ACC est ligaturée, formant l'apex de l'anévrisme. Les forces hémodynamiques exercées sur la paroi artérielle lésée par l'élastase permettront la croissance de l'anévrisme qui sera stabilisée à environ 3 semaines après la création. Images issues de Brinjikji et al.(370)

11.2 Traitement des anévrismes par voie endovasculaire

Les anévrismes ont été traités trois semaines après leur création. Sous anesthésie générale, un cathéter guide 5F Envoy (Codman Neurovascular, Raynham, MA, USA) est navigué de l'artère fémorale commune droite jusqu'au tronc brachiocéphalique. En utilisant la technique coaxiale, un microcathéter Excelsior SL 10 (Stryker, Fremont, CA, USA) est avancé dans l'anévrisme. Nous avons utilisé des coils de platine détachables Axium (Medtronic, Irvine, CA) ou Optima (BALT, Montmorency, France).

Les anévrismes ont été embolisés avec des coils Optima (Balt, Montmorency, France) ou Axium (Medtronic, Irvine, USA). Trois groupes ont été constitués et les anévrismes étaient

traités soit avec des coils de platine nu, Optima coils de BALT, Axium coils de Medtronic (groupe témoin, n=7), des coils de platine recouvert de dextrane (groupe témoin, n=6) ou des coils de platine recouvert de fucoïdane (groupe test, n=14). Les coils utilisés pour le greffage étaient des coils Axium et Axium Prime de Medtronic.

Le groupe de traitement était tiré au sort par l'assistant sans communiquer le groupe attribué à l'opérateur. L'assistant mettait à la disposition de l'opérateur en fonction du groupe assigné la taille de coil demandé par l'opérateur. Chaque anévrisme a été traité par l'opérateur en aveugle du type de coils utilisés, avec le nombre de coils jugé adapté à la taille de l'anévrisme pour obtenir la meilleure occlusion possible. L'opérateur mettait fin au coiling quand il estimait que le packing de l'anévrisme était suffisant. Toutefois, aucune technique d'assistance au coiling n'a été utilisée notamment pas de ballon de remodeling. Aucun antiagrégant plaquettaire n'a été administré après embolisation. Le dextrane serait un témoin permettant de vérifier si le fucoïdane augmente réellement la capacité de prolifération/guérison cellulaire comparativement au dextrane qui est également un polysaccharide mais n'ayant pas d'effet biologique propre. Une artériographie a été réalisée en fin d'embolisation.

11.3 Artériographie de contrôle

Les images angiographiques ont été réalisées sur un Mobil C- arm – Siemens Arcadis Varic Model No.08079233 Serial No. 6676 IVK; Munchen, Germany. Les évaluations ont été réalisées par artériographie directement après embolisation. Quatre semaines après l'embolisation, une artériographie de contrôle a été réalisée.

11.4 Pathologie

Après contrôle angiographique de l'embolisation, une euthanasie des animaux par injection létale de T61 (Embutramide, Mébézonium, Tétracaine) était exécutée suivie par un prélèvement chirurgical de l'anévrisme traité.

Pour le prélèvement de l'anévrisme, une sternotomie médiane est réalisée. Une dissection chirurgicale minutieuse est réalisée depuis l'origine de l'aorte et jusqu'à l'artère sous-clavière droite permettant de prélever l'anévrisme coilé qui est ensuite immergé dans du tampon phosphate (PBS). L'artère porteuse est coupée longitudinalement pour visualiser l'orifice du collet en vue d'une inspection macroscopique pour évaluer la prolifération tissulaire

au niveau du collet. Après photographie, l'échantillon est fixé avec 2% de glutaraldéhyde (G5882, Merck, Allemagne) pendant 24 heures avant inclusion en méthacrylate.

Fixation

Les échantillons prélevés sont rincés dans du PBS (Phosphate Buffer Saline), et fixés dans du Glutaraldéhyde 2 % 18-24 h.

La fixation au glutaraldéhyde nécessaire pour les inclusions en résine, n'a pas permis de réaliser d'analyse d'immuno-histochimique telle que :CD31 (qui vise les cellules endothéliales au collet), a-SMA (qui vise l'actine du muscle lisse, pour voir la présence de cellules musculaires lisses) et RAM-11 (anticorps spécifique des macrophages de lapin).

Déshydratation

La déshydratation est effectuée par 12 bains successifs de 24 h dans des concentrations croissantes d'éthanol (3 bains à 70%, 3 bains à 85 %, 3 bains à 95 %, 3 bains à 100%).

Inclusion

Les échantillons sont inclus en résine PMMA - poly(méthacrylate de méthyle) - selon le protocole suivant : l'échantillon est plongé pendant 72 heures dans une solution MMA I contenant 6 mL de méthyl méthacrylate, 3,5 mL de butyl-méthacrylate, 500 µL de méthyl benzoate, 120 µL de polyéthylène glycol (PEG) 400. L'échantillon est ensuite plongé pendant 24 h dans une solution MMA II contenant en plus des constituants du MMA I, 40 mg de benzoyl peroxyde.

L'échantillon est inclus dans la solution de polymérisation contenant 6 mL de méthyl méthacrylate, 3,5 mL de butyl méthacrylate, 500 µL de méthyl benzoate, 120 µL de PEG 400, 80 mg de benzoyl peroxyde, 60 µL de N,N-diméthyl-p-toluidine. La polymérisation est effectuée sans oxygène, sous atmosphère neutre, à 4°C, pendant 24 h.

Coupes

Les blocs sont coupés grâce à un microtome (RM2245, Leica) équipé de couteaux en carbure de tungstène à 6-8 µm d'épaisseur. La coupe est ensuite déposée sur éthanol sur lame (SuperFrost Plus Gold, Thermo Scientific) et séchée 18 h à 56°C.

Pour les colorations ultérieures, la résine est dépolymérisée par 3 bains de 2-méthoxyméthyl acétate.

Colorations

Les colorations à l'hématoxyline-éosine (HE) et Trichrome de Masson ont été utilisées pour les analyses en microscopie optique.

Les analyses en microscopie à la lumière blanche ont été réalisées au sein du laboratoire XLIM par Jérémy Mounier et les analyses multiphotoniques par le Dr Sylvia Bardet.

Microscopie à la lumière blanche

Les analyses en microscopie en lumière blanche ont été faites sur un scanner de lames Nanozoomer 2.0 RS (objectif x40, Hamamatsu Photonics) et les images obtenues étudiées sur le logiciel NDPView.

Microscopie multiphotonique

Pour chaque échantillon, des images en microscopie multiphotonique ont été acquises sur des lames non marquées et non déplastifiées en 3D dans le canal du signal de génération de second harmonique (SHG, correspondant principalement au collagène).

La microscopie multiphotonique donne accès à des profondeurs de plus en plus accessibles sur tissu biologique, de l'ordre de 400 µm, et permet de visualiser des images en 3 dimensions selon leurs niveau de transparance. Un microscope multiphoton BX61WI/FV1200MPE (Olympus) personnalisé est couplé avec un laser pulsé femtosecond Ti:Sapphire réglable (Chameleon Ultra II, Coherent). Des miroirs (PF10-03-P01, Thorlabs) et un extenseur de faisceau (BE02-05-B, Thorlabs) permettent l'adaptation de la taille du faisceau et de son axe dans un objectif à immersion 25X (XLPLN25XWMP, 1.05 ouverture numérique, 2 mm distance focale, Olympus). La puissance moyenne est ajustée avec un cube de polarisation (WPH10M-830, CM05-PBS202, Thorlabs). Les images 3D multi-canal (500x500 µm) sont collectées à 2 µm d'intervalle, 512×512 pixels, 12.5 µs/pixel à 810 nm avec le logiciel FluoView FV1200 (v4.1.1.5, Olympus). La lumière d'excitation est séparée de celle émise avec un miroir dichroïque (<650 nm). Les différents composants de la lumière émise de l'échantillon sont eux séparés avec un miroir dichroïque (570 nm) qui distribue la génération de second harmonique (SHG) et la fluorescence rouge vers deux tubes photomultiplicateurs (PMT) à travers des filtres d'émission spécifiques de fluorophore (405/10 pour la SHG – pseudo-couleur vert ou gris selon les images, 607/36 pour l'auto-fluorescence - pseudo-couleur rouge).

Quantification et orientation des fibres de collagène

Toutes les images ont été corrigées en arrière-plan et filtrées à la médiane de façon égale sur les échantillons après conversion en images en rouge/vert/bleu (RVB) ou en niveaux de gris. Les images ont été segmentées (attribution d'étiquettes aux voxels dans les images 3D), puis un rendu volumique direct a permis d'afficher une projection 2D à partir d'une série de données 3D et mesurées avec le logiciel Imaris (Bitplane AG). L'orientation des fibres de collagène a été calculée à l'aide du plugin OrientationJ (ImageJ, NIH). La quantification du collagène a été effectuée après la projection en Z des images brutes 3D, en divisant les canaux (RVB) pour ne conserver que les images correspondant au canal du SHG, et en établissant des plages de seuils pour mieux distinguer les fibres de collagène du reste du même échantillon (artefacts ou débris) et du fond de l'image. La surface de collagène (%) a été quantifiée à l'aide de la commande "Analyser les particules".

12 État des lieux

12.1 Structure globale du projet

Le projet regroupe deux équipes spécialisées en sciences des matériaux (P1, P2) et une équipe de recherche préclinique en neuroradiologie interventionnelle (P3).

P1 : INSERM, LVTS : Laboratoire de recherche vasculaire translationnel U 1148, Université Paris 13, Hôpital Bichat, Paris

P2 : CEA, LICSEN Laboratoire d'Innovation en Chimie des Surfaces et Nanosciences UMR 3685

P3 : CNRS XLIM UMR 7252 et CHU Limoges

Le projet se décompose en plusieurs parties avec les 3 équipes qui sont intervenues dans différentes tâches distinctes selon la stratégie suivante **(Figure 38)** :

1. La fonctionnalisation et la caractérisation des polysaccharides afin de les rendre greffables sur le substrat. *Effectuées respectivement par P1 et P2.*
2. Le greffage des polysaccharides sur les substrats métalliques (coils) en utilisant un sel de diazonium connu pour sa capacité à former des liaisons covalentes avec les métaux et à former des radicaux permettant la polymérisation de fonction méthacrylates. *Effectué par P2.*
3. La mise en culture et la mesure de la prolifération de cellules endothéliales sur des échantillons in vitro et la mise en œuvre du modèle animal. *Effectuées par P1 et P3.*
4. Évaluation des endoprothèses et études histologiques *Effectuée par P3.*

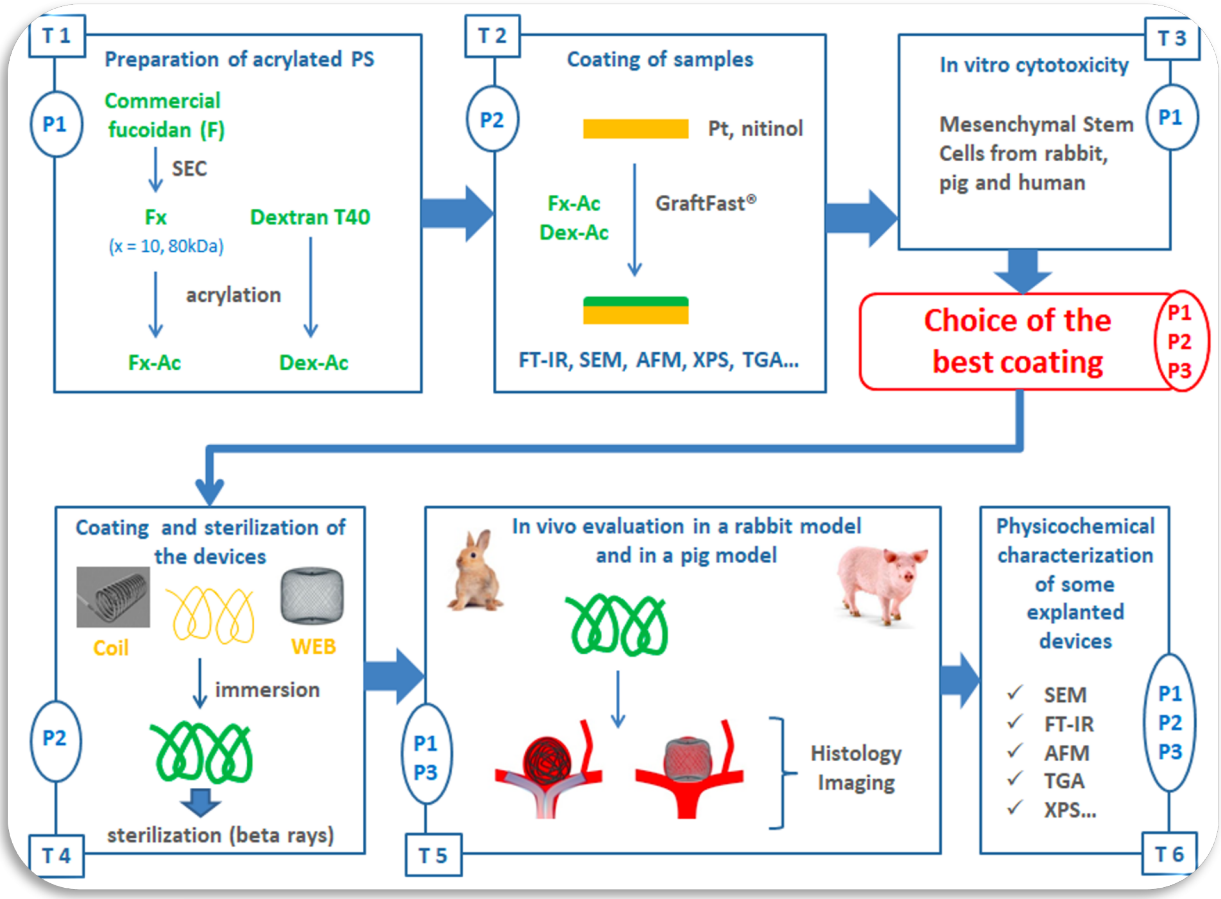


Figure 38. Schéma global du projet

Le paragraphe sur la chimie mise en œuvre au cours de ce projet est un travail préliminaire et indispensable pour la compréhension de l'étude *in vivo* qui constitue ma propre partie. Ceci est nécessaire pour éclairer mes propres travaux.

12.2 Préparation des coils

Les coils utilisés pour le greffage étaient des coils Axium et Axium Prime (Medtronic). Un fucoïdane de bas poids moléculaire commercial extrait d'Ascophyllum nodosum (Ascophyscient®) fourni par Algues et Mer (réf. ASPHY12399, Ouessant, France) et un dextrane de masses molaires T 10 ont été utilisés **(Tableau V et Figure 39)**.

Espèce	Dénomination	Masse Molaire Mw (kDa)
Fucoïdane natif atomisé	12399	10
Dextrane (T10)	Lot N°HG 26462	10

Tableau V. Polysaccharides utilisés pour les réactions

Le fucoïdane et le dextrane ont été modifiés en 2 étapes.

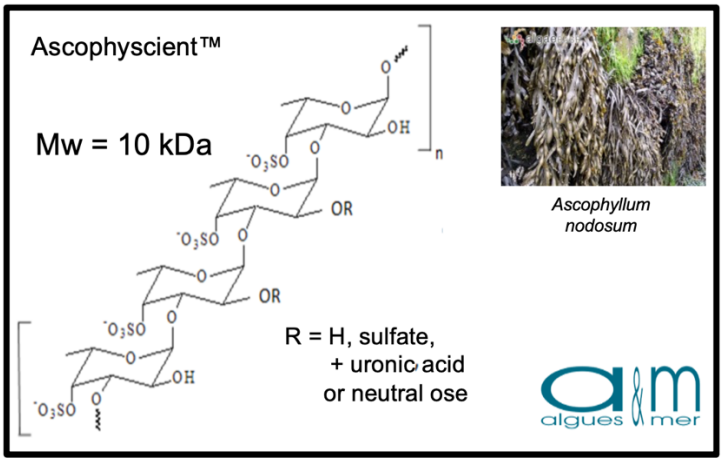


Figure 39. Structure schématique de Ascophyscient

12.2.1 Fonctionnalisation des polysaccarides

Afin de rendre les polysaccarides greffables sur les métaux, deux procédés ont été évalués, GraftFast® et une méthode électrochimique, nécessitant dans les deux cas l'introduction d'une fonction méthacrylate à l'extrémité réductrice de la chaîne polysaccharidique permettant une polymérisation radicalaire des polysaccarides et la formation d'une couche polymère à la surface du métal.

La première étape consiste à greffer par amination réductrice la propane diamine sur la fonction aldéhyde des polysaccharides. Il en résulte la formation d'une amine secondaire liée au polymère et d'une amine primaire pendante **(Figure 40)**.

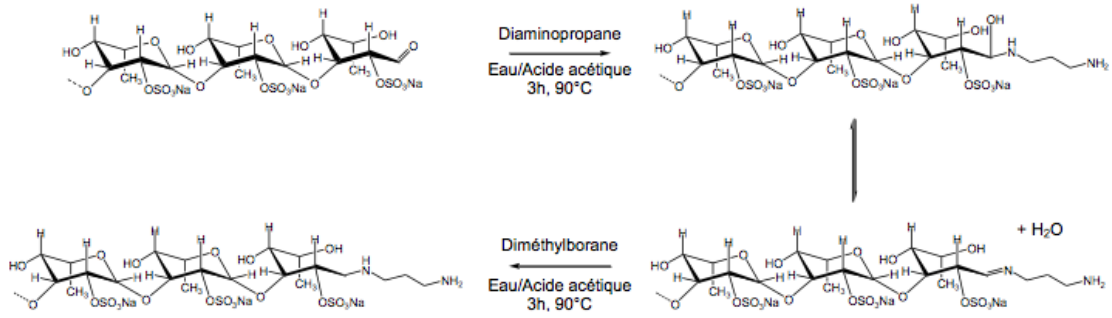


Figure 40. Amination réductrice du fucoïdane

Figure issue de la thèse de Lucas Chollet (LVTS, 2017)

Une fonction méthacrylate est alors introduite en bout de chaine du polysaccharide par réaction de l'amine primaire avec l'anhydride méthacrylique **(Figure 41)**.

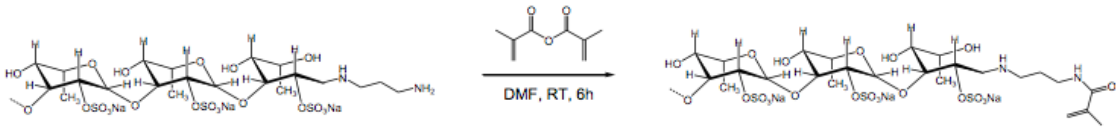


Figure 41. Méthacrylation du fucoïdane aminé

Figure issue de la thèse de Lucas Chollet (LVTS, 2017)

Dans un premier temps, le recouvrement a été étudié sur des surfaces de platine. Des substrats en verre (25-35 mm2, qq mm d'épaisseur) puis des disques en polyéthylène téréphtalate (1mm d'épaisseur et de 11 mm de diamètre) ont été recouverts de platine par pulvérisation.

12.2.2 Greffage du produit méthacrylé

Dans une première étape, un sel de diazonium est fixé sur la surface du métal. Il sert d'ancrage à la couche de polymère polyacrylique obtenue par polymérisation radicalaire des fonctions méthacrylates fixées aux polysaccharides **(Figure 42)**.

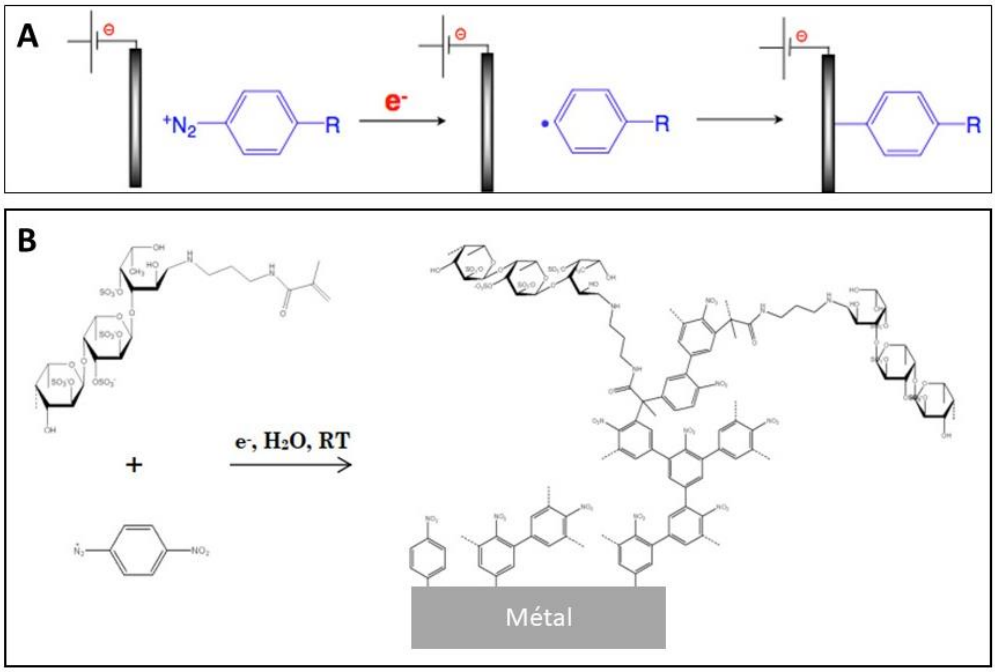


Figure 42. Le principe du greffage

(A)Greffage des sels de diazonium par réduction électrochimique Figure issue de la thèse de Lorraine Tessier 2009, (B) Polymérisation du fucoïdane méthacrylé. Figure issue de la thèse de Lucas Chollet, 2017

Deux techniques ont été utilisées pour greffer le produit méthacrylé : le greffage électrochimique, et le greffage chimique à l'aide d'acide ascorbique comme donneur d'électrons (procédé Graftfast®- **Figure 43**).

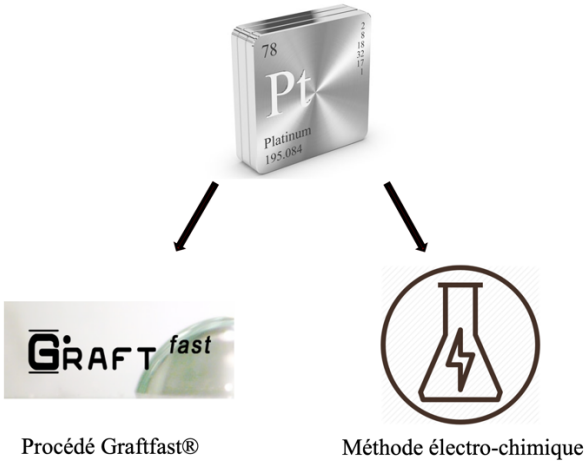


Figure 43. Techniques utilisées pour le coating de fucoïdane sur une surface de platine

12.2.3 Caractérisation

12.2.3.1 Analyse XPS

Le principe de l'analyse XPS (X-ray photoelectron spectrometry) est une détection des photoélectrons émis par une surface bombardée avec des rayons X d'une longueur d'onde définie. Les photoélectrons ont des longueurs d'onde caractéristiques des éléments dont ils proviennent, ce qui permet donc de déterminer la composition élémentaire de l'échantillon.

L'intérêt d'utiliser cette technique est de déterminer les éléments présents à la surface du platine. L'appareil va analyser la couche sur une épaisseur d'environ 10 nm : si on observe du platine dans les éléments analysés, cela peut avoir deux significations :

- L'épaisseur de la surface est inférieure à 10 nm
- La surface ne recouvre pas l'intégralité du platine.

Cette analyse permet donc d'avoir des informations sur la nature et la qualité du revêtement.

12.2.3.2 Analyse EDS

Une analyse EDS (Energy Dispersive X ray Spectroscopy) permet de faire une cartographie élémentaire de la surface d'un échantillon. Cette technique permet de cartographier le soufre à la surface de plots platinés afin de vérifier si on a réussi à déposer du fucoïdane à la surface de l'échantillon. On obtient des cartographies de ce type **(Figure 44)** :

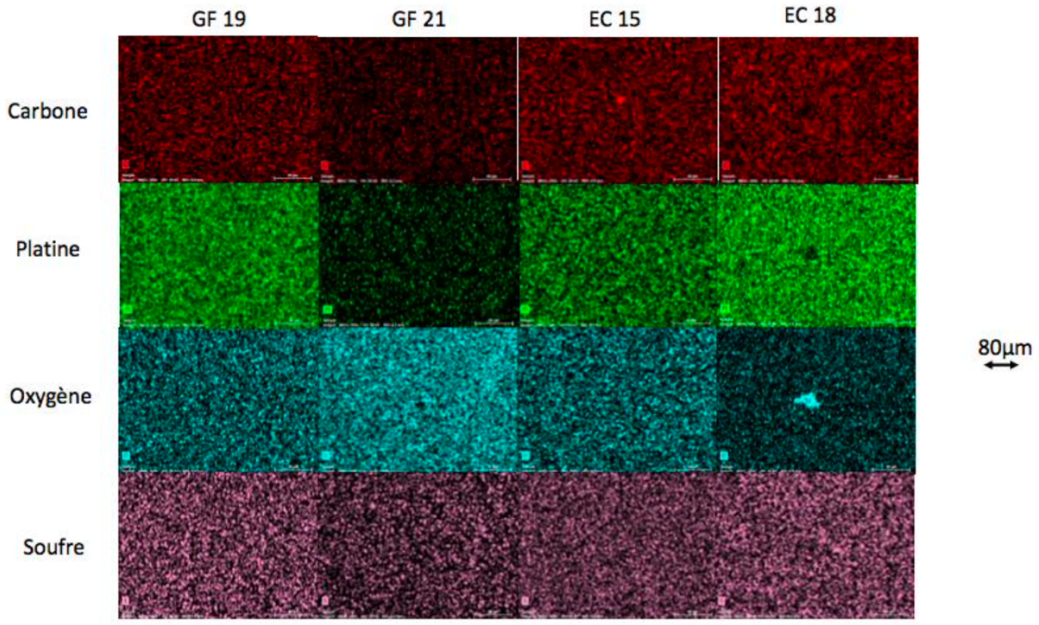


Figure 44. Cartographie élémentaire par EDS de O, Pt, C et S sur GF 19-21 et EC 15-18

Analyse sur des plaques en verre recouvertes de platine sur les échantillons GraftFast :19, 21 et Électrochimie :15, 18 : On cartographie les éléments Oxygène, Carbone, Platine et Soufre. On observe du soufre sur tous les échantillons répartis de manière homogène.

Des recouvrements réguliers ont été observés avec les deux techniques de greffage et validés par analyse XPS et par EDS. Il a alors été décidé de tenter le greffage sur des fragments de coils commerciaux dédiés au traitement des anévrismes.

12.2.4 GraftFast sur coil

La cartographie chimique de coils sur lesquels a été greffé du fucoïdane avec le protocole Graftfast a été réalisée comme précédemment décrit avec les surfaces modèle **(Figure 45)**.

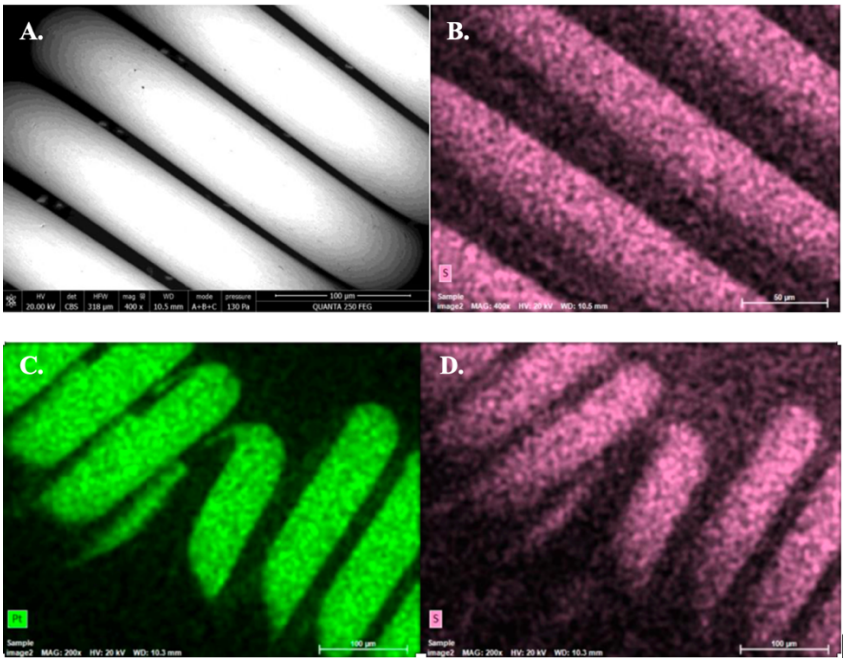


Figure 45. Microscope électronique de balayage (MEB) et Cartographie EDS des coils fonctionalisés

En haut coil 1 en GraftFast ;A- images MEB , B- Cartographie EDS du soufre en rose;
En bas coil 2 en Graftfast, C- Cartographie EDS de platine en vert, D- Cartographie EDS de soufre en rose

On observe du soufre de façon homogène sur tout le coil (**figure 45 B et D**). Étant donné le mode opératoire, ce soufre ne peut provenir que des sulfates du fucoïdane. On peut donc conclure que du fucoïdane a bien été déposé de façon homogène à la surface du coil.

12.2.5 Conclusions sur la modification des prothèses

En ce qui concerne la fonctionnalisation du fucoïdane, les équipes de chimie du LVTS et du CEA ont réussi à placer une fonction méthacrylate en bout de chaine. Les deux méthodes de greffage ont permis de greffer le fucoïdane sur les coils. La technique GraftFast est plus aisée à mettre en œuvre bien que l'électrochimie permette un meilleur contrôle des réactions et donc une meilleure reproductibilité. Les analyses XPS et EDS montrent que du fucoïdane a bien été greffé de façon covalente sur du platine, sous forme de plot ou de coil.

Au final, si la préparation et la caractérisation des polysaccharides sont longues, le greffage s'effectue vite et l'EDS est une méthode de choix pour valider le greffage du fucoïdane grâce à la mise en évidence des atomes de soufre des groupement sulfates.

Ces éléments sont en faveur de la possibilité d'un développement commercial de la technique pour le greffage de fucoïdane à la surface de coils pour l'optimisation biologique. De plus, le fucoïdane est une molécule dont le coût n'est pas élevé ce qui en fait un candidat de choix.

12.3 Imagerie multiphotonique

L'imagerie par microscopie multiphotonique est une technique d'imagerie récente et encore peu explorée dans le domaine neurovasculaire. Elle offre la possibilité d'étudier des échantillons biologiques sans procédure de marquage au préalable tout en préservant l'ultrastructure du tissu (moléculaire, histologique). La microscopie multiphotonique est non invasive et peut servir à l'évaluation de l'architecture de tissus biologiques épais. Elle offre ainsi des repères anatomiques qui se rapprochent de ceux observés en microscopie à lumière blanche, mais avec une plus grande résolution spatiale.

Notre équipe a déjà montré l'intérêt de la microscopie multiphotonique pour l'évaluation de la cicatrisation de dispositifs intra-artériels, notamment pour la néo-endothélialisation de stents flow-diverters utilisés pour le traitement d'anévrismes intracrâniens. (463, 464)

L'excitation à deux photons (TPE) présente l'avantage, par rapport aux techniques classiques à un photon, d'exciter l'échantillon avec une longueur d'onde dans le spectre du proche infrarouge, moins soumise à la diffusion ou à l'absorption à partir d'échantillons biologiques épais qui correspondent à des capacités de pénétration plus profondes.(465) Le TPE peut être utilisé pour déclencher la fluorescence de tous les fluorophores potentiels, y compris l'autofluorescence, les colorants chimiques et les protéines fluorescentes. L'application de la combinaison de longueurs d'onde d'excitation distincte au laser Ti : Sapphire avec un oscillateur paramétrique optique (OPO) permet des évaluations multiplexées de fluorescence et sans marqueur des échantillons. La morphologie tissulaire sans coloration peut être étudiée sur la base du signal auto-fluorescent généré par la composante moléculaire des cellules. La génération de seconde harmonique (SHG) est un phénomène de diffusion de la lumière cohérente non linéaire provenant de l'interactivité des ondes lumineuses avec une composition moléculaire qui ont des qualités physiques particulières de type cristal. Des molécules telles que le collagène permettent de recueillir le SHG en réflexion ou en transmission. Pour le collagène, cette caractéristique a été exploitée pour recueillir une analyse quantitative de la structure fibrillaire. Le collagène est très sensible dans le SHG, en tant que tel, il est l'un des composants de matrice les plus fréquemment examinés accessibles en microscopie sans étiquette.

Les limites de la microscopie multiphotonique sont ses coûts initiaux élevés. Bien qu'elle soit supérieure à la microscopie confocale, une profondeur de pénétration restreinte de 250 à 500 μm rend la technique peu pratique pour certains examens. Un autre problème est la

résolution spatiale de la microscopie multiphotonique. La résolution est dictée par la longueur d'onde de l'illuminateur, et l'application d'un effet de longueur d'onde plus grande dans une réduction d'environ 1,4 de la résolution par contraste avec la microscopie confocale.(466) L'utilisation de longueurs d'onde décalées en rouge et dans le proche infrarouge assure une phototoxicité diminuée par rapport aux longueurs d'onde visibles et UV, et la section optique intrinsèque de l'excitation multiphotonique évite le photoblanchiment hors du plan focal. Un avantage important de l'imagerie SHG et THG est l'absence de photoblanchiment tout au long des protocoles d'acquisition étendus si l'analyse est limitée à une molécule intrinsèque, néanmoins, ces techniques permettent l'analyse d'un nombre restreint d'espèces moléculaires.(467, 468)

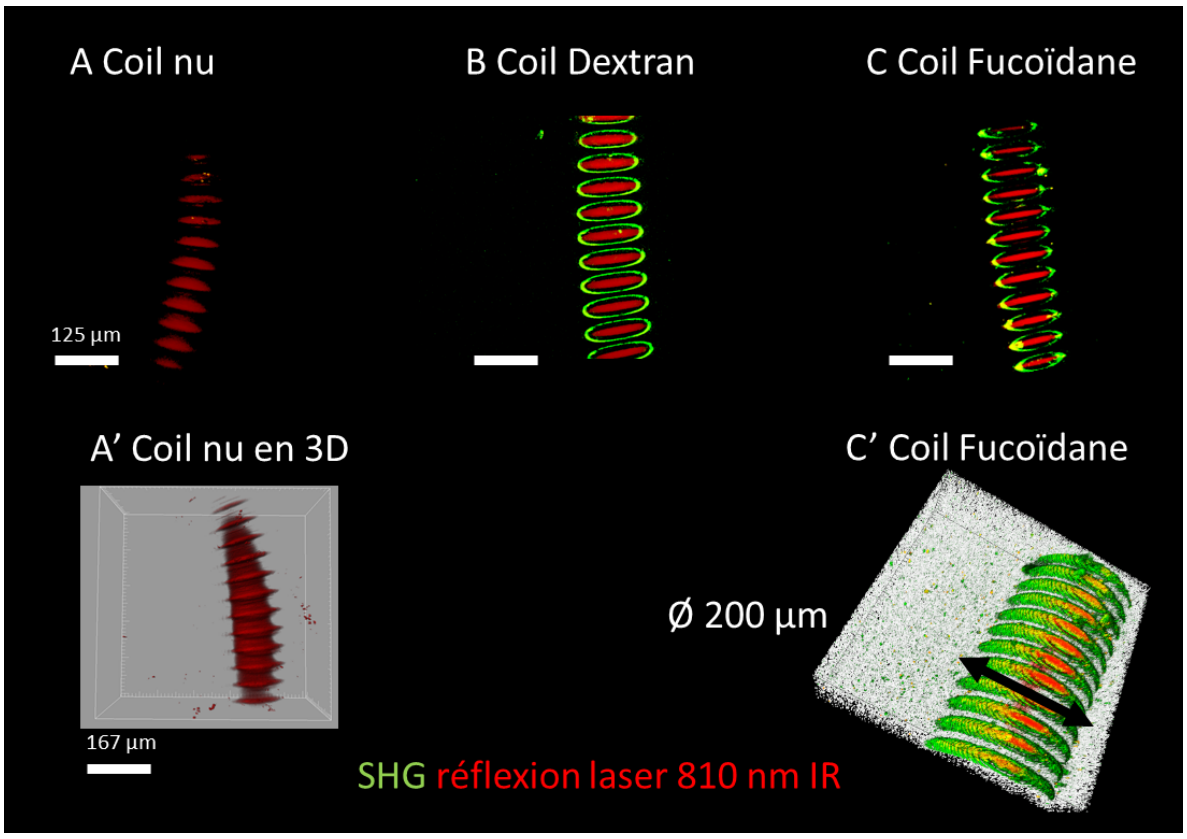


Figure 46. Imagerie de coils nu et coils biologiquement modifié en microscopie multiphoton à 810 nm d'excitation

Le coil nu (A en 2D et A' en 3D) génère du signal dans le canal rouge dû à la réflexion du laser sur le métal. Le coil revêtu avec du dextrane (B) comme celui avec du fucoïdane génère du signal de second harmonique (SHG) dans le canal vert tout comme du signal dans le canal rouge (réflexion du laser infra-rouge aussi). Le diamètre du coil peut être vérifié de façon précise (200 µm) sur les images obtenues. La barre d'erreur en A s'applique en A, B et C (125 µm), celle en A' s'applique en A' et C' (167 µm).

Dans un premier temps, des coils non implantés sont observés hors contexte biologique de façon à identifier leur signal éventuel de fluorescence et de génération de second harmonique (SHG) au microscope multiphotonique. **(Figure 46)**

Certaines sections histologiques marquées (HES, Trichrome de Masson) ou non marquées sont observées en microscopie multiphotonique une fois recouverte. En effet, le laser femtoseconde est capable de traverser la lamelle et le milieu de montage pour accéder au tissu. Plusieurs tests ont permis de montrer que les sections n'avaient même pas besoin d'être déplastifiées (élimination de la résine méthacrylate par divers traitements, voir section Matériel et Méthodes dédiée) pour que du signal des tissus biologiques soit enregistré correctement.

Sur la **figure 47**, une section d'anévrisme occlus (#158) observée en HES et comparativement en microscopie multiphotonique permet de distinguer la nature de la cicatrisation avec dépôts de collagène de type I (responsables de la majorité du signal de SHG).

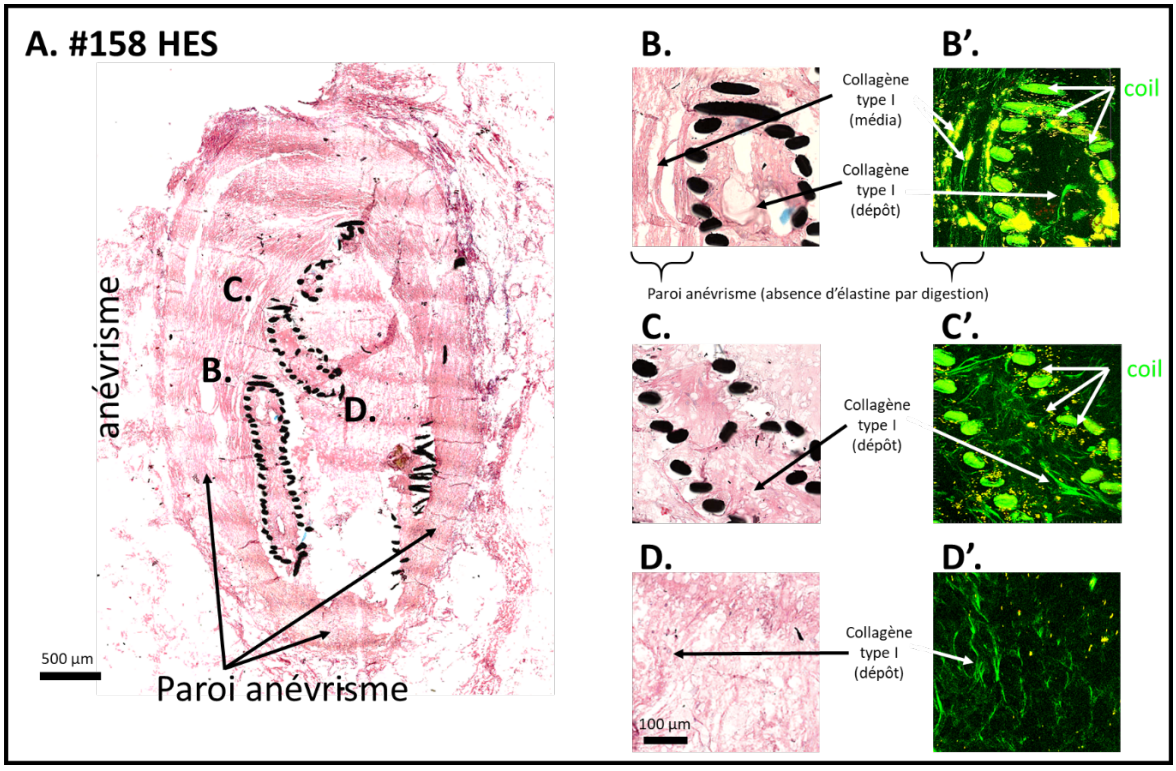


Figure 47. Images comparatives en microscopie optique en coloration HES et microscopie multiphotonique pour l'échantillon N°158

Les images B et C ont été capturées entre les spires des coils alors que l'image D était à la périphérie.

L'échantillon #25 **(Figure 48)** est marqué en HES et analysé comparativement en microscopie multiphotonique dans une zone proche de la paroi de l'anévrisme (B, B' et C, C') : il n'y a pas d'élastine observable en HES ou en multiphoton (PMT2, rouge) dans la paroi suite à sa dégradation par l'élastase du pancréas de porc injectée directement in vivo chez le lapin en début d'expérimentation. Un dépôt plus important de collagène est présent dans l'anévrisme, à l'exception de la zone D', où le signal de SHG est quasiment absent.

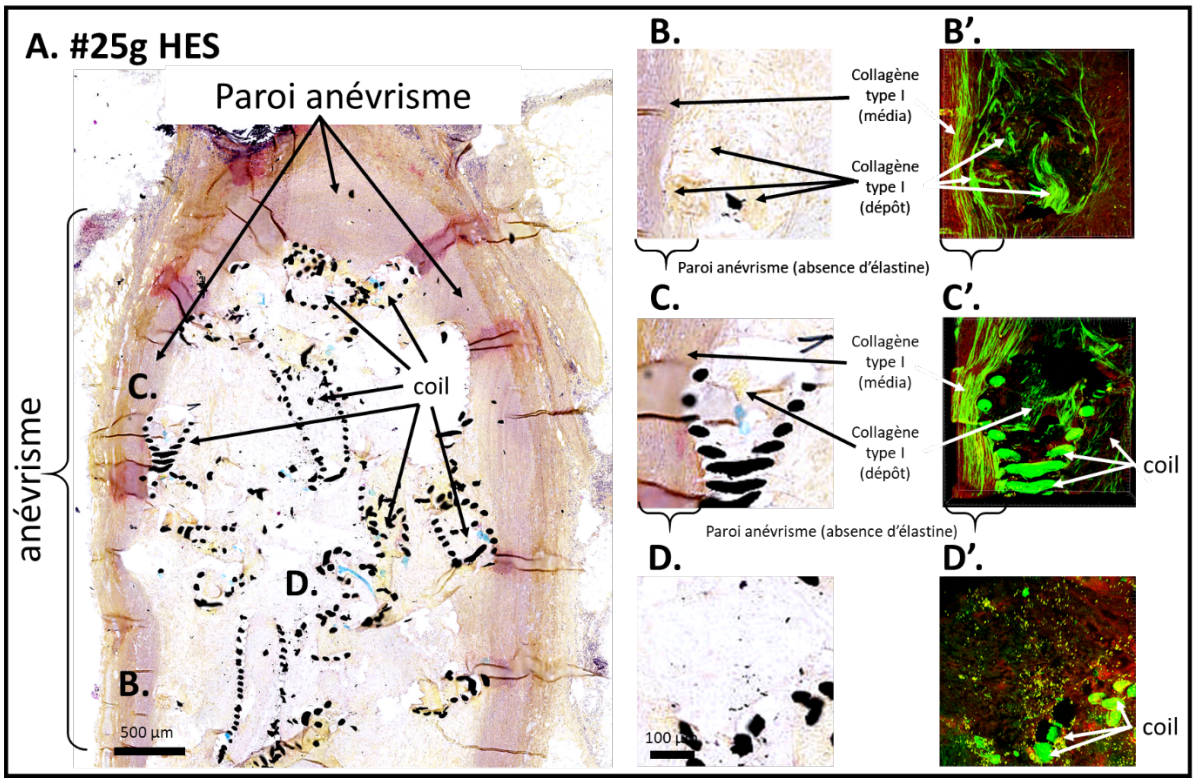


Figure 48. Images comparatives en microscopie optique en coloration HES et microscopie multiphotonique pour l'échantillon N°25

12.4 Nouvelle classification histologique intégrant la microscopie multiphotonique

Dai et al. ont évalué l'histologie à partir d'échantillons colorés par hématoxyline-éosine (HES) analysés en microscopie optique. Leur score histologique varie de 1 à 5 selon le niveau de progression de la cicatrisation. La cicatrisation du collet et la cicatrisation du dôme ont été inspectées et notées séparément en une notation macro-collet en fonction de la couverture du collet de l'anévrisme et une notation microcollet catégorisée selon une quantification approximative en groupes en fonction de la présence de thrombus organisé, de fibrine et d'une couche mince de tissu hypercellulaire. Le dôme a été classé selon que le tissu était organisé ou non et selon qu'il s'agissait de tissu fibreux plus ou moins dense .(229)

La microscopie multiphotonique offrant plus de détails et de précisions, il est possible de visualiser plus en détails le processus de guérison de l'anévrisme coilé avec une distinction qualitative et quantitative des cellules, du collagène, mais aussi le tissu musculaire. En effet, le collagène fibrillaire de type I et II est le stimulus important des signaux SHG dans les tissus animaux en raison de leur nature non centrosymétrique et cristalline.(469, 470) Un autre générateur de SH est la myosine, qui peut également être observée dans la structure de la paroi vasculaire. L'analyse quantitative exacte de la composante cellulaire de l'anévrisme au lieu d'une classification approximative de groupe permet une notation de la cicatrisation plus robuste et précise.

Les différentes observations histologiques aussi bien visible en (HES) qu'en microscopie multiphotonique nous permettent de discriminer plusieurs stades de cicatrisation selon la présence d'érythrocytes, de matrice extra-cellulaire et de cellules dans un tissu plus ou moins bien organisé.

Nous avons ainsi établi une classification en 5 stades progressifs **(Figure 49)** :

- **Stade I :** aucune cicatrisation de la zone. Le sang est circulant, les érythrocytes sont nombreux, intacts ou presque (Er, transparent en HES et légèrement coloré en SHG).
- **Stade II :** un agrégat plaquettaire s'est formé (Agr, autofluorescence rouge) avec encore des érythrocytes présents, mais sans aucun signal de SHG (pas de matrice extracellulaire à base de collagène).
- **Stade III :** un tissu néoformé présente des signes de cicatrisation, avec la présence encore de quelques érythrocytes et les premières fibres de collagène de type I (vert SHG) qui entourent les lacunes qui contenaient ces érythrocytes.
- **Stade IV :** le tissu cicatriciel commence distinctement à se former avec des fibres de collagène (SHG, vert) entourant des cellules de type fibroblaste auto-fluorescentes très faiblement en rouge.
- **Stade V :** les cellules sont plus nombreuses en HES comme en microscopie multiphotonique (auto-fluorescence rouge) ainsi que les fibres de collagène très nombreuses (SHG, vert). Le tissu cicatriciel est dense, sans lacune ni aucune trace d'érythrocytes.

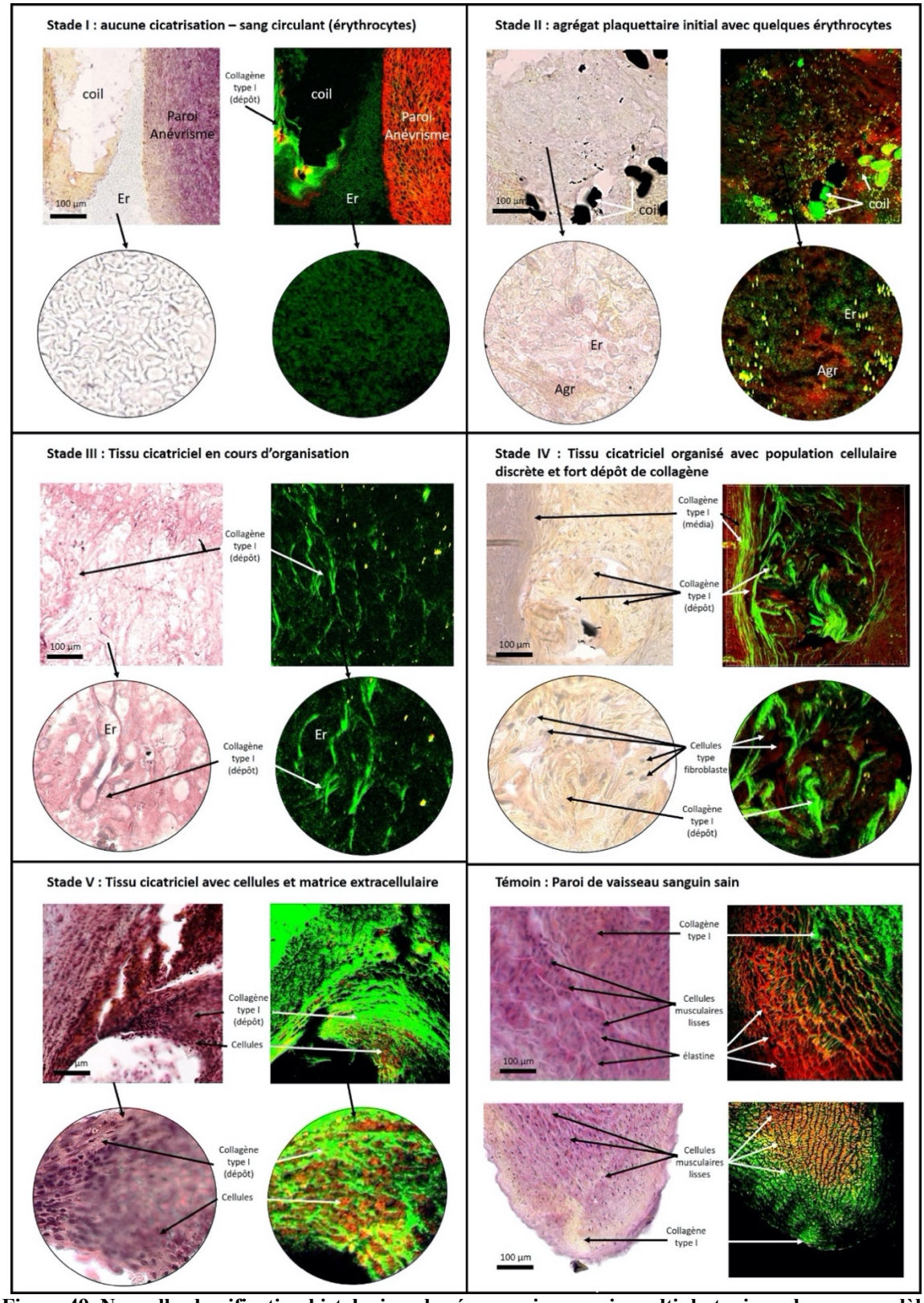


Figure 49. Nouvelle classification histologique basée sur microscopie multiphotonique dans un modèle d'anévrisme à l'élastase chez le lapin

La comparaison HES/microscopie multiphotonique au niveau de la paroi intimale à plusieurs niveaux de coupe. L'élastine lorsqu'elle est présente est clairement distinguable par son aspect de nervures anastomosées et sa forte auto-fluorescence en rouge.

13 Résultats

13.1.1 Résultats angiographiques

Au total 27 anévrismes coilés ont pu être contrôlés par artériographie à quatre semaines de l'embolisation et prélevés pour analyses histologiques. La répartition des animaux par groupes était : 14 lapins dans le groupe fucoïdane, 6 dans le groupe dextrane et 7 dans le groupe coils nus.

Étant donné que les images angiographiques ont été réalisées dans une salle sans possibilité d'acquisition tridimensionnelle, il n'a pas été possible de calculer de volume pour les anévrismes étudiés.

La **Figure 50** présente un anévrisme à l'élastase chez le lapin (A) traité par coils fucoïdané avec contrôle angiographique post embolisation (B) et contrôle à quatre semaines.

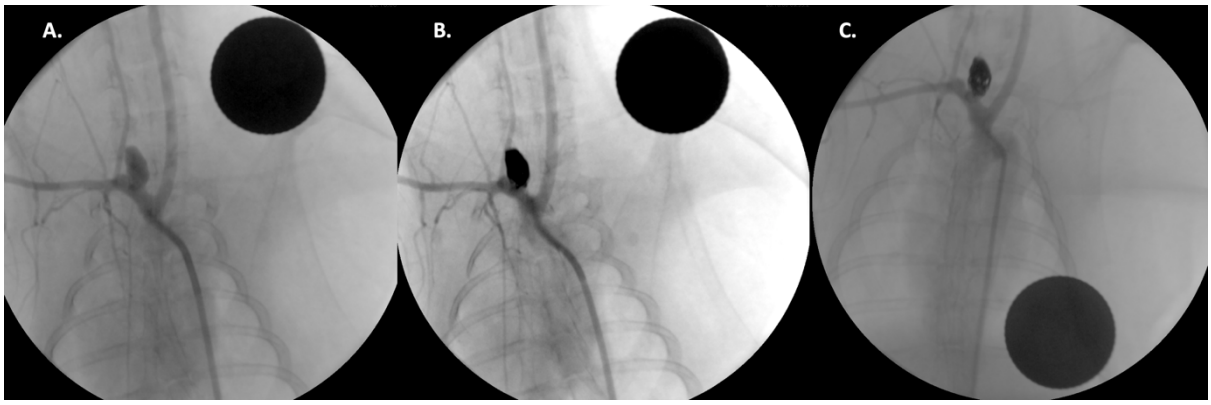


Figure 50. Séquences d'angiographie à trois temps

Lapin N°150 du groupe fucoïdane En A. angiographie 1 mois après création d'anévrisme ; B. résultat direct après embolisation de l'anévrisme ; C. contrôle angiographique à 1 mois post traitement

Les résultats angiographiques par animal sont détaillés dans les **tableaux VI-VIII**.

Tableau VI. Groupe fucoïdane

Numéro du lapin		Taille de l'anévrisme (profondeur x collet)	Nombre de coïls utilisés	Longeur de coïls utilisés	Grade de l'occlusion de l'anévrisme post-traitement	Grade de l'occlusion de l'anévrisme 1 mois après traitement	Recanalisation/ Évolution
1.	N°18	11 x 3 mm	4	48 cm	Classe I.	Classe I.	Non
2.	N°20	7,5 x 3,8 mm	3	21 cm	Classe I.	Classe I.	Non
3.	N°21	7,5 x 4 mm	3	22 cm	Classe I.	Classe III.a	Oui
4.	N°25	10 x 3,8 mm	4	36 cm	Classe II.	Classe II.	Non
5.	N°28	11 x 4,4 mm	5	52 cm	Classe I.	Classe I.	Non
6.	N°30	4,5 x 2 mm	1	4 cm	Classe I.	Classe I.	Non
7.	N°31	4,5 x 3 mm	4	24 cm	Classe I.	Classe I.	Non
8.	N°144	4,8 x 2 mm	2	12 cm	Classe I.	Classe I.	Non
9.	N°149	9,5x 3,5 mm	1	30 cm	Classe I.	Classe I.	Non
10.	N°150	7 x 4,5 mm	3	53 cm	Classe I.	Classe I.	Non
11.	N°152	6,5 x 3 mm	1	15 cm	Classe I.	Classe II.	Oui
12.	N°153	9 x 2,5 mm	1	30 cm	Classe I.	Classe I.	Non
13.	N°156	9 x 3,5 mm	2	50 cm	Classe I.	Classe II.	Oui
14.	N°161	5,5 x 2,5 mm	1	15 cm	Classe I.	Classe I.	Non

Tableau VII. Groupe dextrane

Numéro du lapin		Taille de l'anévrisme	Nombre de coïls utilisés	Longeur de coïls utilisés	Grade de l'occlusion de l'anévrisme post-traitement	Grade de l'occlusion de l'anévrisme 1 mois après traitement	Recanalisation/ Évolution
1.	N°22	6,4 x 3,3 mm	1	8 cm	Classe II.	Classe III.a	Oui
2.	N°154	7,6 x 2,8 mm	2	24 cm	Classe I.	Classe II.	Oui
3.	N°155	9x 2,2 mm	1	10 cm	Classe II.	Classe II.	Non
4.	N°157	5 x 3 mm	1	15 cm	Classe II.	Classe III.a	Oui
5.	N°158	4,2 x 2 mm	1	6 cm	Classe I.	Classe I.	Non
6.	N°164	7,4 x 3,6 mm	1	25 cm	Classe I.	Classe I.	Non

Tableau VIII. Groupe coils nus

Numéro du lapin		Taille de l'anévrisme	Nombre de coïls utilisés	Longeur de coïls utilisés	Grade de l'occlusion de l'anévrisme post-traitement	Grade de l'occlusion de l'anévrisme 1 mois après traitement	Recanalisation/ Évolution
1.	N°15	11 x 6 mm	2	60cm	Classe II.	Classe III.a	Oui
2.	N°17	5,4 x 2,7 mm	2	14 cm	Classe I.	Classe III.a	Oui
3.	N°19	8 x 2,7 mm	1	20 cm	Classe I.	Classe II.	Oui
4.	N°23	3,5 x 2 mm	3	15 cm	Classe I.	Classe I.	Non
5.	N°146	4 x 2 mm	1	8 cm	Classe I.	Classe II.	Oui
6.	N°148	2,6 x 1,8 mm	1	4 cm	Classe I.	Classe I.	Non
7.	N°160	2,6 x 1,7 mm	1	10 cm	Classe I.	Classe I.	Non

Les groupes étaient comparables concernant la profondeur (p= 0.13) et la largeur des anévrismes (p= 0.1).

La différence de longueur de coils déployés dans les anévrismes était statistiquement non significative entre les trois groupes (p=0.08)

Dans le groupe fucoïdane, 3 cas de recanalisation sur 14 (21,4 %) ont été observés contre 7 sur 13 (53,8 %) dans le groupe contrôle. Malgré une tendance à moins de recanalisation dans le groupe fucoïdane, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence (p= 0.21). (**Tableau IX.**)

Tableau IX. Résultats angiographiques

	Groupe Coils nus	Groupe fucoïdané	Groupe dextrane	Comparaison entre les 3 groupes *(condition de validité p< 0.05)*	Remarques
Recanalisation	**4/7 (57%)**	**3/14 (21.4%)**	**3/6 (50%)**	**Freeman-Halton extention Fisher exact test p= 0.21**	**Différence statistiquement non significative de la recanalisation**
Médiane de la profondeur des anévrismes	**4**	**7.5**	**6.9**	**Kruskal test p= 0.13**	**Différence statistiquement non significative de la profondeur**
Médiane de la largeur des anévrismes	**2**	**3.25**	**2.9**	**Kruskal test p= 0.1**	**Différence statistiquement non significative de la largeur**
Médiane de la longueur des coils	**14**	**27**	**12.5**	**Kruskal test p= 0.08**	**Différence statistiquement non significative de la longueur entre coils fucoïdanés et témoins**

13.1.2 Résultats histologiques

Les 27 anévrismes ont pu être prélevés un mois après implantation des coils et après contrôle artériographique. Huit anévrismes n'ont pu être analysés en histologie du fait de difficultés techniques liées à l'inclusion en résine PMMA ou d'une mauvaise qualité des coupes. Les analyses histologiques ont ainsi porté sur 19 anévrismes : 8 dans le groupe fucoïdane, 5 dans le groupe dextrane et 4 dans le groupe coils nus.

Pour chaque échantillon, des images en microscopie multiphotonique ont été acquises sur des lames non marquées et non déplastifiées en 3D dans le canal du signal de génération de second harmonique (SHG, correspondant principalement au collagène) (**Figure 51**). Étant donnée l'hétérogénéité des stades de cicatrisation au sein d'un même anévrisme, les analyses

ont porté sur trois zones distinctes de l'anévrisme. Pour chaque anévrisme ont été définies une zone distale correspondant au fond de l'anévrisme (**Figure 51 C**), une zone intermédiaire « mil » (**Figure 51 D**) et une zone proximale au collet de l'anévrisme (**Figure 51 E**).

En raison de la difficulté technique à inclure et à réaliser des sections du bloc de résine plastique (méthacrylate) en gardant un plan droit sans déformation de l'échantillon et sans abîmer celui-ci à la coupe, deux anévrismes n'ont pu être analysés au niveau du collet qui n'était pas visualisable dans le plan de coupe dont un dans le groupe coils nus et un dans le groupe fucoïdane.

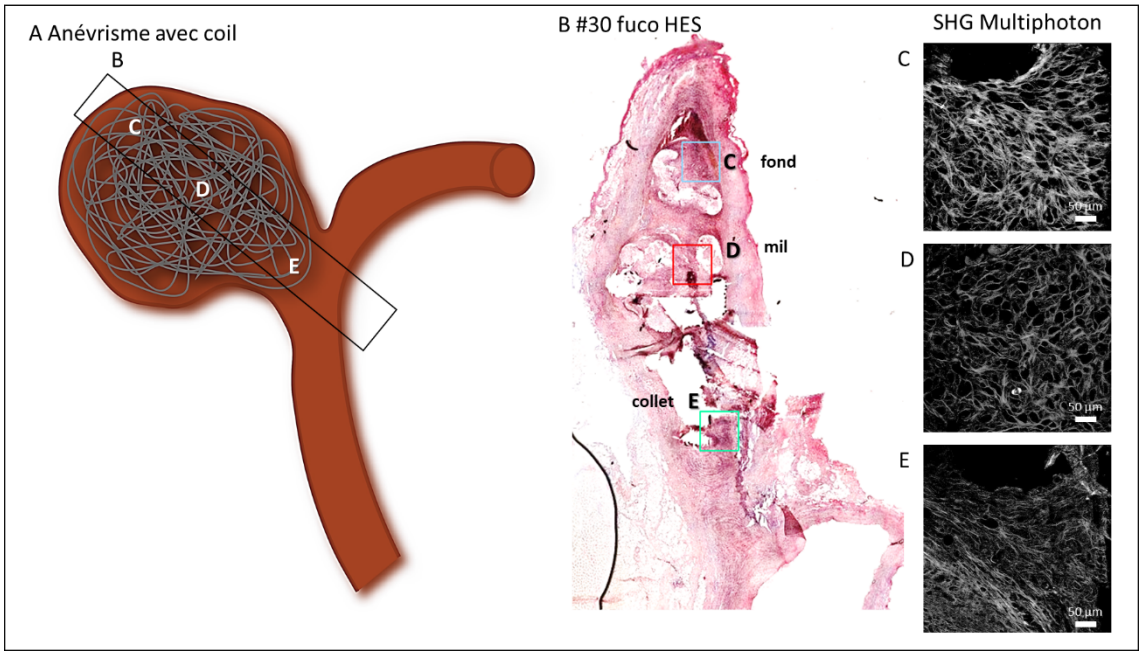


Figure 51. Imagerie de la cicatrisation de l'échantillon N°30 par la génération de second harmonique (SHG) en microscopie multiphotonique sur lame histologique.

En A, une représentation schématique d'un anévrisme expérimental *in vivo*, induit au préalable par action de l'élastase, montre le remplissage de la cavité par une pelote de coils. La coupe histologique réalisée en HES en B permet d'avoir sur la même section la zone la plus distale – profonde « fond » (C) - de l'anévrisme, une zone intermédiaire « mil » (D) et la zone du collet de l'anévrisme (E). Les images capturées en microscopie multiphotonique dans le canal de la SHG montrent la cicatrisation due au collagène (en gris blanc en C-E). Barre d'échelle indiquée en C, D et E = 50 µm.

Sur la **figure 51**, le plan de coupe est indiqué et permet de bien visualiser les 3 zones précédemment définies sur la même section. Les images obtenues en SHG (signal dû au collagène en C, D et E) montrent dans cet exemple des fibres bien organisées délimitant une

zone noire ovale inférieure à 40 µm de diamètre (absence de signal) correspondant à des cellules de type fibroblaste.

Considérant l'ensemble de l'anévrisme, nous avons observé respectivement pour les groupes coils nus, fucoïdane, et dextrane, des surfaces de couverture par le collagène de 25.84%, 55.58% et 88.95%, sans différence significative entre les groupes, avec cependant une tendance à une production plus importante dans les groupes fucoïdane et dextrane comparativement aux coils nus **(Figure 52 A)**. Les coils recouverts semblent générer en moyenne une densité de collagène plus importante que les coils non recouverts, malgré l'importante variabilité dans chaque groupe (barres d'erreur assez étendues). Cette tendance pourrait être confirmée en augmentant le nombre d'animaux dans chaque groupe dans des expériences futures et en améliorant encore la qualité des coupes et sections histologiques.

Considérant séparément chacune des trois zones anévrismales, nous observons une absence quasi-totale de collagène au collet des anévrismes traités par des coils nus (**Figure 52 B**, 0.67% ±0.48), ainsi qu'une quantité plus faible dans la zone intermédiaire (9.9% ±13.29) que dans les coils recouverts (fucoïdane : 16.07% ±8.35 et 18.99% ±14.11, dextrane : 30,90% ±22.15 et 32,26% ±17.56). Une différence significative a été mise en évidence avec présence de collagène supérieure dans la zone du collet des anévrismes traités par coils nus versus coils fucoïdanés (p=0.011).

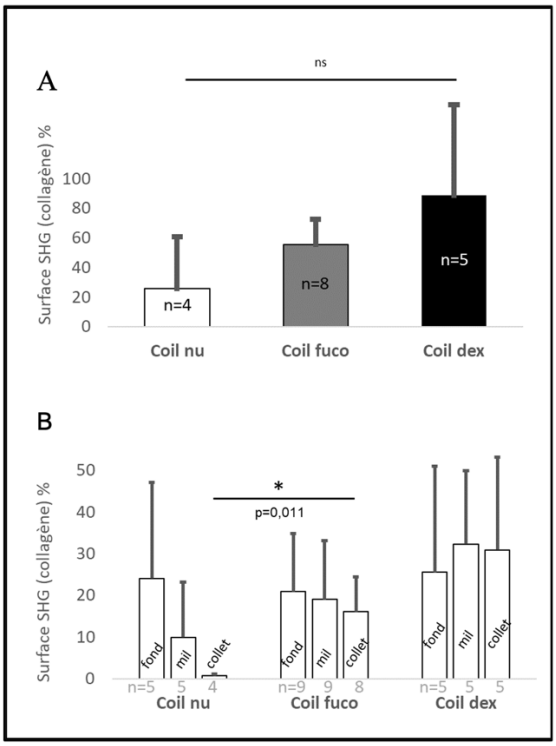


Figure 52. L'analyse de la quantité de collagène (%) par SHG montre une répartition hétérogène selon les différents groupes de coils

A et B : Les coils recouverts de fucoïdane ou de dextrane permettent une production de collagène plus élevée par rapport aux coils non recouverts « nus ». La surface occupée par le signal de SHG due à la présence de fibres de collagène a été calculée et la moyenne ±SD par groupe (nu, fucoïdane, dextrane) des sommes des 3 zones anévrismale est représentée en A et la moyenne ±SD de chaque zone (fond, mil, collet) en B. * : $p<0.05$

L'index histologique pour les anévrismes traités par coils nus était de 7/15 contre 11/15 pour les coils dextrane et également 11/15 pour les coils fucoïdanés avec une différence significative (p=0.019) **(Figure 53 A)**. Considérant séparément chacune des trois zones anévrismales, on observe une cicatrisation quasi-nulle au niveau du collet pour les anévrismes traités avec des coils nus. La cicatrisation est plus avancée au centre et au fond de l'anévrisme qu'au collet **(Figure 53 B)**. L'index histologique au collet est supérieur dans les coils fucoïdanés (3.78/5) et avec un recouvrement dextrane (3.2/5) comparativement aux coils nus (1.5/5). La différence est statistiquement significative entre la cicatrisation au collet des anévrismes traités par coils fucoïdanés versus coils nus (p=0.004, **Figure 53 B**).

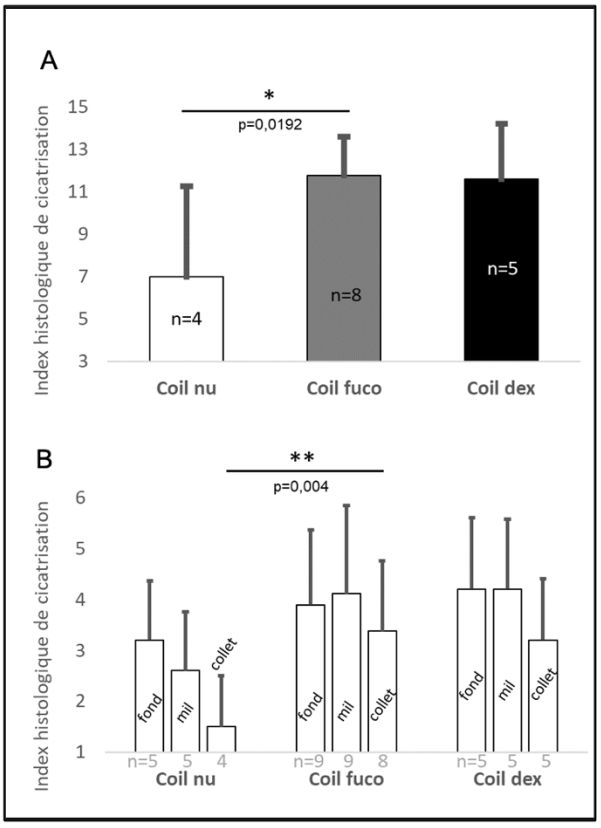


Figure 53. Index histologique de la cicatrisation des anévrismes selon le type de coil et la zone anévrismale

A et B : L'index histologique serait en faveur que des coils recouverts de fucoïdane ou de dextrane facilitent une cicatrisation plus performante des anévrismes *in vivo* chez le lapin par rapport aux coils nus. L'index histologique a été évalué et la moyenne ±SD par groupe (nu, fucoïdané, dextrane) des sommes de ces 3 zones est représentée en A ou la moyenne ±SD de chaque zone (fond, mil, collet) en B. * : $p<0.05$, ** : $p<0.005$

Afin de mieux préciser l'organisation du néo-tissu cicatriciel, *l'organisation et l'orientation des fibres de collagène ont été mesurées*, en complément l'évaluation quantitative (paramètre mesuré précédemment par le pourcentage de signal SHG). Un score de direction a été ainsi attribué suite aux mesures avec le plugin du logiciel FIJI « directionality » **(Figure 54 A et B, Figure 55)**.

Les coils nus ne génèrent pas de réseau de collagène organisé 1.75/9 (**Figure 54 A**). Les anévrismes traités par coils fucoïdanés ou dextrane avaient de meilleurs index d'organisation comparativement aux coils nus respectivement 5.5/9 ($p=0.007$) et 5.0/9 ($p=0.0125$) (**Figure 54 A**). Cette différence était d'autant plus marquée statistiquement au collet et au fond de l'anévrisme entre les coils nus et recouverts de fucoïdane (respectivement $p=0.043$ et $p=0.025$, **Figure 54 B**).

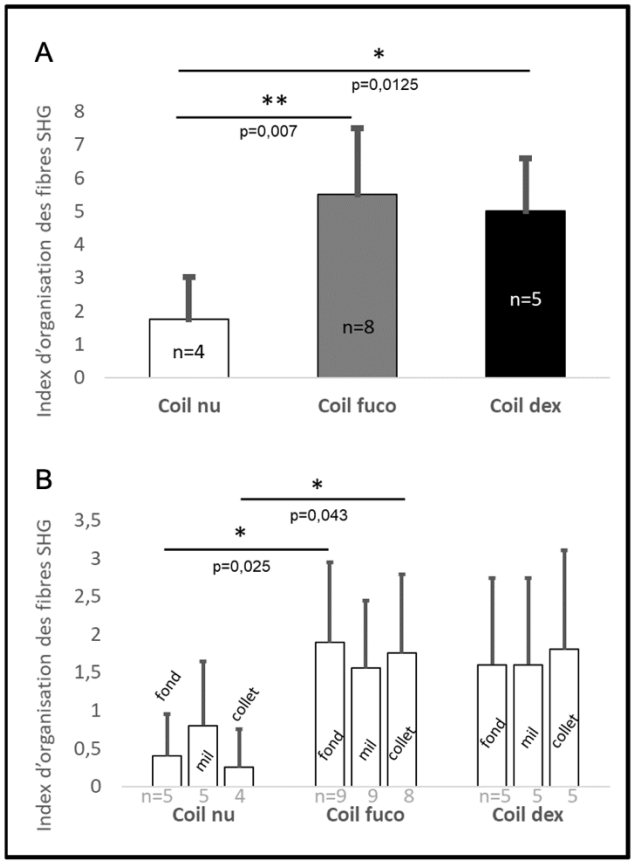


Figure 54. Index d'organisation des fibres de collagène SHG+ selon le type de coil et la zone anévrismale

A et B : L'orientation des fibres de collagène est influencée par le type de revêtement du coil dans des anévrismes de lapin *in vivo*. L'index de direction a été évalué et la moyenne ±SD par groupe (nu, fucoïdane, dextrane) des sommes de ces 3 zones est représentée en A ou la moyenne ±SD de chaque zone (fond, mil, collet) en B. * : $p<0.05$, ** : $p<0.005$

Sur la **figure 55**, les histogrammes présentent l'orientation des fibres de collagène dans les 3 types de coils (nus, fucoïdanés et dextrane) calculés par le plugin de FIJI en montrant un exemple d'orientation différente, particulièrement remarquable en B avec les coils fucoïdanés.

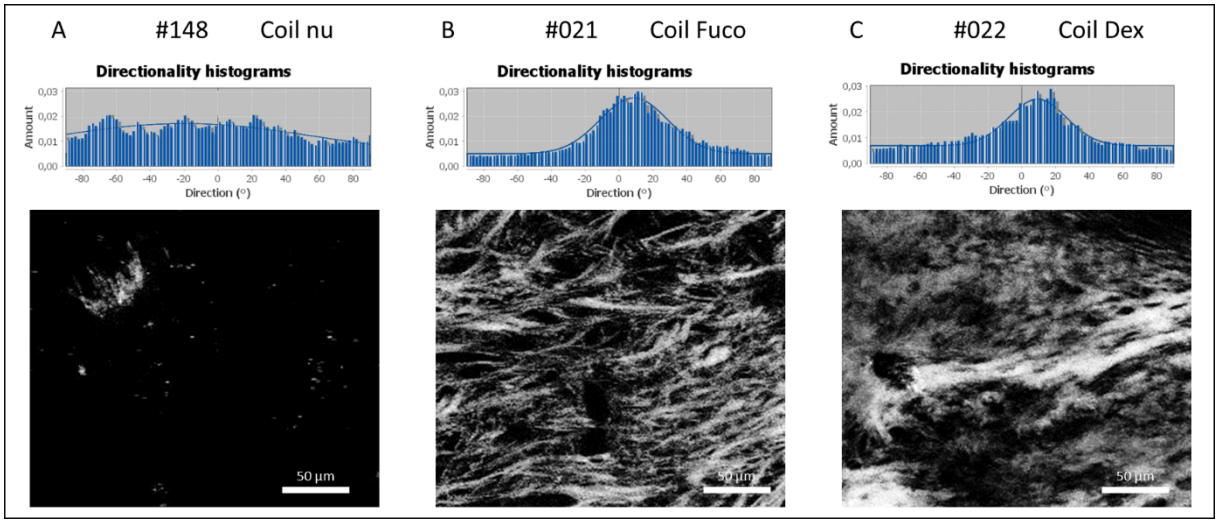


Figure 55. Exemple d'histogrammes d'orientation des fibres de collagène selon le type de coil

L'imagerie de la génération de second harmonique (SHG) en microscopie multiphotonique sur lame histologique a permis de calculer un index d'orientation des fibres de collagène (plugin « directionality » FIJI). En A, une représentation des histogrammes sur un coil nu, en B sur un coil fucoïdané et en C sur un coil dextrane. Barre d'échelle indiquée en A, B et C = 50 µm.

14 Discussion de l'étude in vivo

Cette étude préclinique a été réalisée dans un modèle d'anévrisme par occlusion de l'artère carotide commune droite et dégradation enzymatique chez le lapin. L'intérêt du modèle était d'identifier un mécanisme reproductible, partagé par des sujets sains de l'espèce, qui peuvent être liés à des résultats satisfaisants ou non satisfaisants après embolisation par des coils. Dans cette étude *in vivo* nous avons analysé d'une part l'occlusion angiographique ainsi que l'histologie par quantification essentiellement de collagène dans trois groupes d'anévrismes embolisés avec des coils recouverts de fucoïdane, coils recouverts de dextrane ou des coils nus.

La taille des anévrismes expérimentaux variait de 2.6 mm jusqu'à 11 mm sans différence statistiquement significative entre les groupes. La longueur des coils déployés n'était pas significativement différente (**Tableau IX**).

Bien qu'il y ait une tendance à la recanalisation sur l'angiographie dans le groupe coils nus par rapport aux coils recouverts de fucoïdane à 1 mois du traitement, il n'a pas été possible de mettre en évidence une différence statistiquement significative entre les trois groupes. Il est probable que l'absence de différence soit la conséquence d'un manque de puissance dû au nombre restreint de sujets dans chaque groupe.

L'évaluation histologique portait sur trois critères différents incluant le score histologique, la surface couverte par le collagène et un score de direction des fibres de collagène, chacun étudié dans 3 zones : le fond, la partie moyenne et le collet anévrismal. Nous avons analysé la cicatrisation histologique selon une nouvelle classification histologique dans les trois groupes d'anévrismes associant microscopie optique et microscopie multiphotonique.

Des études animales ont révélé des écarts importants entre les résultats angiographiques et histologiques après embolisation par coils.(184) La **figure 56** montre un exemple d'une occlusion angiographique complète alors que l'analyse histologique objective l'absence de cicatrisation au collet. Étant données les limites de l'artériographie cérébrale pour détecter une recanalisation et l'absence de possibilité d'évaluer la cicatrisation par cette modalité, l'absence de différence significative concernant les résultats angiographiques ne doit pas être considérée comme une absence d'effet des coils recouverts de fucoïdane. De plus, ces observations mettent en évidence les limites de l'artériographie pour le monitorage des anévrismes traités

par coils et la nécessité de développer des outils permettant de mieux évaluer in vivo l'occlusion et la cicatrisation des anévrismes.

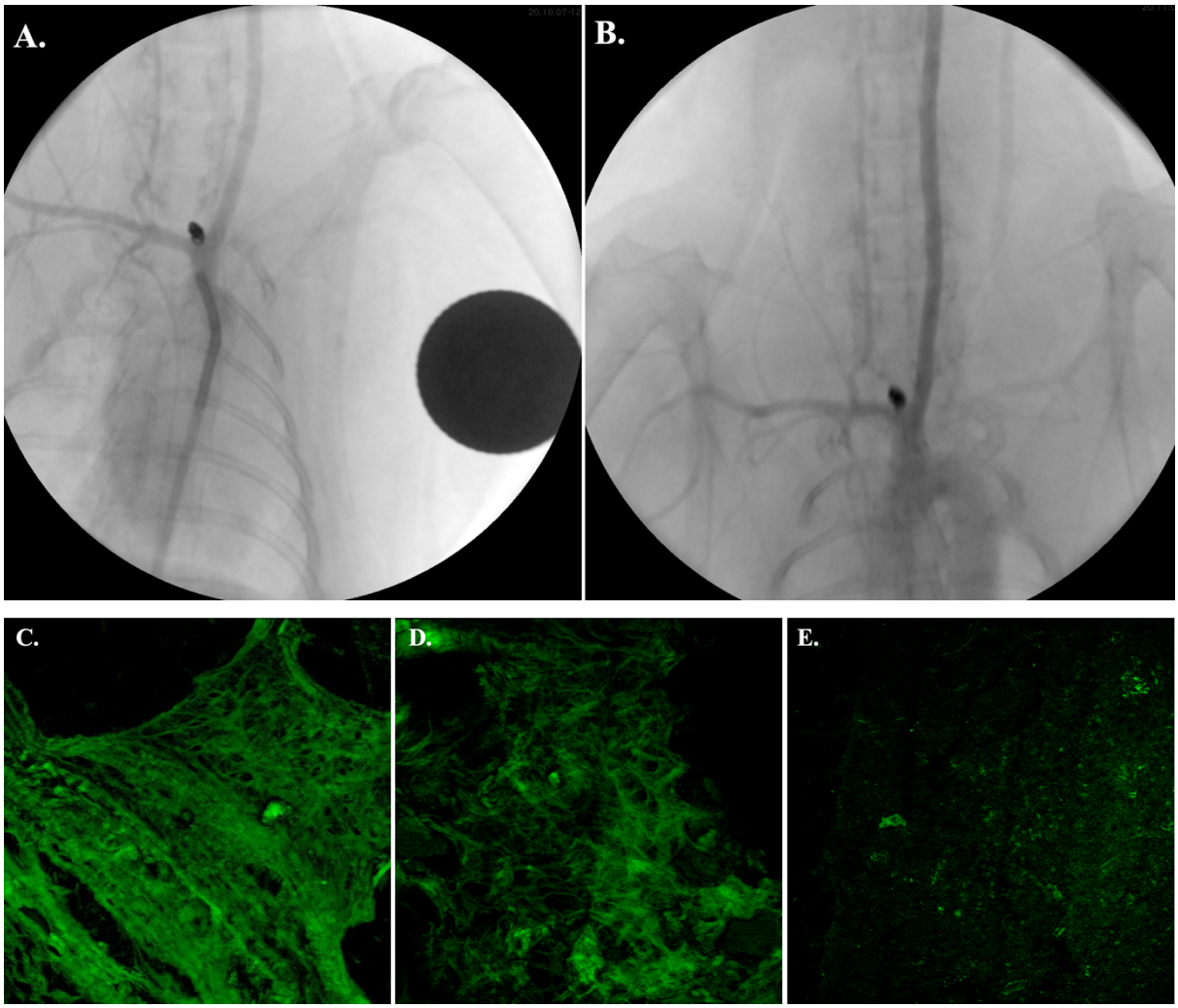


Figure 56. Discordance angiographique et histologique- Artériographie du lapin N°160

A-Exemple d'un anévrisme de petite taille avec exclusion complète traité par un seul coil nu. **B**- À un mois post-traitement, absence de recanalisation. Imagerie du collagène par signal SHG du **C**- fond, **D**- milieu, **E**- collet de l'anévrisme en microscopie multiphotonique sur lame histologique. Il n'y a pas de signe de cicatrisation au collet, attestée par une quasi absence de collagène (0,63% de surface occupée) et un score de directionalité des fibres de collagène de 0.

Concernant l'analyse histologique de la cicatrisation, nous avons observé grâce à l'évaluation des surfaces de collagène $SHG^{+,}$ une tendance non significative à une meilleure cicatrisation grâce aux coils fucoïdanés en observant l'ensemble de l'anévrisme (3 zones). L'analyse sectorielle par zone au sein des différents anévrismes a quant à elle permis de mettre en évidence une différence statistiquement significative en faveur d'une meilleure cicatrisation spécifiquement au collet des anévrismes traités par coils fucoïdanés. Le collet est

spécifiquement la zone d'intérêt pour le traitement car une cicatrisation optimisée avec une couverture du collet avec un néo-tissu permet d'exclure définitivement l'anévrisme de la circulation qui est signe de sa guérison. Ainsi, les observations effectuées dans cette étude préliminaire sont en faveur d'une meilleure cicatrisation des anévrismes grâce au traitement expérimental.

Les données de l'étude menée par Dai et al. indiquent que la cellule clé de la production de la matrice extracellulaire, le myofibroblaste, ainsi que le principal composant de la matrice extracellulaire, le collagène de type 1, sont absents dans le modèle anévrismal chez le lapin post coiling.(214) En effet nous avons observé dans les anévrismes traités avec coils nus, l'absence quasi totale de formation de collagène au collet, alors qu'avec des coils recouverts de fucoïdane nous avons pu mettre en évidence par microscope multiphotonique la formation de collagène type 1 chez le lapin un mois après traitement avec une différence statistiquement significative. De même, au regard de l'index histologique, on constate une cicatrisation quasi nulle au niveau du collet pour les anévrismes traités avec des coils nus, alors que l'on confirme une meilleure cicatrisation des coils recouverts de fucoïdane en particulier dans la zone du collet. Finalement les coils nus ne montrent pas de réseau de collagène organisé contrairement aux coils recouverts de fucoïdane. La **figure 57** montre un exemple de cicatrisation plus avancée avec des coils recouverts de fucoïdane.

Raymond et al. ont décrit chez le chien que les anévrismes complètement occlus et stables à 3 mois après embolisation par des coils nus montraient une couche continue et multicellulaire de α-actin organisé en rangs parallèles situés dans une matrice de collagène couvert d'une couche unique endothéliale sans invagination vers la profondeur de l'anévrisme. La cavité anévrismale était toujours, **bien que de façon incomplète** dans les lésions récurrentes, remplie de tissu conjonctif vascularisé enrobant les coils qui n'étaient jamais en contact direct avec la lumière de l'artère porteuse ou la lumière du collet anévrismal.(186) Quand il y a une fibrose avec des myofibroblastes et des fibres de collagène mature en quantité suffisante et bien organisé cela pourrait constituer une structure suffisamment stable pour supporter la couche néoendothéliale et donner suffisamment de résistance contre une potentielle recanalisation. Le collagène contribue largement à la résistance, à la traction et à l'élasticité des artères, et il a été démontré que le traitement in vitro d'une artère par l'élastase ou la collagénase réduit la résistance à la pression.(471) Au fur et à mesure que le collagène mature, son organisation moléculaire devient plus ordonnée et le nombre de réticulations intermoléculaires augmente. Du fait de ces altérations moléculaires, le collagène en cours de maturation augmente en résistance à la traction. (246) Ceci laisse penser que la quantité et la

qualité de maturation du collagène pourraient jouer un rôle important et que les anévrismes traités avec coil recouvert de fucoïdane qui montrent une organisation structurelle et une orientation des fibres de collagène améliorée au collet anévrismal par rapport aux anévrismes occlus avec coils nus dans notre étude seraient un indice d'occlusion stable et complète. A noter que dans l'étude de Raymond, il s'agit d'un modèle chez le chien qui diffère du modèle lapin utilisé dans notre étude, rendant difficile toute comparaison. Cependant, nous n'avons pas observé d'invagination sur les échantillons d'anévrismes complètement exclus dans notre étude. Chez l'homme, même dans certains anévrismes considérés comme complètement exclus à l'examen macroscopique d'anapathologie, ces minuscules espaces ouverts entre coils au collet ont également été décrits.(188)

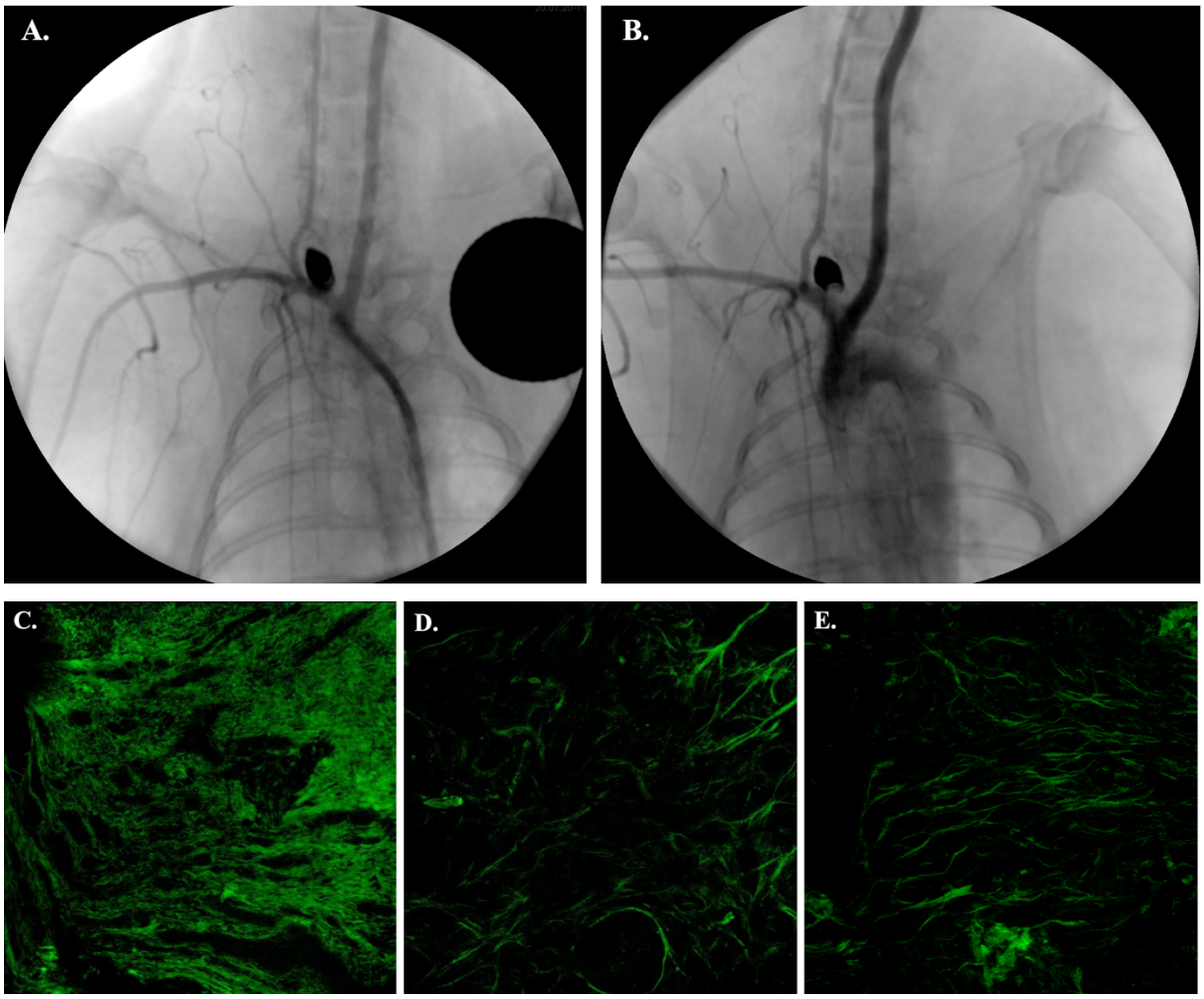


Figure 57. Artériographie du lapin N°20

A- Exclusion complète de l'anévrisme avec 3 coils fucoïdané. **B**- Compactage des coils à un mois post-traitement, mais pas de flux décelable au collet sur les images dynamiques. Imagerie du collagène par signal SHG du **C**- fond, **D**- milieu, **E**- collet de l'anévrisme en microscopie multiphotonique sur lame histologique. L'histologie a confirmé la présence de tissu cicatriciel organisé associé à un fort dépôt de collagène au fond de l'anévrisme. Le collet était bien couvert par du tissu cicatriciel en cours d'organisation avec un score de directionalité des fibres de collagène à 3/3. Absence de recanalisation de l'anévrisme suite à une bonne cicatrisation au collet.

Le dextrane est un polysaccharide et il a été choisi dans notre expérimentation comme témoin du fucoïdane sans effet spécifique connu jusqu'à présent pour la cicatrisation. Les résultats présentés mettent cependant également en évidence un effet bénéfique du dextrane sur la cicatrisation des anévrismes expérimentaux, bien que moins puissant que le fucoïdane, ce qui est un résultat inattendu dans nos expérimentations.

Le dextrane peut prolonger le temps de saignement et a un effet aussi antithrombotique.(472) Le mécanisme se produirait par la liaison du dextrane aux plaquettes,

aux érythrocytes et à l'endothélium vasculaire pour diminuer l'agrégation et l'adhésivité. Le dextrane réduirait le facteur de von Willebrand pour diminuer la fonction plaquettaire. Il activerait également le plasminogène et prolongerait le temps de saignement.(473) Ces effets augmenteraient proportionnellement à l'augmentation du poids moléculaire du dextrane.(474) Il est possible que par son action antithrombotique et anticoagulante, le dextrane puisse avoir un effet sur le remodelage du thrombus frais et par ce biais avoir une implication bénéfique sur la cicatrisation des anévrismes post-coiling. Compte tenu de l'écart type important dans le groupe dextrane et coils nus et le faible nombre des sujets, un biais statistique ne peut pas être exclu. Pour ces raisons, l'hypothèse d'un effet spécifique du dextrane nécessite d'être explorée plus en détails dans des expériences ultérieures in vitro et in vivo en augmentant le nombre de sujets dans les groupes.

La conception d'un instrument médical recouvert d'un produit biologiquement actif comporte de nombreux défis. La liaison entre les substances de modification de revêtement et les surfaces des coils de platine est potentiellement fragile avec un risque de détachement du revêtement lors de l'insertion dans le microcathéter. De plus, la fonctionnalisation des coils peut entraîner des altérations des performances des coils, affectant leur déploiement, leur flexibilité ou leur mémoire de forme. Dans notre étude, la performance des coils recouverts de fucoïdane lors du déploiement dans les anévrismes expérimentaux n'était pas altérée avec un déploiement identique aux coils nus et une flexibilité préservée sans frottement ni sensation de résistance dans le microcathéter. Ces constats de l'opérateurs sont subjectifs et nécessitent d'être évalués objectivement dans le futur par des expérimentations physiques. Le recouvrement des coils avec le fucoïdane est réalisé par greffage covalent du copolymère polyacrylique-fucoïdane par technique électrochimique d'une épaisseur d'environ une dizaine de nanomètres seulement, n'augmentant pas de manière significative le calibre des coils. Nous n'avons pas constaté de détachement du revêtement lors du coiling avec des coils recouverts de fucoïdane ou de dextrane.

Limites de l'étude :

Une des limites de cette étude est la petite taille des échantillons qui réduit la puissance et les comparaisons possibles qui peuvent être faites.

45 lapins blancs de Nouvelle-Zélande ont été inclus dans l'étude. Le petit nombre de sujets peut être expliqué par le fait qu'il s'agit d'une étude préliminaire dont nous voulions vérifier la faisabilité et calculer le nombre de sujets nécessaires n'est pas envisageable sans

avoir une estimation de la différence qu'on souhaite mettre en évidence. D'après l'autorisation ministérielle révisant la directive n°86/609/CEE du Conseil du 24 novembre 1986, applicable en France depuis le 1er janvier 2013 dans le cadre de la règle des 3R il n'est pas conseillé dans le cadre d'une étude exploratoire preuve de concept de faire une étude sur un grand nombre d'animaux.

Certains animaux (n=18) n'ont pu être analysés jusqu'à la fin du protocole dû au fait qu'ils ne présentaient pas d'anévrismes (n=4) ou qu'ils ont présenté des complications opératoires ou liées aux anesthésies successives n'ayant pas permis de les maintenir jusqu'à la fin des expérimentations (n=14). Ces taux d'échec et complications sont similaires à ceux observés dans la plupart des études utilisant ce modèle animal chez le lapin.(373, 374, 376)

L'inclusion des échantillons a été faite en résine PMMA. Huit anévrismes n'ont pu être analysés en histologie du fait de difficultés techniques liées à l'inclusion en résine PMMA ou d'une mauvaise qualité des coupes. La raison du choix de la technique de l'inclusion s'explique par le fait que le PMMA est un thermoplastique, une résine acrylique qui offre les avantages d'être suffisamment dure pour permettre de faire des coupes fines avec du métal en place. La technique est cependant difficile à mettre en œuvre et les coupes fines avec inclusion de coils s'avère beaucoup plus difficile que couper un WEB ou stent utilisé pour le traitement d'un anévrisme. La fixation au glutaraldéhyde empêche également de faire de l'immunohistochimie. Concernant la possibilité de l'inclusion en paraffine, la fixation au paraformaldéhyde rendrait quant à elle les antigènes indisponibles pour l'étiquetage donc non idéal également pour les études immunohistochimiques. En plus, l'inclusion en paraffine necessiterait le retrait minitieux des coils et une seconde inclusion en paraffine. Ces manipulations auraient risqué endommager le prélèvement tissulaire et les analyses histologiques. La cryoinclusion présente quant à elle l'avantage de pouvoir faire des études d'immunohistochimie mais n'était pas réalisable pour couper les tissus coils en place qui nécessite un matériau d'enrobage beaucoup plus dur pour fournir un support adéquat aux tissus pendant la coupe. C'est la raison pour laquelle nous avons finalement choisi le PMMA. Concernant les coupes nous avons utilisé un microtome. Les coupes par laser femto qui étaient une option induiraient de la chaleur pouvant endommager les tissus. Une possibilité serait dans l'avenir d'utiliser un ultramicrotome avec un couteau en diamant, mais compte tenu du prix très élevé, aujourd'hui nous n'avons pas accès à cette possibilité.

Nous avons choisi de réaliser les explantations des anévrismes un mois après traitement, car les mécanismes biologiques de la cicatrisation associée à la guérison de l'anévrisme ont lieu dans les quatre semaines suivant l'embolisation.(183) Cependant, un contrôle par exemple à 6

mois aurait pu être envisagé aussi afin de détecter une recanalisation tardive des anévrismes embolisés. Ces expérimentations devront être réalisées dans le cadre de la poursuite des travaux avec différents temps de sacrifice.

Nous avons été limités dans notre capacité à évaluer précisément l'occlusion angiographique sur des acquisitions en deux dimensions uniquement et soumises aux artéfacts de mouvement ventilatoire liés à la localisation intra-thoracique des anévrismes chez le lapin. Une analyse angiographique tridimensionnelle sans et avec injection de produit de contraste dans la nouvelle salle d'angiographie de Siemens Artis Icono qui est déjà fonctionnelle dans les nouveaux locaux de EMIS permettra une meilleure évaluation des potentielles recanalisations, mais n'était pas possible sur les systèmes d'angiographie utilisés dans cette étude.

Les études chez l'homme montrent qu'une densité de packing faible et une plus grande taille des anévrismes sont associées à un plus fort risque de récurrence des anévrismes embolisés.(475, 476) Dans la présente étude, la taille des anévrismes expérimentaux chez le lapin variat de 2.6 à 11 mm. Même si cette variabilité de taille peut entrainer un biais dans les réponses aux traitements étudiés, cette variabilité est nettement moins importante que dans les anévrismes humains dont les tailles peuvent varier de 1 à plus de 30 mm.(477, 478) En effet, les anévrismes les plus à risque de recanalisation en pathologie humaine sont les anévrismes géants de plus de 25 mm qui n'ont pas été représentés dans cette étude expérimentale.(479) À la fois notre postulat repose implicitement sur le fait que certains événements ou facteurs biologiques peuvent expliquer des résultats angiographiques stables ou, inversement, une récurrence avec le temps après un traitement endovasculaire qu'on pourra dans la poursuite de notre recherche tester chez l'homme et éventuellement utiliser le coil recouvert de fucoïdane si nos résultats s'avèrent concluants.

La nouvelle classification histologique répond à la nécessité de l'introduction d'une nouvelle technique dans la spécialité, la microscopie multiphotonique et cette classification devra être validée dans le futur.

De plus, des analyses in vitro complémentaires sont nécessaires pour évaluer la relation dose-effet du fucoïdane. Ceci est en cours d'étude actuellement.

Potentiel avantage des coils recouverts de fucoïdane :

Les coils bioactifs idéalement conçus doivent également être faciles à utiliser en pratique clinique. De plus, ces dispositifs doivent pouvoir être développés en grandes quantités, résister aux techniques de stérilisation et doivent pouvoir être conservés pendant une durée

prolongée à température ambiante. L'option utilisant la thérapie cellulaire nécessite des cellules autologues pour prévenir le rejet cellulaire. Ainsi, l'utilisation de coils recouverts de cellules en pratique clinique est difficile, car il faut des centres de culture cellulaire domestiques et du personnel spécialisé et formé. Au contraire, l'option du fucoïdane proposée dans notre stratégie ne nécessite pas de thérapie autologue, résisterait à la stérilisation et pourrait être conservée à température ambiante sans nécessité d'adaptation des méthodes de stockage utilisées pour les coils standards utilisés en pratique clinique. Desfait et Raymond ont écrit dans une étude expérimentale que le but ultime de leur travail serait la conception d'un agent embolique modifié, peut-être un polymère, qui aurait la capacité de libérer localement des facteurs de croissance et stimuler la guérison après traitement endovasculaire des anévrismes.(335) C'est dans ce même objectif que nous proposons les coils recouverts de fucoïdane qui ont la capacité d'attirer les facteurs de croissance et pour lesquels nous montrons dans cette étude la capacité de stimuler une production accrue de collagène afin d'améliorer la cicatrisation des anévrismes. Notre option utilisant un polysaccharide est d'autant plus innovante car elle permet de recruter différents facteurs de croissance impliqués sans avoir à les manipuler. Cette caractéristique de notre stratégie est primordiale car l'utilisation directe de facteurs de croissance serait beaucoup plus difficile à mettre en œuvre étant donnée leur grande fragilité. En effet, des facteurs de croissance ne résisteraient pas aux opérations de stérilisation et necessiterait de plus une conservation spécifique sur une durée très courte.

15 Valorisation et dépôt de brevet

Ces résultats préliminaires positifs ont permis de déposer un brevet européen 21 305 573.4 le 04 Mai 2021 **(Annexe 1)**. La valorisation ainsi que les perspectives d'exploitation de ce brevet sont en discussions avec différents investisseurs potentiels.

16 Conclusion et perspectives

L’évaluation de la cicatrisation passe par l’appréciation du collagène. Le collagène et la cicatrisation sont liés et la cicatrisation et la clef de l’anévrisme embolisé pour une exclusion complète et stable dans le temps. Notre travail présente une étude de preuve de concept qui permet de démontrer la faisabilité et l’efficacité biologique d’un traitement par coils recouverts de fucoïdane. Nous avons prouvé la faisabilité de greffage du fucoïdane sur des coils. Grâce à une technologie innovante de microscopie multiphotonique, nous avons établi un nouveau type de classification histologique pour l’évaluation de la cicatrisation des anévrismes. Globalement, cette étude animale démontre que les coils recouverts de fucoïdane ont le potentiel d’améliorer la réponse cicatricielle et la guérison après un traitement endovasculaire.

Plusieurs étapes restent nécessaires pour envisager un transfert de la technologie en thérapeutique humaine. En effet, afin d’optimiser la meilleure réponse biologique, il est nécessaire de réaliser des tests in vitro afin de déterminer la quantité optimale de fucoïdane à greffer sur les coils. De plus, une analyse de la prolifération de cellules endothéliales et musculaires lisses in vitro est nécessaire afin de mieux analyser les mécanismes impliqués dans cette amélioration de la cicatrisation.

Une fibrose inadéquate au collet peut être un indicateur important de la recanalisation de l'anévrisme après l'embolisation, et cette caractéristique pathologique au collet de l'anévrisme à un certain moment après l'embolisation peut prédire le résultat final du traitement. Pour mesurer le collagène chez des patients, il n'y a pas d'outils actuellement en pratique clinique disponible. Il serait nécessaire de développer dans l'avenir des techniques endovasculaires in vivo capables de donner des informations sur le degré de cicatrisation des anévrismes traités par voie endovasculaire.

18 Références bibliographiques

1. Pritz MB. Cerebral aneurysm classification based on angioarchitecture. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2011;20(2):162-7.
2. Kassell NF, Torner JC, Haley EC, Jr., Jane JA, Adams HP, Kongable GL. The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery. Part 1: Overall management results. J Neurosurg. 1990;73(1):18-36.
3. Brisman JL, Song JK, Newell DW. Cerebral aneurysms. N Engl J Med. 2006;355(9):928-39.
4. Schievink WI. Intracranial aneurysms. N Engl J Med. 1997;336(1):28-40.
5. Winn HR, Jane JA, Sr., Taylor J, Kaiser D, Britz GW. Prevalence of asymptomatic incidental aneurysms: review of 4568 arteriograms. J Neurosurg. 2002;96(1):43-9.
6. Nakagawa T, Hashi K. The incidence and treatment of asymptomatic, unruptured cerebral aneurysms. J Neurosurg. 1994;80(2):217-23.
7. Kim BS. Unruptured Intracranial Aneurysm: Screening, Prevalence and Risk Factors. Neurointervention. 2021;16(3):201-3.
8. Connolly ES, Solomon RA. Management of Symptomatic and Asymptomatic Unruptured Aneurysms. Neurosurgery Clinics of North America. 1998;9(3):509-24.
9. Rinkel GJ, Djibuti M, Algra A, van Gijn J. Prevalence and risk of rupture of intracranial aneurysms: a systematic review. Stroke. 1998;29(1):251-6.
10. Wermer MJ, van der Schaaf IC, Algra A, Rinkel GJ. Risk of rupture of unruptured intracranial aneurysms in relation to patient and aneurysm characteristics: an updated meta-analysis. Stroke. 2007;38(4):1404-10.
11. Muehlschlegel S. Subarachnoid Hemorrhage. Continuum (Minneap Minn). 2018;24(6):1623-57.
12. Steiner T, Juvela S, Unterberg A, Jung C, Forsting M, Rinkel G. European Stroke Organization guidelines for the management of intracranial aneurysms and subarachnoid haemorrhage. Cerebrovasc Dis. 2013;35(2):93-112.
13. Lovelock CE, Rinkel GJ, Rothwell PM. Time trends in outcome of subarachnoid hemorrhage: Population-based study and systematic review. Neurology. 2010;74(19):1494-501.
14. Nieuwkamp DJea. Changes in case fatality of aneurysmal subarachnoid haemorrhage over time, according to age, sex, and region: a meta-analysis. The Lancet Neurology. 2009;8(7):635-42.
15. Kowalski RG, Claassen J, Kreiter KT, Bates JE, Ostapkovich ND, Connolly ES, et al. Initial misdiagnosis and outcome after subarachnoid hemorrhage. Jama. 2004;291(7):866-9.
16. Greving JP, Wermer MJ, Brown RD, Jr., Morita A, Juvela S, Yonekura M, et al. Development of the PHASES score for prediction of risk of rupture of intracranial aneurysms: a pooled analysis of six prospective cohort studies. Lancet Neurol. 2014;13(1):59-66.
17. Etminan N, Rinkel GJ. Unruptured intracranial aneurysms: development, rupture and preventive management. Nat Rev Neurol. 2016;12(12):699-713.
18. Rinkel GJE, Algra A, Greving JP, Vergouwen MDI, Etminan N. PHASES and the natural history of unruptured aneurysms: science or pseudoscience? J Neurointerv Surg. 2017;9(6):618.
19. Darsaut T, Fahed R, Raymond J. PHASES and the natural history of unruptured aneurysms: science or pseudoscience? J Neurointerv Surg. 2017;9(6):527-8.
20. Hollands LJ, Vergouwen MDI, Greving JP, Wermer MJH, Rinkel GJE, Algra AM. Management decisions on unruptured intracranial aneurysms before and after implementation of the PHASES score. J Neurol Sci. 2021;422:117319.

21. Feng X, Tong X, Chen J, Peng F, Niu H, Xia J, et al. External Validation of the PHASES Score in Patients with Multiple Intracranial Aneurysms. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2021;30(5):105643.
22. Etminan N, Brown RD, Jr., Beseoglu K, Juvela S, Raymond J, Morita A, et al. The unruptured intracranial aneurysm treatment score: a multidisciplinary consensus. Neurology. 2015;85(10):881-9.
23. Hernández-Durán S, Mielke D, Rohde V, Malinova V. Is the unruptured intracranial aneurysm treatment score (UIATS) sensitive enough to detect aneurysms at risk of rupture? Neurosurg Rev. 2021;44(2):987-93.
24. Rutledge C, Raper DMS, Jonzzon S, Raygor KP, Pereira MP, Winkler EA, et al. Sensitivity of the Unruptured Intracranial Aneurysm Treatment Score (UIATS) in the Elderly: Retrospective Analysis of Ruptured Aneurysms. World Neurosurg. 2021;152:e673-e7.
25. Neulen A, Pantel T, König J, Brockmann MA, Ringel F, Kantelhardt SR. Comparison of Unruptured Intracranial Aneurysm Treatment Score and PHASES Score in Subarachnoid Hemorrhage Patients With Multiple Intracranial Aneurysms. Front Neurol. 2021;12:616497.
26. Brinjikji W, Pereira VM, Khumtong R, Kostensky A, Tymianski M, Krings T, et al. PHASES and ELAPSS Scores Are Associated with Aneurysm Growth: A Study of 431 Unruptured Intracranial Aneurysms. World Neurosurg. 2018;114:e425-e32.
27. Tominari S, Morita A, Ishibashi T, Yamazaki T, Takao H, Murayama Y, et al. Prediction model for 3-year rupture risk of unruptured cerebral aneurysms in Japanese patients. Ann Neurol. 2015;77(6):1050-9.
28. Komotar RJ, Starke RM, Connolly ES. The natural course of unruptured cerebral aneurysms. Neurosurgery. 2012;71(4):N7-9.
29. Etminan N, Dörfler A, Steinmetz H. Unruptured Intracranial Aneurysms-Pathogenesis and Individualized Management. Dtsch Arztebl Int. 2020;117(14):235-42.
30. Mocco J, Komotar RJ, Lavine SD, Meyers PM, Connolly ES, Solomon RA. The natural history of unruptured intracranial aneurysms. Neurosurg Focus. 2004;17(5):E3.
31. Korja M, Lehto H, Juvela S. Lifelong rupture risk of intracranial aneurysms depends on risk factors: a prospective Finnish cohort study. Stroke. 2014;45(7):1958-63.
32. Robertson AM, Duan X, Aziz KM, Hill MR, Watkins SC, Cebral JR. Diversity in the Strength and Structure of Unruptured Cerebral Aneurysms. Ann Biomed Eng. 2015;43(7):1502-15.
33. Santiago-Sim T, Winn H. Pathobiology of intracranial aneurysms: Elsevier; 2011. 3747-55 p.
34. Jung K. New pathophysiological considerations on cerebral aneurysms. Neurointervention. 2018;13:73-83.
35. Turkmani A, Edwards N, Chen P. The role of inflammation in cerebral aneurysms. Neuroimmunol Neuroinflamm. 2015;2:102-6.
36. Tulamo R, Frösen J, Hernesniemi J, Niemelä M. Inflammatory changes in the aneurysm wall: a review. J Neurointerv Surg. 2018;10(Suppl 1):i58-i67.
37. Texakalidis P, Sweid A, Mouchtouris N, Peterson EC, Sioka C, Rangel-Castilla L, et al. Aneurysm Formation, Growth, and Rupture: The Biology and Physics of Cerebral Aneurysms. World Neurosurg. 2019;130:277-84.
38. Starke R, Chalouhi N, Ali M, Jabbour P, Tjoumakaris S, Gonzalez L. The role of oxidative stress in cerebral aneurysm formation and rupture. Curr Neurovasc Res. 2013;10:247-55.
39. Nakajima N, Nagahiro S, Sano T, Satomi J, Satoh K. Phenotypic modulation of smooth muscle cells in human cerebral aneurysmal walls. Acta Neuropathol. 2000;100(5):475-80.

40. Chalouhi N, Hoh BL, Hasan D. Review of cerebral aneurysm formation, growth, and rupture. Stroke. 2013;44(12):3613-22.
41. Frösen J, Piippo A, Paetau A, Kangasniemi M, Niemelä M, Hernesniemi J. Remodeling of saccular cerebral artery aneurysm wall is associated with rupture: histological analysis of 24 unruptured and 42 ruptured cases. Stroke. 2004;35:2287-93.
42. Soldozy S, Norat P, Elsarrag M, Chatrath A, Costello JS, Sokolowski JD, et al. The biophysical role of hemodynamics in the pathogenesis of cerebral aneurysm formation and rupture. Neurosurg Focus. 2019;47(1):E11.
43. Juvela S, Poussa K, Porras M. Factors affecting formation and growth of intracranial aneurysms: a long-term follow-up study. Stroke. 2001;32(2):485-91.
44. Shojima M, Oshima M, Takagi K, Torii R, Hayakawa M, Katada K, et al. Magnitude and role of wall shear stress on cerebral aneurysm: computational fluid dynamic study of 20 middle cerebral artery aneurysms. Stroke. 2004;35(11):2500-5.
45. Dolan JM, Kolega J, Meng H. High wall shear stress and spatial gradients in vascular pathology: a review. Ann Biomed Eng. 2013;41(7):1411-27.
46. Munarriz P, Gómez P, Paredes I, Castaño-Leon A, Cepeda S, Lagares A. Basic principles of hemodynamics and cerebral aneurysms. World Neurosurg. 2016;88:311-9.
47. Jou L, Lee D, Morsi H, Mawad M. Wall shear stress on ruptured and unruptured intracranial aneurysms at the internal carotid artery. AJNR Am J Neuroradiol. 2008;29:1761-7.
48. Xiang J, Natarajan S, Tremmel M, Ma D, Mocco J, Hopkins L. Hemodynamic-morphologic discriminants for intracranial aneurysm rupture. Stroke. 2011;42:144-52.
49. Doddasomayajula R, Chung B, Mut F, Jimenez C, Hamzei-Sichani F, Putman C. Hemodynamic characteristics of ruptured and unruptured multiple aneurysms at mirror and ipsilateral locations. AJNR Am J Neuroradiol. 2017;38:2301-7.
50. Meng H, Tutino VM, Xiang J, Siddiqui A. High WSS or low WSS? Complex interactions of hemodynamics with intracranial aneurysm initiation, growth, and rupture: toward a unifying hypothesis. AJNR Am J Neuroradiol. 2014;35(7):1254-62.
51. Saqr KM, Rashad S, Tupin S, Niizuma K, Hassan T, Tominaga T, et al. What does computational fluid dynamics tell us about intracranial aneurysms? A meta-analysis and critical review. J Cereb Blood Flow Metab. 2020;40(5):1021-39.
52. Frösen J, Tulamo R, Paetau A, Laaksamo E, Korja M, Laakso A, et al. Saccular intracranial aneurysm: pathology and mechanisms. Acta Neuropathol. 2012;123(6):773-86.
53. Frösen J, Cebral J, Robertson AM, Aoki T. Flow-induced, inflammation-mediated arterial wall remodeling in the formation and progression of intracranial aneurysms. Neurosurg Focus. 2019;47(1):E21.
54. Pawlowska E, Szczepanska J, Wisniewski K, Tokarz P, Jaskólski DJ, Blasiak J. NF-κB-Mediated Inflammation in the Pathogenesis of Intracranial Aneurysm and Subarachnoid Hemorrhage. Does Autophagy Play a Role? Int J Mol Sci. 2018;19(4).
55. Tarbell JM, Weinbaum S, Kamm RD. Cellular fluid mechanics and mechanotransduction. Ann Biomed Eng. 2005;33(12):1719-23.
56. Pillinger NL, Kam P. Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications. Anaesth Intensive Care. 2017;45(3):295-307.
57. Dragovich MA, Chester D, Fu BM, Wu C, Xu Y, Goligorsky MS, et al. Mechanotransduction of the endothelial glycocalyx mediates nitric oxide production through activation of TRP channels. Am J Physiol Cell Physiol. 2016;311(6):C846-c53.
58. Zhou J, Li YS, Chien S. Shear stress-initiated signaling and its regulation of endothelial function. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014;34(10):2191-8.

59. Aoki T, Nishimura M, Kataoka H, Ishibashi R, Nozaki K, Miyamoto S. Complementary inhibition of cerebral aneurysm formation by eNOS and nNOS. Lab Invest. 2011;91(4):619-26.
60. Koseki H, Miyata H, Shimo S, Ohno N, Mifune K, Shimano K, et al. Two Diverse Hemodynamic Forces, a Mechanical Stretch and a High Wall Shear Stress, Determine Intracranial Aneurysm Formation. Transl Stroke Res. 2020;11(1):80-92.
61. Chyatte D, Bruno G, Desai S, Todor D. Inflammation and intracranial aneurysms. Neurosurgery. 1999;45:1137-47.
62. Aoki T, Kataoka H, Morimoto M, Nozaki K, Hashimoto N. Macrophage-derived matrix metalloproteinase-2 and -9 promote the progression of cerebral aneurysms in rats. Stroke. 2007;38:162-9.
63. Aoki T, Kataoka H, Ishibashi R, Nozaki K, Egashira K, Hashimoto N. Impact of monocyte chemoattractant protein-1 deficiency on cerebral aneurysm formation. Stroke. 2009;40(3):942-51.
64. Kanematsu Y, Kanematsu M, Kurihara C, Tada Y, Tsou T, van Rooijen N. Critical roles of macrophages in the formation of intracranial aneurysm. Stroke. 2011;42:173-8.
65. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdt S, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. Immunity. 2014;41(1):14-20.
66. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. J Clin Invest. 2012;122(3):787-95.
67. Hasan D, Chalouhi N, Jabbour P, Hashimoto T. Macrophage imbalance (M1 vs. M2) and upregulation of mast cells in wall of ruptured human cerebral aneurysms: preliminary results. J Neuroinflammation. 2012;9:222.
68. Yamashiro S, Uchikawa H, Yoshikawa M, Kuriwaki K, Hitoshi Y, Yoshida A, et al. Histological analysis of infiltrating macrophages in the cerebral aneurysm walls. J Clin Neurosci. 2019;67:204-9.
69. Shao L, Qin X, Liu J, Jian Z, Xiong X, Liu R. Macrophage Polarization in Cerebral Aneurysm: Perspectives and Potential Targets. J Immunol Res. 2017;2017:8160589.
70. Li B, Li F, Chi L, Zhang L, Zhu S. The expression of SPARC in human intracranial aneurysms and its relationship with MMP-2/-9. PLoS One. 2013;8(3):e58490.
71. Sluijter JP, de Kleijn DP, Pasterkamp G. Vascular remodeling and protease inhibition--bench to bedside. Cardiovasc Res. 2006;69(3):595-603.
72. Bruno G, Todor R, Lewis I, Chyatte D. Vascular extracellular matrix remodeling in cerebral aneurysms. J Neurosurg. 1998;89(3):431-40.
73. Caird J, Napoli C, Taggart C, Farrell M, Bouchier-Hayes D. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in human atherosclerotic and non-atherosclerotic cerebral aneurysms. Eur J Neurol. 2006;13(10):1098-105.
74. Zhang X, Ares WJ, Taussky P, Ducruet AF, Grandhi R. Role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of intracranial aneurysms. Neurosurg Focus. 2019;47(1):E4.
75. Seo K, Lee S, Ye B, Kim Y, Bae S, Kim C. Mechanical stretch enhances the expression and activity of osteopontin and MMP-2 via the Akt1/AP-1 pathways in VSMC. J Mol Cell Cardiol. 2015;85:13-24.
76. Hwang J, Saha A, Boo Y, Sorescu G, McNally J, Holland S. Oscillatory shear stress stimulates endothelial production of O2- from p47phox-dependent NAD(P)H oxidases, leading to monocyte adhesion. J Biol Chem. 2003;278:47291-8.
77. Aoki T, Kataoka H, Moriwaki T, Nozaki K, Hashimoto N. Role of TIMP-1 and TIMP-2 in the progression of cerebral aneurysms. Stroke. 2007;38:2337-45.

78. Kim S, Singh M, Huang J, Prestigiacomo C, Winfree C, Solomon R. Matrix metalloproteinase-9 in cerebral aneurysms. Neurosurgery. 1997;41:642-7.
79. Jin D, Sheng J, Yang X, Gao B. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases expression in human cerebral ruptured and unruptured aneurysm. Surg Neurol. 2007;68(Suppl 2):S11-S6.
80. Peters D, Kassam A, St Jean P, Yonas H, Ferrell R. Functional polymorphism in the matrix metalloproteinase-9 promoter as a potential risk factor for intracranial aneurysm. Stroke. 1999;30:2612-6.
81. Alg VS, Ke X, Grieve J, Bonner S, Walsh DC, Bulters D, et al. Association of functional MMP-2 gene variant with intracranial aneurysms: case-control genetic association study and meta-analysis. Br J Neurosurg. 2018;32(3):255-9.
82. Pannu H, Kim DH, Guo D, King TM, Van Ginhoven G, Chin T, et al. The role of MMP-2 and MMP-9 polymorphisms in sporadic intracranial aneurysms. J Neurosurg. 2006;105(3):418-23.
83. Frösen J. Smooth muscle cells and the formation, degeneration, and rupture of saccular intracranial aneurysm wall—a review of current pathophysiological knowledge. Transl Stroke Res. 2014;5:347-56.
84. Frösen J, Piippo A, Paetau A, Kangasniemi M, Niemelä M, Hernesniemi J. Growth factor receptor expression and remodeling of saccular cerebral artery aneurysm walls: implications for biological therapy preventing rupture. Neurosurgery. 2006;58:534-41.
85. Aoki T, Frösen J, Fukuda M, Bando K, Shioi G, Tsuji K. Prostaglandin E2-EP2-NF-κB signaling in macrophages as a potential therapeutic target for intracranial aneurysms. Sci Signal. 2017;10:E6037.
86. Aoki T, Nishimura M, Matsuoka T, Yamamoto K, Furuyashiki T, Kataoka H. PGE2-EP2 signalling in endothelium is activated by haemodynamic stress and induces cerebral aneurysm through an amplifying loop via NF-κB. Br J Pharmacol. 2011;163:1237-49.
87. Meng H, Metaxa E, Gao L, Liaw N, Natarajan S, Swartz D. Progressive aneurysm development following hemodynamic insult. J Neurosurg. 2011;114:1095-103.
88. Fisher CL, Demel SL. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Potential Pharmacological Treatment for Intracranial Aneurysm. Cerebrovasc Dis Extra. 2019;9(1):31-45.
89. Starke RM, Chalouhi N, Ding D, Hasan DM. Potential role of aspirin in the prevention of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Cerebrovasc Dis. 2015;39(5-6):332-42.
90. Yang S, Liu T, Wu Y, Xu N, Xia L, Yu X. The Role of Aspirin in the Management of Intracranial Aneurysms: A Systematic Review and Meta-Analyses. Front Neurol. 2021;12:646613.
91. Intengan H, Schiffrin E. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. Hypertension. 2001;38:581-7.
92. Yoshida T, Yamashita M, Horimai C, Hayashi M. Smooth muscle-selective inhibition of nuclear factor-κB attenuates smooth muscle phenotypic switching and neointima formation following vascular injury. J Am Heart Assoc. 2013;2:e000230.
93. Danenberg H, Fishbein I, Gao J, Mönkkönen J, Reich R, Gati I. Macrophage depletion by clodronate-containing liposomes reduces neointimal formation after balloon injury in rats and rabbits. Circulation. 2002;106:599-605.
94. Amenta PS, Valle E, Dumont AS, Medel R. Inflammation and intracranial aneurysms: mechanisms of initiation, growth, and rupture. Neuroimmunology and Neuroinflammation. 2015;2:68-76.
95. Frösen J, Tulamo R, Heikura T, Sammalkorpi S, Niemelä M, Hernesniemi J. Lipid accumulation, lipid oxidation, and low plasma levels of acquired antibodies against oxidized

lipids associate with degeneration and rupture of the intracranial aneurysm wall. Acta Neuropathol Commun. 2013;1:71.
96. Ollikainen E, Tulamo R, Lehti S, Lee-Rueckert M, Hernesniemi J, Niemelä M. Smooth muscle cell foam cell formation, apolipoproteins, and ABCA1 in intracranial aneurysms: implications for lipid accumulation as a promoter of aneurysm wall rupture. J Neuropathol Exp Neurol. 2016;75:689-99.
97. Wada K, Makino H, Shimada K, Shikata F, Kuwabara A, Hashimoto T. Translational research using a mouse model of intracranial aneurysm. Transl Stroke Res. 2014;5:248-51.
98. Penn DL, Witte SR, Komotar RJ, Sander Connolly E, Jr. The role of vascular remodeling and inflammation in the pathogenesis of intracranial aneurysms. J Clin Neurosci. 2014;21(1):28-32.
99. Kim ST, Brinjikji W, Kallmes DF. Prevalence of Intracranial Aneurysms in Patients with Connective Tissue Diseases: A Retrospective Study. AJNR Am J Neuroradiol. 2016;37(8):1422-6.
100. Perry LD, Robertson F, Ganesan V. Screening for cerebrovascular disease in microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type II (MOPD II): an evidence-based proposal. Pediatr Neurol. 2013;48(4):294-8.
101. Xu Z, Rui YN, Hagan JP, Kim DH. Intracranial Aneurysms: Pathology, Genetics, and Molecular Mechanisms. Neuromolecular Med. 2019;21(4):325-43.
102. Nurmonen HJ, Huttunen T, Huttunen J, Kurki MI, Helin K, Koivisto T, et al. Polycystic kidney disease among 4,436 intracranial aneurysm patients from a defined population. Neurology. 2017;89(18):1852-9.
103. Caranci F, Briganti F, Cirillo L, Leonardi M, Muto M. Epidemiology and genetics of intracranial aneurysms. Eur J Radiol. 2013;82(10):1598-605.
104. Vlak MH, Algra A, Brandenburg R, Rinkel GJ. Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: a systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol. 2011;10(7):626-36.
105. Bakker MK, Ruigrok YM. Genetics of Intracranial Aneurysms. Stroke. 2021;52(9):3004-12.
106. Rikhtegar R, Mosimann PJ, Rothaupt J, Mirza-Aghazadeh-Attari M, Hallaj S, Yousefi M, et al. Non-coding RNAs role in intracranial aneurysm: General principles with focus on inflammation. Life Sci. 2021;278:119617.
107. Petridis AK, Kamp MA, Cornelius JF, Beez T, Beseoglu K, Turowski B, et al. Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. Dtsch Arztebl Int. 2017;114(13):226-36.
108. van Gijn J, Kerr RS, Rinkel GJ. Subarachnoid haemorrhage. Lancet. 2007;369(9558):306-18.
109. da Rocha AJ, da Silva CJ, Gama HP, Baccin CE, Braga FT, Cesare Fde A, et al. Comparison of magnetic resonance imaging sequences with computed tomography to detect low-grade subarachnoid hemorrhage: Role of fluid-attenuated inversion recovery sequence. J Comput Assist Tomogr. 2006;30(2):295-303.
110. Nagy K, Skagervik I, Tumani H, Petzold A, Wick M, Kühn HJ, et al. Cerebrospinal fluid analyses for the diagnosis of subarachnoid haemorrhage and experience from a Swedish study. What method is preferable when diagnosing a subarachnoid haemorrhage? Clin Chem Lab Med. 2013;51(11):2073-86.
111. White PM, Teasdale EM, Wardlaw JM, Easton V. Intracranial aneurysms: CT angiography and MR angiography for detection prospective blinded comparison in a large patient cohort. Radiology. 2001;219(3):739-49.
112. Chen X, Liu Y, Tong H, Dong Y, Ma D, Xu L, et al. Meta-analysis of computed tomography angiography versus magnetic resonance angiography for intracranial aneurysm. Medicine (Baltimore). 2018;97(20):e10771.

113. Matouk CC, Mandell DM, Günel M, Bulsara KR, Malhotra A, Hebert R, et al. Vessel wall magnetic resonance imaging identifies the site of rupture in patients with multiple intracranial aneurysms: proof of principle. Neurosurgery. 2013;72(3):492-6; discussion 6.
114. Hasan D, Chalouhi N, Jabbour P, Dumont AS, Kung DK, Magnotta VA, et al. Early change in ferumoxytol-enhanced magnetic resonance imaging signal suggests unstable human cerebral aneurysm: a pilot study. Stroke. 2012;43(12):3258-65.
115. Texakalidis P, Hilditch C, Lehman V, Lanzino G, Pereira V, Brinjikji W. Vessel wall imaging of intracranial aneurysms: systematic review and meta-analysis. World Neurosurg. 2018;117:453-8, 8.e1.
116. Matsushige T, Shimonaga K, Mizoue T, Hosogai M, Hashimoto Y, Takahashi H, et al. Lessons from Vessel Wall Imaging of Intracranial Aneurysms: New Era of Aneurysm Evaluation beyond Morphology. Neurol Med Chir (Tokyo). 2019;59(11):407-14.
117. Santarosa C, Cord B, Koo A, Bhogal P, Malhotra A, Payabvash S, et al. Vessel wall magnetic resonance imaging in intracranial aneurysms: Principles and emerging clinical applications. Interv Neuroradiol. 2020;26(2):135-46.
118. Ahmed SU, Mocco J, Zhang X, Kelly M, Doshi A, Nael K, et al. MRA versus DSA for the follow-up imaging of intracranial aneurysms treated using endovascular techniques: a meta-analysis. J Neurointerv Surg. 2019;11(10):1009-14.
119. Herzberg M, Forbrig R, Schichor C, Brückmann H, Dorn F. Preoperative Digital Subtraction Angiography in Incidental Unruptured Intracranial Aneurysms : How Much is too Much? Clin Neuroradiol. 2018;28(3):429-35.
120. Marshall SA, Kathuria S, Nyquist P, Gandhi D. Noninvasive imaging techniques in the diagnosis and management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Neurosurg Clin N Am. 2010;21(2):305-23.
121. Harker P, Vranic J, Patel AB. Microsurgical Clipping of Intracranial Aneurysms in the Endovascular Era. Cardiol Rev. 2020.
122. Maiti TK, Bir SC, Bollam P, Nanda A. Alfred J Luessenhop and the dawn of a new superspecialty: endovascular neurosurgery. J Neurointerv Surg. 2016;8(2):216-20.
123. Alaraj A, Wallace A, Dashti R, Patel P, Aletich V. Balloons in endovascular neurosurgery: history and current applications. Neurosurgery. 2014;74 Suppl 1:S163-90.
124. Guglielmi G, Viñuela F, Sepetka I, Macellari V. Electrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach. Part 1: Electrochemical basis, technique, and experimental results. J Neurosurg. 1991;75(1):1-7.
125. Guglielmi G, Viñuela F, Dion J, Duckwiler G. Electrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach. Part 2: Preliminary clinical experience. J Neurosurg. 1991;75(1):8-14.
126. Guglielmi G. Guglielmi detachable coils. J Neurointerv Surg. 2018;10(4):e5.
127. Yuki I, Murayama Y, Vinuela F. Development of medical devices for neuro-interventional procedures: special focus on aneurysm treatment. Expert Rev Med Devices. 2005;2(5):539-46.
128. Malisch TW, Guglielmi G, Viñuela F, Duckwiler G, Gobin YP, Martin NA, et al. Intracranial aneurysms treated with the Guglielmi detachable coil: midterm clinical results in a consecutive series of 100 patients. J Neurosurg. 1997;87(2):176-83.
129. Molyneux A, Kerr R, Stratton I, Sandercock P, Clarke M, Shrimpton J, et al. International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised trial. Lancet. 2002;360(9342):1267-74.
130. Naggara ON, White PM, Guilbert F, Roy D, Weill A, Raymond J. Endovascular treatment of intracranial unruptured aneurysms: systematic review and meta-analysis of the literature on safety and efficacy. Radiology. 2010;256(3):887-97.

131. Molyneux AJ, Kerr RS, Yu LM, Clarke M, Sneade M, Yarnold JA, et al. International subarachnoid aneurysm trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised comparison of effects on survival, dependency, seizures, rebleeding, subgroups, and aneurysm occlusion. Lancet. 2005;366(9488):809-17.
132. Molyneux AJ, Birks J, Clarke A, Sneade M, Kerr RS. The durability of endovascular coiling versus neurosurgical clipping of ruptured cerebral aneurysms: 18 year follow-up of the UK cohort of the International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT). Lancet. 2015;385(9969):691-7.
133. Lindgren A, Vergouwen MD, van der Schaaf I, Algra A, Wermer M, Clarke MJ, et al. Endovascular coiling versus neurosurgical clipping for people with aneurysmal subarachnoid haemorrhage. Cochrane Database Syst Rev. 2018;8:Cd003085.
134. Brinjikji W, Rabinstein AA, Lanzino G, Kallmes DF, Cloft HJ. Effect of age on outcomes of treatment of unruptured cerebral aneurysms: a study of the National Inpatient Sample 2001-2008. Stroke. 2011;42(5):1320-4.
135. Huang C, You C. Clipping Versus Coiling in the Management of Unruptured Aneurysms with Multiple Risk Factors. World Neurosurg. 2019;126:e545-e9.
136. Wiebers DO, Whisnant JP, Huston J, 3rd, Meissner I, Brown RD, Jr., Piepgras DG, et al. Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. Lancet. 2003;362(9378):103-10.
137. Ferns SP, Sprengers ME, van Rooij WJ, Rinkel GJ, van Rijn JC, Bipat S, et al. Coiling of intracranial aneurysms: a systematic review on initial occlusion and reopening and retreatment rates. Stroke. 2009;40(8):e523-9.
138. Campos JK, Lien BV, Wang AS, Lin LM. Advances in endovascular aneurysm management: coiling and adjunctive devices. Stroke Vasc Neurol. 2020;5(1):14-21.
139. Murayama Y, Nien YL, Duckwiler G, Gobin YP, Jahan R, Frazee J, et al. Guglielmi detachable coil embolization of cerebral aneurysms: 11 years' experience. J Neurosurg. 2003;98(5):959-66.
140. Pierot L, Cognard C, Anxionnat R, Ricolfi F. Remodeling technique for endovascular treatment of ruptured intracranial aneurysms had a higher rate of adequate postoperative occlusion than did conventional coil embolization with comparable safety. Radiology. 2011;258(2):546-53.
141. Pierot L, Cognard C, Spelle L, Moret J. Safety and efficacy of balloon remodeling technique during endovascular treatment of intracranial aneurysms: critical review of the literature. AJNR Am J Neuroradiol. 2012;33(1):12-5.
142. Moret J, Cognard C, Weill A, Castaings L, Rey A. The "Remodelling Technique" in the Treatment of Wide Neck Intracranial Aneurysms. Angiographic Results and Clinical Follow-up in 56 Cases. Interv Neuroradiol. 1997;3(1):21-35.
143. Consoli A, Vignoli C, Renieri L, Rosi A, Chiarotti I, Nappini S, et al. Assisted coiling of saccular wide-necked unruptured intracranial aneurysms: stent versus balloon. J Neurointerv Surg. 2016;8(1):52-7.
144. Wang F, Chen X, Wang Y, Bai P, Wang HZ, Sun T, et al. Stent-assisted coiling and balloon-assisted coiling in the management of intracranial aneurysms: A systematic review & meta-analysis. J Neurol Sci. 2016;364:160-6.
145. Gory B, Rouchaud A, Saleme S, Dalmay F, Riva R, Caire F, et al. Endovascular treatment of middle cerebral artery aneurysms for 120 nonselected patients: a prospective cohort study. AJNR Am J Neuroradiol. 2014;35(4):715-20.
146. Civi S, Andic C, Kardes O, Suner H, Durdag E, Ozmete O, et al. Safety and Efficacy of Ventriculostomy Procedures under Dual Antiplatelet Therapy in Patients Treated With Stent Assisted Coiling In Subarachnoid Hemorrhage. Turk Neurosurg. 2017.

147. Oushy S, Rinaldo L, Brinjikji W, Cloft H, Lanzino G. Recent advances in stent-assisted coiling of cerebral aneurysms. Expert Rev Med Devices. 2020;17(6):519-32.
148. Mokin M, Chinea A, Primiani CT, Ren Z, Kan P, Srinivasan VM, et al. Treatment of blood blister aneurysms of the internal carotid artery with flow diversion. J Neurointerv Surg. 2018;10(11):1074-8.
149. Krishna C, Sonig A, Natarajan SK, Siddiqui AH. The expanding realm of endovascular neurosurgery: flow diversion for cerebral aneurysm management. Methodist Debakey Cardiovasc J. 2014;10(4):214-9.
150. Brinjikji W, Murad MH, Lanzino G, Cloft HJ, Kallmes DF. Endovascular treatment of intracranial aneurysms with flow diverters: a meta-analysis. Stroke. 2013;44(2):442-7.
151. Szikora I, Berentei Z, Kulcsar Z, Marosfoi M, Vajda ZS, Lee W, et al. Treatment of intracranial aneurysms by functional reconstruction of the parent artery: the Budapest experience with the pipeline embolization device. AJNR Am J Neuroradiol. 2010;31(6):1139-47.
152. Kallmes DF, Ding YH, Dai D, Kadirvel R, Lewis DA, Cloft HJ. A new endoluminal, flow-disrupting device for treatment of saccular aneurysms. Stroke. 2007;38(8):2346-52.
153. Dai D, Ding YH, Kadirvel R, Rad AE, Lewis DA, Kallmes DF. Patency of branches after coverage with multiple telescoping flow-diverter devices: an in vivo study in rabbits. AJNR Am J Neuroradiol. 2012;33(1):171-4.
154. Natarajan SK, Lin N, Sonig A, Rai AT, Carpenter JS, Levy EI, et al. The safety of Pipeline flow diversion in fusiform vertebrobasilar aneurysms: a consecutive case series with longer-term follow-up from a single US center. J Neurosurg. 2016;125(1):111-9.
155. Panchendrabose K, Muram S, Mitha AP. Promoting endothelialization of flow-diverting stents: a review. J Neurointerv Surg. 2020.
156. Kadirvel R, Ding YH, Dai D, Rezek I, Lewis DA, Kallmes DF. Cellular mechanisms of aneurysm occlusion after treatment with a flow diverter. Radiology. 2014;270(2):394-9.
157. Kallmes DF, Ding YH, Dai D, Kadirvel R, Lewis DA, Cloft HJ. A second-generation, endoluminal, flow-disrupting device for treatment of saccular aneurysms. AJNR Am J Neuroradiol. 2009;30(6):1153-8.
158. Augsburger L, Farhat M, Reymond P, Fonck E, Kulcsar Z, Stergiopulos N, et al. Effect of flow diverter porosity on intraaneurysmal blood flow. Klin Neuroradiol. 2009;19(3):204-14.
159. Dandapat S, Mendez-Ruiz A, Martínez-Galdámez M, Macho J, Derakhshani S, Foa Torres G, et al. Review of current intracranial aneurysm flow diversion technology and clinical use. J Neurointerv Surg. 2020.
160. Tonetti DA, Jankowitz BT, Gross BA. Antiplatelet Therapy in Flow Diversion. Neurosurgery. 2020;86(Suppl 1):S47-s52.
161. Maragkos GA, Dmytriw AA, Salem MM, Tutino VM, Meng H, Cognard C, et al. Overview of Different Flow Diverters and Flow Dynamics. Neurosurgery. 2020;86(Suppl 1):S21-s34.
162. Gory B, Blanc R, Turjman F, Berge J, Piotin M. The Barrel vascular reconstruction device for endovascular coiling of wide-necked intracranial aneurysms: a multicenter, prospective, post-marketing study. J Neurointerv Surg. 2018;10(10):969-74.
163. Aguilar-Salinas P, Brasiliense LBC, Walter CM, Hanel RA, Dumont TM. Current Status of the PulseRider in the Treatment of Bifurcation Aneurysms: A Systematic Review. World Neurosurg. 2018;115:288-94.
164. Gory B, Aguilar-Pérez M, Pomero E, Turjman F, Weber W, Fischer S, et al. One-year Angiographic Results After pCONus Stent-Assisted Coiling of 40 Wide-Neck Middle Cerebral Artery Aneurysms. Neurosurgery. 2017;80(6):925-33.

165. Spiotta AM, Derdeyn CP, Tateshima S, Mocco J, Crowley RW, Liu KC, et al. Results of the ANSWER Trial Using the PulseRider for the Treatment of Broad-Necked, Bifurcation Aneurysms. Neurosurgery. 2017;81(1):56-65.
166. Sorenson TJ, Iacobucci M, Murad MH, Spelle L, Moret J, Lanzino G. The pCONUS bifurcation aneurysm implants for endovascular treatment of adults with intracranial aneurysms: A systematic review and meta-analysis. Surg Neurol Int. 2019;10:24.
167. Ding YH, Lewis DA, Kadirvel R, Dai D, Kallmes DF. The Woven EndoBridge: a new aneurysm occlusion device. AJNR Am J Neuroradiol. 2011;32(3):607-11.
168. Pierot L. Ten Years of Clinical Evaluation of the Woven EndoBridge: A Safe and Effective Treatment for Wide-Neck Bifurcation Aneurysms. Neurointervention. 2021;16(3):211-21.
169. Chiu AHY, Phillips TJ. Future Directions of Flow Diverter Therapy. Neurosurgery. 2020;86(Suppl 1):S106-s16.
170. Iosif C. Neurovascular devices for the treatment of intracranial aneurysms: emerging and future technologies. Expert Rev Med Devices. 2020;17(3):173-88.
171. Jamshidi M, Rajabian M, Avery MB, Sundararaj U, Ronsky J, Belanger B, et al. A novel self-expanding primarily bioabsorbable braided flow-diverting stent for aneurysms: initial safety results. J Neurointerv Surg. 2020;12(7):700-5.
172. Horowitz M, Samson D, Purdy P. Does electrothrombosis occur immediately after embolization of an aneurysm with Guglielmi detachable coils? AJNR Am J Neuroradiol. 1997;18(3):510-3.
173. Murayama Y, Suzuki Y, Vinuela F, Kaibara M, Kurotobi K, Iwaki M, et al. Development of a biologically active Guglielmi detachable coil for the treatment of cerebral aneurysms. Part I: in vitro study. AJNR Am J Neuroradiol. 1999;20(10):1986-91.
174. Yuich Murayama; Yoshiaki Suzuki F, Tarik F.Massoud, Huy M.Do, Guido Guglielmi, Masaya Iwaki, Masami Kamio, Toshiaki Abeb. A new surface modification technique of platinum coils by ion implantation and protein coating: Use in intravascular treatment of brain aneurysms. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms. 1997;Volumes 127–128(2 May 1997):Pages 1015-8.
175. Raymond J, Savard P, Salazkin I, Bouzeghrane F. Radiofrequency endothelial ablation prevents recanalization after endovascular coil occlusion: in vitro and in vivo assessment. J Vasc Interv Radiol. 2010;21(1):101-7.
176. Raymond J, Metcalfe A, Salazkin I, Gevry G, Guilbert F. Endoluminal cryotherapy to prevent recanalization after endovascular occlusion with platinum coils. J Vasc Interv Radiol. 2006;17(9):1499-504.
177. Raymond J, Leblanc P, Desfaits AC, Salazkin I, Morel F, Janicki C, et al. In situ beta radiation to prevent recanalization after coil embolization of cerebral aneurysms. Stroke. 2002;33(2):421-7.
178. Raymond J, Mounayer C, Salazkin I, Metcalfe A, Gevry G, Janicki C, et al. Safety and effectiveness of radioactive coil embolization of aneurysms: effects of radiation on recanalization, clot organization, neointima formation, and surrounding nerves in experimental models. Stroke. 2006;37(8):2147-52.
179. Piotin M, Mandai S, Murphy KJ, Sugiu K, Gailloud P, Martin JB, et al. Dense packing of cerebral aneurysms: an in vitro study with detachable platinum coils. AJNR Am J Neuroradiol. 2000;21(4):757-60.
180. Abrahams JM, Diamond SL, Hurst RW, Zager EL, Grady MS. Topic review: surface modifications enhancing biological activity of guglielmi detachable coils in treating intracranial aneurysms. Surg Neurol. 2000;54(1):34-40; discussion -1.

181. Crobeddu E, Lanzino G, Kallmes DF, Cloft HJ. Review of 2 decades of aneurysm-recurrence literature, part 1: reducing recurrence after endovascular coiling. AJNR Am J Neuroradiol. 2013;34(2):266-70.
182. Adesh Shrivastava 1 RM, Luis Rafael Moscote Salazar 3 , Pradeep Chouksey 4 , Sumit Raj 4 , Amit Agrawal 4. Enigma of what is Known about Intracranial Aneurysm Occlusion with Endovascular Devices. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2021;30(6).
183. Brinjikji W, Kallmes DF, Kadirvel R. Mechanisms of Healing in Coiled Intracranial Aneurysms: A Review of the Literature. AJNR Am J Neuroradiol. 2015;36(7):1216-22.
184. Marbacher S, Niemela M, Hernesniemi J, Frosen J. Recurrence of endovascularly and microsurgically treated intracranial aneurysms-review of the putative role of aneurysm wall biology. Neurosurg Rev. 2019;42(1):49-58.
185. Li ZF, Fang XG, Yang PF, Huang QH, Zhao WY, Liang C, et al. Endothelial progenitor cells contribute to neointima formation in rabbit elastase-induced aneurysm after flow diverter treatment. CNS Neurosci Ther. 2013;19(5):352-7.
186. Raymond J, Darsaut T, Salazkin I, Gevry G, Bouzeghrane F. Mechanisms of occlusion and recanalization in canine carotid bifurcation aneurysms embolized with platinum coils: an alternative concept. AJNR Am J Neuroradiol. 2008;29(4):745-52.
187. Reul J, Weis J, Spetzger U, Konert T, Fricke C, Thron A. Long-term angiographic and histopathologic findings in experimental aneurysms of the carotid bifurcation embolized with platinum and tungsten coils. AJNR Am J Neuroradiol. 1997;18(1):35-42.
188. Bavinzski G, Talazoglu V, Killer M, Richling B, Gruber A, Gross CE, et al. Gross and microscopic histopathological findings in aneurysms of the human brain treated with Guglielmi detachable coils. J Neurosurg. 1999;91(2):284-93.
189. Crobeddu E, Lanzino G, Kallmes DF, Cloft HJ. Review of 2 decades of aneurysm-recurrence literature, part 2: Managing recurrence after endovascular coiling. AJNR Am J Neuroradiol. 2013;34(3):481-5.
190. Kang HS, Han MH, Kwon BJ, Kwon OK, Kim SH. Repeat endovascular treatment in post-embolization recurrent intracranial aneurysms. Neurosurgery. 2006;58(1):60-70; discussion 60-70.
191. Byrne JV, Sohn MJ, Molyneux AJ, Chir B. Five-year experience in using coil embolization for ruptured intracranial aneurysms: outcomes and incidence of late rebleeding. J Neurosurg. 1999;90(4):656-63.
192. Dai D, Ding YH, Kadirvel R, Danielson MA, Lewis DA, Cloft HJ, et al. A longitudinal immunohistochemical study of the healing of experimental aneurysms after embolization with platinum coils. AJNR Am J Neuroradiol. 2006;27(4):736-41.
193. Krings T, Busch C, Sellhaus B, Drexler AY, Bovi M, Hermanns-Sachweh B, et al. Long-term histological and scanning electron microscopy results of endovascular and operative treatments of experimentally induced aneurysms in the rabbit. Neurosurgery. 2006;59(4):911-23; discussion 23-4.
194. Ding YH, Dai D, Kadirvel R, Lewis DA, Cloft HJ, Kallmes DF. Relationship between aneurysm volume and histologic healing after coil embolization in elastase-induced aneurysms: a retrospective study. AJNR Am J Neuroradiol. 2008;29(1):98-101.
195. Songsaeng D, Geibprasert S, ter Brugge KG, Willinsky R, Tymianski M, Krings T. Impact of individual intracranial arterial aneurysm morphology on initial obliteration and recurrence rates of endovascular treatments: a multivariate analysis. J Neurosurg. 2011;114(4):994-1002.
196. Cloft HJ, Kallmes DF. Aneurysm packing with HydroCoil Embolic System versus platinum coils: initial clinical experience. AJNR Am J Neuroradiol. 2004;25(1):60-2.

197. Sherif C, Plenk H, Jr., Grossschmidt K, Kanz F, Bavinzski G. Computer-assisted quantification of occlusion and coil densities on angiographic and histological images of experimental aneurysms. Neurosurgery. 2006;58(3):559-66; discussion -66.
198. Tamatani S, Ito Y, Abe H, Koike T, Takeuchi S, Tanaka R. Evaluation of the stability of aneurysms after embolization using detachable coils: correlation between stability of aneurysms and embolized volume of aneurysms. AJNR Am J Neuroradiol. 2002;23(5):762-7.
199. Sluzewski M, van Rooij WJ, Slob MJ, Bescós JO, Slump CH, Wijnalda D. Relation between aneurysm volume, packing, and compaction in 145 cerebral aneurysms treated with coils. Radiology. 2004;231(3):653-8.
200. Uchiyama N, Kida S, Nomura M, Hasegawa M, Yamashima T, Yamashita J, et al. Significance of volume embolization ratio as a predictor of recanalization on endovascular treatment of cerebral aneurysms with guglielmi detachable coils. Interv Neuroradiol. 2000;6 Suppl 1(Suppl 1):59-63.
201. Raymond J, Guilbert F, Weill A, Georganos SA, Juravsky L, Lambert A, et al. Long-term angiographic recurrences after selective endovascular treatment of aneurysms with detachable coils. Stroke. 2003;34(6):1398-403.
202. Tan IY, Agid RF, Willinsky RA. Recanalization rates after endovascular coil embolization in a cohort of matched ruptured and unruptured cerebral aneurysms. Interv Neuroradiol. 2011;17(1):27-35.
203. Groden C, Hagel C, Delling G, Zeumer H. Histological findings in ruptured aneurysms treated with GDCs: six examples at varying times after treatment. AJNR Am J Neuroradiol. 2003;24(4):579-84.
204. Nakahara T, Sakamoto S, Hamasaki O, Sakoda K. Post-mortem pathological examination of two patients after intraaneurysmal embolization using guglielmi detachable coils. Interv Neuroradiol. 2003;9(Suppl 1):57-62.
205. Szikora I, Seifert P, Hanzely Z, Kulcsar Z, Berentei Z, Marosfoi M, et al. Histopathologic evaluation of aneurysms treated with Guglielmi detachable coils or matrix detachable microcoils. AJNR Am J Neuroradiol. 2006;27(2):283-8.
206. Ishihara S, Mawad ME, Ogata K, Suzuki C, Tsuzuki N, Katoh H, et al. Histopathologic findings in human cerebral aneurysms embolized with platinum coils: report of two cases and review of the literature. AJNR Am J Neuroradiol. 2002;23(6):970-4.
207. Horowitz MB, Purdy PD, Burns D, Bellotto D. Scanning electron microscopic findings in a basilar tip aneurysm embolized with Guglielmi detachable coils. AJNR Am J Neuroradiol. 1997;18(4):688-90.
208. Shimizu S, Kurata A, Takano M, Takagi H, Yamazaki H, Miyasaka Y, et al. Tissue response of a small saccular aneurysm after incomplete occlusion with a Guglielmi detachable coil. AJNR Am J Neuroradiol. 1999;20(4):546-8.
209. Castro E, Fortea F, Villoria F, Lacruz C, Ferreras B, Carrillo R. Long-term histopathologic findings in two cerebral aneurysms embolized with Guglielmi detachable coils. AJNR Am J Neuroradiol. 1999;20(4):549-52.
210. Molyneux AJ, Ellison DW, Morris J, Byrne JV. Histological findings in giant aneurysms treated with Guglielmi detachable coils. Report of two cases with autopsy correlation. J Neurosurg. 1995;83(1):129-32.
211. Suda Y, Kikuchi K, Shioya H, Shindo K, Nanjo H, Masuda H. Long-term histopathology of intracranial aneurysms after endovascular treatment with coils. Report of two cases with ultrastructural evaluations by scanning electron microscopy. Interv Neuroradiol. 1999;5 Suppl 1:225-31.
212. Mizoi K, Yoshimoto T, Takahashi A, Nagamine Y. A pitfall in the surgery of a recurrent aneurysm after coil embolization and its histological observation: technical case report. Neurosurgery. 1996;39(1):165-8; discussion 8-9.

213. Khashim Z, Daying D, Hong DY, Ringler JA, Herting S, Jakaitis D, et al. The Distribution and Role of M1 and M2 Macrophages in Aneurysm Healing after Platinum Coil Embolization. AJNR Am J Neuroradiol. 2020;41(9):1657-62.
214. Dai D, Ding YH, Danielson MA, Kadirvel R, Lewis DA, Cloft HJ, et al. Histopathologic and immunohistochemical comparison of human, rabbit, and swine aneurysms embolized with platinum coils. AJNR Am J Neuroradiol. 2005;26(10):2560-8.
215. Mitome-Mishima Y, Yamamoto M, Yatomi K, Nonaka S, Miyamoto N, Urabe T, et al. Endothelial cell proliferation in swine experimental aneurysm after coil embolization. PLoS One. 2014;9(2):e89047.
216. Bouzeghrane F, Naggara O, Kallmes DF, Berenstein A, Raymond J. In vivo experimental intracranial aneurysm models: a systematic review. AJNR Am J Neuroradiol. 2010;31(3):418-23.
217. Elangbam CS, Qualls CW, Jr., Dahlgren RR. Cell adhesion molecules--update. Vet Pathol. 1997;34(1):61-73.
218. Galkina E, Ley K. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27(11):2292-301.
219. Zhong X, Drgonova J, Li CY, Uhl GR. Human cell adhesion molecules: annotated functional subtypes and overrepresentation of addiction-associated genes. Ann N Y Acad Sci. 2015;1349(1):83-95.
220. Lund SA, Giachelli CM, Scatena M. The role of osteopontin in inflammatory processes. J Cell Commun Signal. 2009;3(3-4):311-22.
221. Hosaka K, Rojas K, Fazal HZ, Schneider MB, Shores J, Federico V, et al. Monocyte Chemotactic Protein-1-Interleukin-6-Osteopontin Pathway of Intra-Aneurysmal Tissue Healing. Stroke. 2017;48(4):1052-60.
222. Kadirvel R, Ding YH, Dai D, Lewis DA, Kallmes DF. Proteomic analysis of aneurysm healing mechanism after coil embolization: comparison of dense packing with loose packing. AJNR Am J Neuroradiol. 2012;33(6):1177-81.
223. Murphy PA, Hynes RO. Alternative splicing of endothelial fibronectin is induced by disturbed hemodynamics and protects against hemorrhage of the vessel wall. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014;34(9):2042-50.
224. Hoh BL, Hosaka K, Downes DP, Nowicki KW, Fernandez CE, Batich CD, et al. Monocyte chemotactic protein-1 promotes inflammatory vascular repair of murine carotid aneurysms via a macrophage inflammatory protein-1α and macrophage inflammatory protein-2-dependent pathway. Circulation. 2011;124(20):2243-52.
225. Kadirvel R, Ding YH, Dai D, Lewis DA, Cloft HJ, Kallmes DF. Molecular indices of apoptosis activation in elastase-induced aneurysms after embolization with platinum coils. Stroke. 2007;38(10):2787-94.
226. Gao C, Yu H, Yan C, Zhao W, Liu Y, Zhang D, et al. X-linked inhibitor of apoptosis inhibits apoptosis and preserves the blood-brain barrier after experimental subarachnoid hemorrhage. Sci Rep. 2017;7:44918.
227. Kadirvel R, Ding YH, Dai D, Lewis DA, Kallmes DF. Differential expression of genes in elastase-induced saccular aneurysms with high and low aspect ratios. Neurosurgery. 2010;66(3):578-84; discussion 84.
228. Ferrante CJ, Leibovich SJ. Regulation of Macrophage Polarization and Wound Healing. Adv Wound Care (New Rochelle). 2012;1(1):10-6.
229. Dai D, Ding YH, Lewis DA, Kallmes DF. A proposed ordinal scale for grading histology in elastase-induced, saccular aneurysms. AJNR Am J Neuroradiol. 2006;27(1):132-8.
230. Hesketh M, Sahin KB, West ZE, Murray RZ. Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. Int J Mol Sci. 2017;18(7).

231. Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. Nat Rev Immunol. 2011;11(11):723-37.
232. Spiller KL, Anfang RR, Spiller KJ, Ng J, Nakazawa KR, Daulton JW, et al. The role of macrophage phenotype in vascularization of tissue engineering scaffolds. Biomaterials. 2014;35(15):4477-88.
233. Bouzeghrane F, Darsaut T, Salazkin I, Ogoudikpe C, Gevry G, Raymond J. Matrix metalloproteinase-9 may play a role in recanalization and recurrence after therapeutic embolization of aneurysms or arteries. J Vasc Interv Radiol. 2007;18(10):1271-9.
234. Kadirvel R, Ding YH, Dai D, Lewis DA, Kallmes DF. Differential gene expression in well-healed and poorly healed experimental aneurysms after coil treatment. Radiology. 2010;257(2):418-26.
235. Frösen J, Marjamaa J, Myllärniemi M, Abo-Ramadan U, Tulamo R, Niemelä M, et al. Contribution of mural and bone marrow-derived neointimal cells to thrombus organization and wall remodeling in a microsurgical murine saccular aneurysm model. Neurosurgery. 2006;58(5):936-44; discussion -44.
236. Hoh BL, Fazal HZ, Hourani S, Li M, Lin L, Hosaka K. Temporal cascade of inflammatory cytokines and cell-type populations in monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)-mediated aneurysm healing. J Neurointerv Surg. 2018;10(3):301-5.
237. Marbacher S, Marjamaa J, Bradacova K, von Gunten M, Honkanen P, Abo-Ramadan U, et al. Loss of mural cells leads to wall degeneration, aneurysm growth, and eventual rupture in a rat aneurysm model. Stroke. 2014;45(1):248-54.
238. Marbacher S, Frosen J, Marjamaa J, Anisimov A, Honkanen P, von Gunten M, et al. Intraluminal cell transplantation prevents growth and rupture in a model of rupture-prone saccular aneurysms. Stroke. 2014;45(12):3684-90.
239. dos Santos MP, Sabri A, Dowlatshahi D, Bakkai AM, Elallegy A, Lesiuk H, et al. Survival Analysis of Risk Factors for Major Recurrence of Intracranial Aneurysms after Coiling.
240. Pyysalo LM, Keski-Nisula LH, Niskakangas TT, Kähärä VJ, Ohman JE. Long-term follow-up study of endovascularly treated intracranial aneurysms. Interv Neuroradiol. 2010;16(4):361-8.
241. Gallas S, Januel AC, Pasco A, Drouineau J, Gabrillargues J, Gaston A, et al. Long-term follow-up of 1036 cerebral aneurysms treated by bare coils: a multicentric cohort treated between 1998 and 2003. AJNR Am J Neuroradiol. 2009;30(10):1986-92.
242. Ogilvy CS, Chua MH, Fusco MR, Reddy AS, Thomas AJ. Stratification of recanalization for patients with endovascular treatment of intracranial aneurysms. Neurosurgery. 2015;76(4):390-5; discussion 5.
243. Vanzin JR, Mounayer C, Abud DG, D'Agostini Annes R, Moret J. Angiographic results in intracranial aneurysms treated with inert platinum coils. Interv Neuroradiol. 2012;18(4):391-400.
244. Nevzati E, Rey J, Coluccia D, Grüter BE, Wanderer S, vonGunten M, et al. Aneurysm wall cellularity affects healing after coil embolization: assessment in a rat saccular aneurysm model. J Neurointerv Surg. 2020;12(6):621-5.
245. Gelse K, Pöschl E, Aigner T. Collagens--structure, function, and biosynthesis. Adv Drug Deliv Rev. 2003;55(12):1531-46.
246. Whittaker P, Schwab ME, Canham PB. The molecular organization of collagen in saccular aneurysms assessed by polarized light microscopy. Connect Tissue Res. 1988;17(1):43-54.
247. Kroon M, Holzapfel GA. A model for saccular cerebral aneurysm growth by collagen fibre remodelling. J Theor Biol. 2007;247(4):775-87.

248. Joo SP, Kim TS, Lee IK, Lee JK, Seo BR, Kim JH, et al. The role of collagen type I alpha2 polymorphisms: intracranial aneurysms in Koreans. Surg Neurol. 2009;72(1):48-53; discussion
249. Giudici A, Wilkinson IB, Khir AW. Review of the Techniques Used for Investigating the Role Elastin and Collagen Play in Arterial Wall Mechanics. IEEE Rev Biomed Eng. 2021;14:256-69.
250. Mimata C, Kitaoka M, Nagahiro S, Iyama K, Hori H, Yoshioka H, et al. Differential distribution and expressions of collagens in the cerebral aneurysmal wall. Acta Neuropathol. 1997;94(3):197-206.
251. Sluijter JP, Smeets MB, Velema E, Pasterkamp G, de Kleijn DP. Increased collagen turnover is only partly associated with collagen fiber deposition in the arterial response to injury. Cardiovasc Res. 2004;61(1):186-95.
252. Bishop JE, Lindahl G. Regulation of cardiovascular collagen synthesis by mechanical load. Cardiovasc Res. 1999;42(1):27-44.
253. Etminan N, Dreier R, Buchholz BA, Beseoglu K, Bruckner P, Matzenauer C, et al. Age of collagen in intracranial saccular aneurysms. Stroke. 2014;45(6):1757-63.
254. Aoki T, Kataoka H, Ishibashi R, Nozaki K, Morishita R, Hashimoto N. Reduced collagen biosynthesis is the hallmark of cerebral aneurysm: contribution of interleukin-1beta and nuclear factor-kappaB. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2009;29(7):1080-6.
255. Guglielmi G. History of the genesis of detachable coils. A review. J Neurosurg. 2009;111(1):1-8.
256. Hui FK, Fiorella D, Masaryk TJ, Rasmussen PA, Dion JE. A history of detachable coils: 1987-2012. J Neurointerv Surg. 2014;6(2):134-8.
257. Murayama Y, Tateshima S, Gonzalez NR, Vinuela F. Matrix and bioabsorbable polymeric coils accelerate healing of intracranial aneurysms: long-term experimental study. Stroke. 2003;34(8):2031-7.
258. van Rooij WJ, de Gast AN, Sluzewski M. Results of 101 aneurysms treated with polyglycolic/polylactic acid microfilament nexus coils compared with historical controls treated with standard coils. AJNR Am J Neuroradiol. 2008;29(5):991-6.
259. Ducros V, Weill A, Cognard C, Piotin M, Moret J. To the editor. Corrosion of tungsten spirals. Interv Neuroradiol. 1999;5(1):81-2.
260. Weill A, Ducros V, Cognard C, Piotin M, Moret J. Letter. "Corrosion" of tungsten spirals. A disturbing finding. Interv Neuroradiol. 1998;4(4):337-40.
261. White JB, Ken CG, Cloft HJ, Kallmes DF. Coils in a nutshell: a review of coil physical properties. AJNR Am J Neuroradiol. 2008;29(7):1242-6.
262. Mendenhall SK, Sahlein DH, Wilson CD, Filley AC, Ordaz J, Ahluwalia RK, et al. The Natural History of Coiled Cerebral Aneurysms Stratified by Modified Raymond-Roy Occlusion Classification. World Neurosurg. 2019;128:e417-e26.
263. Lecler A, Raymond J, Rodriguez-Regent C, Al Shareef F, Trystram D, Godon-Hardy S, et al. Intracranial Aneurysms: Recurrences More than 10 Years after Endovascular Treatment-A Prospective Cohort Study, Systematic Review, and Meta-Analysis. Radiology. 2015;277(1):173-80.
264. Liebig T, Henkes H, Fischer S, Weber W, Miloslavski E, Mariushi W, et al. Fibered electrolytically detachable platinum coils used for the endovascular treatment of intracranial aneurysms. Initial experiences and mid-term results in 474 aneurysms. Interv Neuroradiol. 2004;10(1):5-26.
265. Casasco AE, Aymard A, Gobin YP, Houdart E, Rogopoulos A, George B, et al. Selective endovascular treatment of 71 intracranial aneurysms with platinum coils. J Neurosurg. 1993;79(1):3-10.

266. Vance A, Welch BG. The utility of bioactive coils in the embolization of aneurysms. Neurol Res. 2014;36(4):356-62.
267. Waldau B, Fargen KM, Mack WJ, Wilson NM, Khaldi A, Hoh BL, et al. Axium MicroFX coil for the completing endovascular aneurysm surgery study (ACCESS). A prospective evaluation of the safety and durability of Axium MicroFX PGLA coils. Interv Neuroradiol. 2012;18(2):200-7.
268. Gory B, Turjman F. Endovascular treatment of 404 intracranial aneurysms treated with nexus detachable coils: short-term and mid-term results from a prospective, consecutive, European multicenter study. Acta Neurochir (Wien). 2014;156(5):831-7.
269. Fargen KM, Blackburn S, Deshaies EM, Carpenter JS, Jabbour P, Mack WJ, et al. Final results of the multicenter, prospective Axium MicroFX for Endovascular Repair of IntraCranial Aneurysm Study (AMERICA). J Neurointerv Surg. 2015;7(1):40-3.
270. Bendszus M, Solymosi L. Cerecyte coils in the treatment of intracranial aneurysms: a preliminary clinical study. AJNR Am J Neuroradiol. 2006;27(10):2053-7.
271. Taschner CA, Leclerc X, Rachdi H, Barros AM, Pruvo JP. Matrix detachable coils for the endovascular treatment of intracranial aneurysms: analysis of early angiographic and clinical outcomes. Stroke. 2005;36(10):2176-80.
272. Deng J, Zhao Z, Gao G. Periprocedural complications associated with endovascular embolisation of intracranial ruptured aneurysms with matrix coils. Singapore Med J. 2007;48(5):429-33.
273. Mitra D, Herwadkar A, Soh C, Gholkar A. Follow-up of intracranial aneurysms treated with matrix detachable coils: a single-center experience. AJNR Am J Neuroradiol. 2007;28(2):362-7.
274. Usami Y, Hirokawa N, Saitoh M, Okuda H, Someya M, Hasegawa T, et al. Histopathological differences of experimental aneurysms treated with bare platinum, fibered, and bioactive coils. Minim Invasive Ther Allied Technol. 2019;28(3):172-7.
275. Geyik S, Ertugrul O, Yavuz K, Geyik P, Saatci I, Cekirge HS. Comparison of bioactive coils and bare platinum coils for treatment of intracranial aneurysms: a matched-pair analysis. J Neurosurg. 2010;112(4):709-13.
276. Bendszus M, Bartsch AJ, Solymosi L. Endovascular occlusion of aneurysms using a new bioactive coil: a matched pair analysis with bare platinum coils. Stroke. 2007;38(10):2855-7.
277. McDougall CG, Johnston SC, Gholkar A, Barnwell SL, Vazquez Suarez JC, Masso Romero J, et al. Bioactive versus bare platinum coils in the treatment of intracranial aneurysms: the MAPS (Matrix and Platinum Science) trial. AJNR Am J Neuroradiol. 2014;35(5):935-42.
278. Molyneux AJ, Clarke A, Sneade M, Mehta Z, Coley S, Roy D, et al. Cerecyte coil trial: angiographic outcomes of a prospective randomized trial comparing endovascular coiling of cerebral aneurysms with either cerecyte or bare platinum coils. Stroke. 2012;43(10):2544-50.
279. Coley S, Sneade M, Clarke A, Mehta Z, Kallmes D, Cekirge S, et al. Cerecyte coil trial: procedural safety and clinical outcomes in patients with ruptured and unruptured intracranial aneurysms. AJNR Am J Neuroradiol. 2012;33(3):474-80.
280. Gaba RC, Ansari SA, Roy SS, Marden FA, Viana MA, Malisch TW. Embolization of intracranial aneurysms with hydrogel-coated coils versus inert platinum coils: effects on packing density, coil length and quantity, procedure performance, cost, length of hospital stay, and durability of therapy. Stroke. 2006;37(6):1443-50.
281. Gunnarsson T, Tong FC, Klurfan P, Cawley CM, Dion JE. Angiographic and clinical outcomes in 200 consecutive patients with cerebral aneurysm treated with hydrogel-coated coils. AJNR Am J Neuroradiol. 2009;30(9):1657-64.

282. White PM, Lewis SC, Gholkar A, Sellar RJ, Nahser H, Cognard C, et al. Hydrogel-coated coils versus bare platinum coils for the endovascular treatment of intracranial aneurysms (HELPS): a randomised controlled trial. Lancet. 2011;377(9778):1655-62.
283. Abi-Aad KR, Aoun RJN, Rahme RJ, Ward JD, Kniss J, Kwasny MJ, et al. New generation Hydrogel Endovascular Aneurysm Treatment Trial (HEAT): a study protocol for a multicenter randomized controlled trial. Neuroradiology. 2018;60(10):1075-84.
284. Raymond J, Klink R, Chagnon M, Barnwell SL, Evans AJ, Mocco J, et al. Hydrogel versus Bare Platinum Coils in Patients with Large or Recurrent Aneurysms Prone to Recurrence after Endovascular Treatment: A Randomized Controlled Trial. AJNR Am J Neuroradiol. 2017;38(3):432-41.
285. Guo XB, Fan YM, Zhang JN. HydroSoft coil versus HydroCoil for endovascular aneurysm occlusion study: a single center experience. Eur J Radiol. 2011;79(2):e42-6.
286. Raymond J, Venne D, Allas S, Roy D, Oliva VL, Denbow N, et al. Healing mechanisms in experimental aneurysms. I. Vascular smooth muscle cells and neointima formation. J Neuroradiol. 1999;26(1):7-20.
287. Metz RP, Patterson JL, Wilson E. Vascular smooth muscle cells: isolation, culture, and characterization. Methods Mol Biol. 2012;843:169-76.
288. Liu Z, Ajimu K, Yalikun N, Zheng Y, Xu F. Potential Therapeutic Strategies for Intracranial Aneurysms Targeting Aneurysm Pathogenesis. Front Neurosci. 2019;13:1238.
289. Owens GK, Kumar MS, Wamhoff BR. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. Physiol Rev. 2004;84(3):767-801.
290. Ali MS, Starke RM, Jabbour PM, Tjoumakaris SI, Gonzalez LF, Rosenwasser RH, et al. TNF-alpha induces phenotypic modulation in cerebral vascular smooth muscle cells: implications for cerebral aneurysm pathology. J Cereb Blood Flow Metab. 2013;33(10):1564-73.
291. Raymond J, Desfaits AC, Roy D. Fibrinogen and vascular smooth muscle cell grafts promote healing of experimental aneurysms treated by embolization. Stroke. 1999;30(8):1657-64.
292. Allaire E, Muscatelli-Groux B, Guinault AM, Pages C, Goussard A, Mandet C, et al. Vascular smooth muscle cell endovascular therapy stabilizes already developed aneurysms in a model of aortic injury elicited by inflammation and proteolysis. Ann Surg. 2004;239(3):417-27.
293. Patel JJ, Srivastava S, Siow RC. Isolation, Culture, and Characterization of Vascular Smooth Muscle Cells. Methods Mol Biol. 2016;1430:91-105.
294. Forte A, Della Corte A, De Feo M, Cerasuolo F, Cipollaro M. Role of myofibroblasts in vascular remodelling: focus on restenosis and aneurysm. Cardiovasc Res. 2010;88(3):395-405.
295. Kallmes DF, Helm GA, Hudson SB, Altes TA, Do HM, Mandell JW, et al. Histologic evaluation of platinum coil embolization in an aneurysm model in rabbits. Radiology. 1999;213(1):217-22.
296. Kallmes DF, Borland MK, Cloft HJ, Altes TA, Dion JE, Jensen ME, et al. In vitro proliferation and adhesion of basic fibroblast growth factor-producing fibroblasts on platinum coils. Radiology. 1998;206(1):237-43.
297. Kallmes DF, Williams AD, Cloft HJ, Lopes MB, Hankins GR, Helm GA. Platinum coil-mediated implantation of growth factor-secreting endovascular tissue grafts: an in vivo study. Radiology. 1998;207(2):519-23.
298. Kawakami O, Miyamoto S, Hatano T, Yamada K, Hashimoto N, Tabata Y. Accelerated embolization healing of aneurysms by polyethylene terephthalate coils seeded with autologous fibroblasts. Neurosurgery. 2005;56(5):1075-81; discussion -81.

299. Dai D, Ding YH, Danielson MA, Kadirvel R, Hunter LW, Zhan WZ, et al. Endovascular treatment of experimental aneurysms by use of fibroblast-coated platinum coils: an angiographic and histopathologic study. Stroke. 2007;38(1):170-6.
300. Marx WE, Cloft HJ, Helm GA, Short JG, Do HM, Jensen ME, et al. Endovascular treatment of experimental aneurysms by use of biologically modified embolic devices: coil-mediated intraaneurysmal delivery of fibroblast tissue allografts. AJNR Am J Neuroradiol. 2001;22(2):323-33.
301. He T, Smith LA, Harrington S, Nath KA, Caplice NM, Katusic ZS. Transplantation of circulating endothelial progenitor cells restores endothelial function of denuded rabbit carotid arteries. Stroke. 2004;35(10):2378-84.
302. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. N Engl J Med. 2003;348(7):593-600.
303. Zampetaki A, Kirton JP, Xu Q. Vascular repair by endothelial progenitor cells. Cardiovasc Res. 2008;78(3):413-21.
304. Liang C, Feng H, Deng BQ, Li ZF, Huang QH, Zhao W, et al. Decreased levels and function of circulating endothelial progenitor cells in unruptured intracranial saccular aneurysm patients. Neurol Sci. 2014;35(1):23-8.
305. Aronson JP, Mitha AP, Hoh BL, Auluck PK, Pomerantseva I, Vacanti JP, et al. A novel tissue engineering approach using an endothelial progenitor cell-seeded biopolymer to treat intracranial saccular aneurysms. J Neurosurg. 2012;117(3):546-54.
306. Fang X, Zhao R, Wang K, Li Z, Yang P, Huang Q, et al. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells are involved in aneurysm repair in rabbits. J Clin Neurosci. 2012;19(9):1283-6.
307. da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. J Cell Sci. 2006;119(Pt 11):2204-13.
308. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. Stem Cells. 2007;25(11):2739-49.
309. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. Blood. 2007;110(10):3499-506.
310. Nasef A, Ashammakhi N, Fouillard L. Immunomodulatory effect of mesenchymal stromal cells: possible mechanisms. Regen Med. 2008;3(4):531-46.
311. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. Blood. 2005;105(4):1815-22.
312. Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Götherström C, Hassan M, Uzunel M, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. Lancet. 2004;363(9419):1439-41.
313. Adibi A, Eesa M, Wong JH, Sen A, Mitha AP. Combined endovascular coiling and intra-aneurysmal allogeneic mesenchymal stromal cell therapy for intracranial aneurysms in a rabbit model: a proof-of-concept study. J Neurointerv Surg. 2017;9(7):707-12.
314. Kuwabara A, Liu J, Kamio Y, Liu A, Lawton MT, Lee JW, et al. Protective Effect of Mesenchymal Stem Cells Against the Development of Intracranial Aneurysm Rupture in Mice. Neurosurgery. 2017;81(6):1021-8.
315. Rouchaud A, Journe C, Louedec L, Ollivier V, Derkaoui M, Michel JB, et al. Autologous mesenchymal stem cell endografting in experimental cerebrovascular aneurysms. Neuroradiology. 2013;55(6):741-9.
316. Rouchaud A, Brinjikji W, Dai D, Ding YH, Gunderson T, Schroeder D, et al. Autologous adipose-derived mesenchymal stem cells improve healing of coiled experimental

saccular aneurysms: an angiographic and histopathological study. J Neurointerv Surg. 2018;10(1):60-5.
317. Johnson JL, Dwivedi A, Somerville M, George SJ, Newby AC. Matrix metalloproteinase (MMP)-3 activates MMP-9 mediated vascular smooth muscle cell migration and neointima formation in mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011;31(9):e35-44.
318. Gaetani P, Rodriguez y Baena R, Tartara F, Messina AL, Tancioni F, Schiavo R, et al. Metalloproteases and intracranial vascular lesions. Neurol Res. 1999;21(4):385-90.
319. Rojas HA, Fernandes K, Ottone MR, Magalhaes K, Albuquerque LAF, Pereira JLB, et al. Levels of MMP-9 in patients with intracranial aneurysm: Relation with risk factors, size and clinical presentation. Clin Biochem. 2018;55:63-8.
320. Katsuda S, Okada Y, Okada Y, Imai K, Nakanishi I. Matrix metalloproteinase-9 (92-kd gelatinase/type IV collagenase equals gelatinase B) can degrade arterial elastin. Am J Pathol. 1994;145(5):1208-18.
321. Vucevic D, Maravic-Stojkovic V, Vasilijic S, Borovic-Labudovic M, Majstorovic I, Radak D, et al. Inverse production of IL-6 and IL-10 by abdominal aortic aneurysm explant tissues in culture. Cardiovasc Pathol. 2012;21(6):482-9.
322. Chen J, Yang L, Chen Y, Zhang G, Fan Z. Controlled release of osteopontin and interleukin-10 from modified endovascular coil promote cerebral aneurysm healing. J Neurol Sci. 2016;360:13-7.
323. Lu Z, Wang Q, Chen C, Gao Y, He J, Liu W, et al. Overexpression of Angiopoietin-1 Potentiates Endothelial Progenitor Cells for the Treatment of Aneurysm. Ann Vasc Surg. 2018;48:214-21.
324. Wang Q, Gao Y, Sun X, Ji B, Cui X, Liu Y, et al. Acceleration of aneurysm healing by P(DLLA-co-TMC)-coated coils enabling the controlled release of vascular endothelial growth factor. Biomed Mater. 2014;9(4):045004.
325. Abrahams JM, Forman MS, Grady MS, Diamond SL. Delivery of human vascular endothelial growth factor with platinum coils enhances wall thickening and coil impregnation in a rat aneurysm model. AJNR Am J Neuroradiol. 2001;22(7):1410-7.
326. Hourani S, Motwani K, Wajima D, Fazal H, Jones CH, Doré S, et al. Local Delivery Is Critical for Monocyte Chemotactic Protein-1 Mediated Site-Specific Murine Aneurysm Healing. Front Neurol. 2018;9:158.
327. Ohyama T, Nishide T, Iwata H, Sato H, Toda M, Taki W. Vascular endothelial growth factor immobilized on platinum microcoils for the treatment of intracranial aneurysms: experimental rat model study. Neurol Med Chir (Tokyo). 2004;44(6):279-85; discussion 86-7.
328. Di Blasio AM, Carniti C, Vigano P, Vignali M. Basic fibroblast growth factor and ovarian cancer. J Steroid Biochem Mol Biol. 1995;53(1-6):375-9.
329. Matsumoto H, Terada T, Tsuura M, Itakura T, Ogawa A. Basic fibroblast growth factor released from a platinum coil with a polyvinyl alcohol core enhances cellular proliferation and vascular wall thickness: an in vitro and in vivo study. Neurosurgery. 2003;53(2):402-7; discussion 7-8.
330. Ohyama T, Nishide T, Iwata H, Sato H, Toda M, Toma N, et al. Immobilization of basic fibroblast growth factor on a platinum microcoil to enhance tissue organization in intracranial aneurysms. J Neurosurg. 2005;102(1):109-15.
331. Tsumoto T, Matsumoto H, Terada T, Tsuura M, Itakura T, Hamamoto T. A polyvinyl alcohol core coil containing basic fibroblast growth factor evaluated in rabbits with aneurysms induced by elastase. Neurosurgery. 2007;61(1):160-6; discussion 6.
332. Dobashi H, Akasaki Y, Yuki I, Arai T, Ohashi H, Murayama Y, et al. Thermoreversible gelation polymer as an embolic material for aneurysm treatment: a delivery

device for dermal fibroblasts and basic fibroblast growing factor into experimental aneurysms in rats. J Neurointerv Surg. 2013;5(6):586-90.
333. Jiao L, Jiang M, Fang J, Deng Y, Chen Z, Wu M. Basic fibroblast growth factor gene transfection in repair of internal carotid artery aneurysm wall. Neural Regen Res. 2012;7(36):2915-21.
334. Kawakami O, Miyamoto S, Hatano T, Yamada K, Hashimoto N, Tabata Y. Acceleration of aneurysm healing by hollow fiber enabling the controlled release of basic fibroblast growth factor. Neurosurgery. 2006;58(2):355-64; discussion -64.
335. Desfaits AC, Raymond J, Muizelaar JP. Growth factors stimulate neointimal cells in vitro and increase the thickness of the neointima formed at the neck of porcine aneurysms treated by embolization. Stroke. 2000;31(2):498-507.
336. Raymond J, Metcalfe A, Desfaits AC, Ribourtout E, Salazkin I, Gilmartin K, et al. Alginate for endovascular treatment of aneurysms and local growth factor delivery. AJNR Am J Neuroradiol. 2003;24(6):1214-21.
337. de Gast AN, Altes TA, Marx WF, Do HM, Helm GA, Kallmes DF. Transforming growth factor beta-coated platinum coils for endovascular treatment of aneurysms: an animal study. Neurosurgery. 2001;49(3):690-4; discussion 4-6.
338. Sano H, Toda M, Sugihara T, Uchiyama N, Hamada J, Iwata H. Coils coated with the cyclic peptide SEK-1005 accelerate intra-aneurysmal organization. Neurosurgery. 2010;67(4):984-91; discussion 92.
339. Toma N, Imanaka-Yoshida K, Takeuchi T, Matsushima S, Iwata H, Yoshida T, et al. Tenascin-C-coated platinum coils for acceleration of organization of cavities and reduction of lumen size in a rat aneurysm model. J Neurosurg. 2005;103(4):681-6.
340. Hamada K, Miura Y, Toma N, Miyamoto K, Imanaka-Yoshida K, Matsushima S, et al. Gellan sulfate core platinum coil with tenascin-C promotes intra-aneurysmal organization in rats. Transl Stroke Res. 2014;5(5):595-603.
341. Miura Y, Tanemura H, Fujimoto M, Hamada K, Miyamoto K, Toma N, et al. Aneurysm Organization Effects of Gellan Sulfate Core Platinum Coil with Tenascin-C in a Simulated Clinical Setting and the Possible Mechanism. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2016;25(4):771-80.
342. Gao Y, Wang Q, Cui X, Liu Y, Zheng T, Chen C, et al. Controlled release of stromal cell-derived factor-1alpha from silk fibroin-coated coils accelerates intra-aneurysmal organization and occlusion of neck remnant by recruiting endothelial progenitor cells. Int J Clin Exp Pathol. 2014;7(12):8366-80.
343. Biehl P, Von der Lühe M, Dutz S, Schacher FH. Synthesis, Characterization, and Applications of Magnetic Nanoparticles Featuring Polyzwitterionic Coatings. Polymers (Basel). 2018;10(1).
344. McBain SC, Yiu HH, Dobson J. Magnetic nanoparticles for gene and drug delivery. Int J Nanomedicine. 2008;3(2):169-80.
345. Oechtering J, Kirkpatrick PJ, Ludolph AG, Hans FJ, Sellhaus B, Spiegelberg A, et al. Magnetic microparticles for endovascular aneurysm treatment: in vitro and in vivo experimental results. Neurosurgery. 2011;68(5):1388-97; discussion 97-8.
346. Kunkel R, Laurence D, Wang J, Robinson D, Scherrer J, Wu Y, et al. Synthesis and characterization of bio-compatible shape memory polymers with potential applications to endovascular embolization of intracranial aneurysms. J Mech Behav Biomed Mater. 2018;88:422-30.
347. Herting SM, Ding Y, Boyle AJ, Dai D, Nash LD, Asnafi S, et al. In vivo comparison of shape memory polymer foam-coated and bare metal coils for aneurysm occlusion in the rabbit elastase model. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2019;107(8):2466-75.

348. Rodriguez JN, Miller MW, Boyle A, Horn J, Yang CK, Wilson TS, et al. Reticulation of low density shape memory polymer foam with an in vivo demonstration of vascular occlusion. J Mech Behav Biomed Mater. 2014;40:102-14.
349. Metcalfe A, Desfaits AC, Salazkin I, Yahia L, Sokolowski WM, Raymond J. Cold hibernated elastic memory foams for endovascular interventions. Biomaterials. 2003;24(3):491-7.
350. Singhal P, Rodriguez JN, Small W, Eagleston S, Van de Water J, Maitland DJ, et al. Ultra Low Density and Highly Crosslinked Biocompatible Shape Memory Polyurethane Foams. J Polym Sci B Polym Phys. 2012;50(10):724-37.
351. Rodriguez JN, Clubb FJ, Wilson TS, Miller MW, Fossum TW, Hartman J, et al. In vivo response to an implanted shape memory polyurethane foam in a porcine aneurysm model. J Biomed Mater Res A. 2014;102(5):1231-42.
352. Monroe MBB, Easley AD, Grant K, Fletcher GK, Boyer C, Maitland DJ. Multifunctional Shape-Memory Polymer Foams with Bio-inspired Antimicrobials. Chemphyschem. 2018;19(16):1999-2008.
353. Rodriguez JN, Yu YJ, Miller MW, Wilson TS, Hartman J, Clubb FJ, et al. Opacification of shape memory polymer foam designed for treatment of intracranial aneurysms. Ann Biomed Eng. 2012;40(4):883-97.
354. Courtney Y Wang JH, Rahul A Sheth and Rahmi Oklu3,4. Emerging embolic agents in endovascular embolization: an overview. Progress in Biomedical Engineering. 2020;Volume 2, Number 1.
355. Moftakhar R, Xu F, Aagaard-Kienitz B, Consigny DW, Grinde JR, Hart K, et al. Preliminary in vivo evaluation of a novel intrasaccular cerebral aneurysm occlusion device. J Neurointerv Surg. 2015;7(8):584-90.
356. Strange F, Gruter BE, Fandino J, Marbacher S. Preclinical Intracranial Aneurysm Models: A Systematic Review. Brain Sci. 2020;10(3).
357. Herrmann AM, Meckel S, Gounis MJ, Kringe L, Motschall E, Mülling C, et al. Large animals in neurointerventional research: A systematic review on models, techniques and their application in endovascular procedures for stroke, aneurysms and vascular malformations. J Cereb Blood Flow Metab. 2019;39(3):375-94.
358. Thompson JW, Elwardany O, McCarthy DJ, Sheinberg DL, Alvarez CM, Nada A, et al. In vivo cerebral aneurysm models. Neurosurg Focus. 2019;47(1):E20.
359. Lee D, Yuki I, Murayama Y, Chiang A, Nishimura I, Vinters HV, et al. Thrombus organization and healing in the swine experimental aneurysm model. Part I. A histological and molecular analysis. J Neurosurg. 2007;107(1):94-108.
360. Guglielmi G, Ji C, Massoud TF, Kurata A, Lownie SP, Viñuela F, et al. Experimental saccular aneurysms. II. A new model in swine. Neuroradiology. 1994;36(7):547-50.
361. Cloft HJ, Altes TA, Marx WF, Raible RJ, Hudson SB, Helm GA, et al. Endovascular creation of an in vivo bifurcation aneurysm model in rabbits. Radiology. 1999;213(1):223-8.
362. Altes TA, Cloft HJ, Short JG, DeGast A, Do HM, Helm GA, et al. 1999 ARRS Executive Council Award. Creation of saccular aneurysms in the rabbit: a model suitable for testing endovascular devices. American Roentgen Ray Society. AJR Am J Roentgenol. 2000;174(2):349-54.
363. Krings T, Möller-Hartmann W, Hans FJ, Thiex R, Brunn A, Scherer K, et al. A refined method for creating saccular aneurysms in the rabbit. Neuroradiology. 2003;45(7):423-9.
364. Kang W, Connor J, Yan X, Neely B, Carney E, Ellwanger J, et al. A modified technique improved histology similarity to human intracranial aneurysm in rabbit aneurysm model. Neuroradiol J. 2010;23(5):616-21.

365. Siller-Matula JM, Plasenzotti R, Spiel A, Quehenberger P, Jilma B. Interspecies differences in coagulation profile. Thromb Haemost. 2008;100(3):397-404.
366. Lechner R, Helm M, Müller M, Wille T, Riesner HJ, Friemert B. In-vitro study of species-specific coagulation differences in animals and humans using rotational thromboelastometry (ROTEM). J R Army Med Corps. 2019;165(5):356-9.
367. Wang S, Dai D, Kolumam Parameswaran P, Kadirvel R, Ding YH, Robertson AM, et al. Rabbit aneurysm models mimic histologic wall types identified in human intracranial aneurysms. J Neurointerv Surg. 2018;10(4):411-5.
368. Short JG, Fujiwara NH, Marx WF, Helm GA, Cloft HJ, Kallmes DF. Elastase-induced saccular aneurysms in rabbits: comparison of geometric features with those of human aneurysms. AJNR Am J Neuroradiol. 2001;22(10):1833-7.
369. Ding YH, Dai D, Lewis DA, Danielson MA, Kadirvel R, Cloft HJ, et al. Long-term patency of elastase-induced aneurysm model in rabbits. AJNR Am J Neuroradiol. 2006;27(1):139-41.
370. Brinjikji W, Ding YH, Kallmes DF, Kadirvel R. From bench to bedside: utility of the rabbit elastase aneurysm model in preclinical studies of intracranial aneurysm treatment. J Neurointerv Surg. 2016;8(5):521-5.
371. Thiex R, Hans FJ, Krings T, Möller-Hartmann W, Brunn A, Scherer K, et al. Haemorrhagic tracheal necrosis as a lethal complication of an aneurysm model in rabbits via endoluminal incubation with elastase. Acta Neurochir (Wien). 2004;146(3):285-9; discussion 9.
372. Möller-Hartmann W, Krings T, Stein KP, Dreeskamp A, Meetz A, Thiex R, et al. Aberrant origin of the superior thyroid artery and the tracheoesophageal branch from the common carotid artery: a source of failure in elastase-induced aneurysms in rabbits. AJR Am J Roentgenol. 2003;181(3):739-41.
373. Lewis DA, Ding YH, Dai D, Kadirvel R, Danielson MA, Cloft HJ, et al. Morbidity and mortality associated with creation of elastase-induced saccular aneurysms in a rabbit model. AJNR Am J Neuroradiol. 2009;30(1):91-4.
374. Villano JS, Boehm CA, Carney EL, Cooper TK. Complications of elastase-induced arterial saccular aneurysm in rabbits: case reports and literature review. Comp Med. 2012;62(6):480-6.
375. Wang K, Yuan S. Elastase-induced rabbit aneurysms model complicated by thoracic aortic aneurysms. AJNR Am J Neuroradiol. 2012;33(5):E76-7.
376. Cesar L, Miskolczi L, Lieber BB, Sadasivan C, Gounis MJ, Wakhloo AK. Neurological deficits associated with the elastase-induced aneurysm model in rabbits. Neurol Res. 2009;31(4):414-9.
377. Deniaud-Bouët E, Hardouin K, Potin P, Kloareg B, Hervé C. A review about brown algal cell walls and fucose-containing sulfated polysaccharides: Cell wall context, biomedical properties and key research challenges. Carbohydr Polym. 2017;175:395-408.
378. Ruocco N, Costantini S, Guariniello S, Costantini M. Polysaccharides from the Marine Environment with Pharmacological, Cosmeceutical and Nutraceutical Potential. Molecules. 2016;21(5).
379. de Jesus Raposo MF, de Morais AM, de Morais RM. Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. Mar Drugs. 2015;13(5):2967-3028.
380. Li J, Cai C, Yang C, Li J, Sun T, Yu G. Recent Advances in Pharmaceutical Potential of Brown Algal Polysaccharides and their Derivatives. Curr Pharm Des. 2019;25(11):1290-311.
381. Lim SJ, Wan Aida WM. Chapter 3- Extraction of Sulfated Polysaccharides (Fucoidan) From Brown Seaweed. Seaweed Polysaccharides. 2017:27-46.

382. Wang Y, Xing M, Cao Q, Ji A, Liang H, Song S. Biological Activities of Fucoidan and the Factors Mediating Its Therapeutic Effects: A Review of Recent Studies. Mar Drugs. 2019;17(3).
383. Kopplin G, Rokstad AM, Mélida H, Bulone V, Skjåk-Bræk G, Aachmann FL. Structural Characterization of Fucoidan from Laminaria hyperborea: Assessment of Coagulation and Inflammatory Properties and Their Structure–Function Relationship. ACS Applied Bio Materials. 2018;1:1880-92.
384. Zayed A, El-Aasr M, Ibrahim AS, Ulber R. Fucoidan Characterization: Determination of Purity and Physicochemical and Chemical Properties. Mar Drugs. 2020;18(11).
385. Borazjani NJ, Tabarsa M, You S, Rezaei M. Improved immunomodulatory and antioxidant properties of unrefined fucoidans from Sargassum angustifolium by hydrolysis. J Food Sci Technol. 2017;54(12):4016-25.
386. Palanisamy S, Vinosha M, Marudhupandi T, Rajasekar P, Prabhu NM. Isolation of fucoidan from Sargassum polycystum brown algae: Structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity. Int J Biol Macromol. 2017;102:405-12.
387. Ale MT, Mikkelsen JD, Meyer AS. Important determinants for fucoidan bioactivity: a critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. Mar Drugs. 2011;9(10):2106-30.
388. Wang CY, Wu TC, Hsieh SL, Tsai YH, Yeh CW, Huang CY. Antioxidant activity and growth inhibition of human colon cancer cells by crude and purified fucoidan preparations extracted from Sargassum cristaefolium. J Food Drug Anal. 2015;23(4):766-77.
389. Hahn T, Lang S, Ulber R, Muffler K. Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae. Process Biochemistry. 2012;47(12):1691-8.
390. Imbs TI, Skriptsova AV, Zvyagintseva TN. Antioxidant activity of fucose-containing sulfated polysaccharides obtained from Fucus evanescens by different extraction methods. J Appl Phycol 2015;27: 545–53.
391. Fletcher HR, Biller P, Ross AB, Adams JMM. The seasonal variation of fucoidan within three species of brown macroalgae. Algal Research. 2017;Volume 22:79-86.
392. Skriptsova AV SN, Zvyagintseva TN,. Monthly changes in the content and monosaccharide composition of fucoidan from Undaria pinnatifida (Laminariales, Phaeo-phyta). J Appl Phycol. 2010;22:79-86.
393. van Weelden G, Bobiński M, Okła K, van Weelden WJ, Romano A, Pijnenborg JMA. Fucoidan Structure and Activity in Relation to Anti-Cancer Mechanisms. Mar Drugs. 2019;17(1).
394. Zayed A, Muffler K, Hahn T, Rupp S, Finkelmeier D, Burger-Kentischer A, et al. Physicochemical and Biological Characterization of Fucoidan from Fucus vesiculosus Purified by Dye Affinity Chromatography. 2016.
395. Ustyuzhanina NE, Ushakova NA, Zyuzina KA, Bilan MI, Elizarova AL, Somonova OV, et al. Influence of fucoidans on hemostatic system. Mar Drugs. 2013;11(7):2444-58.
396. Lu J, Shi KK, Chen S, Wang J, Hassouna A, White LN, et al. Fucoidan Extracted from the New Zealand Undaria pinnatifida-Physicochemical Comparison against Five Other Fucoidans: Unique Low Molecular Weight Fraction Bioactivity in Breast Cancer Cell Lines. Mar Drugs. 2018;16(12).
397. Chen MC, Hsu WL, Hwang PA, Chou TC. Low Molecular Weight Fucoidan Inhibits Tumor Angiogenesis through Downregulation of HIF-1/VEGF Signaling under Hypoxia. Mar Drugs. 2015;13(7):4436-51.
398. Bouvard C, Galy-Fauroux I, Grelac F, Carpentier W, Lokajczyk A, Gandrille S, et al. Low-Molecular-Weight Fucoidan Induces Endothelial Cell Migration via the PI3K/AKT Pathway and Modulates the Transcription of Genes Involved in Angiogenesis. Mar Drugs. 2015;13(12):7446-62.

399. Morya VK, Kim J, Kim E-K. Algal fucoidan: structural and size-dependent bioactivities and their perspectives. Appl Microbiol Biotechnol 2012;93:71-82.
400. Haroun-Bouhedja F, Ellouali M, Sinquin C, Boisson-Vidal C. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans. Thromb Res. 2000;100(5):453-9.
401. Lim SJ, Wan Aida WM, Maskat MY, Latip J, Badri KH, Hassan O, et al. Characterisation of fucoidan extracted from Malaysian Sargassum binderi
. Food Chemistry. 2016;209:267-73.
402. Bilan MI, Grachev AA, Ustuzhanina NE, Shashkov AS, Nifantiev NE, Usov AI. A highly regular fraction of a fucoidan from the brown seaweed Fucus distichus L. Carbohydrate Research. 2004;339(3):511-7.
403. Chevolot L, Foucault A, Chaubet F, Kervarec N, Sinquin C, Fisher AM, et al. Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. Carbohydr Res. 1999;319(1-4):154-65.
404. Wang J, Zhang Q, Zhang Z, Song H, Li P. Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from Laminaria japonica. Int J Biol Macromol. 2010;46(1):6-12.
405. Mandal P, Mateu CG, Chattopadhyay K, Pujol CA, Damonte EB, Ray B. Structural features and antiviral activity of sulphated fucans from the brown seaweed Cystoseira indica. Antivir Chem Chemother. 2007;18(3):153-62.
406. Chevolot L, Mulloy B, Ratiskol J, Foucault A, Colliec-Jouault S. A disaccharide repeat unit is the major structure in fucoidans from two species of brown algae. Carbohydrate Research. 2001;330(4):529-35
.
407. Wei X, Cai L, Liu H, Tu H, Xu X, Zhou F, et al. Chain conformation and biological activities of hyperbranched fucoidan derived from brown algae and its desulfated derivative. Carbohydrate Polymers. 2019;208:86-96.
408. Cho ML, Lee BY, You SG. Relationship between oversulfation and conformation of low and high molecular weight fucoidans and evaluation of their in vitro anticancer activity. Molecules. 2010;16(1):291-7.
409. Ma XT, Sun XY, Yu K, Gui BS, Gui Q, Ouyang JM. Effect of Content of Sulfate Groups in Seaweed Polysaccharides on Antioxidant Activity and Repair Effect of Subcellular Organelles in Injured HK-2 Cells. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:2542950.
410. Oliveira C, Ferreira AS, Novoa-Carballal R, Nunes C, Pashkuleva I, Neves NM, et al. The Key Role of Sulfation and Branching on Fucoidan Antitumor Activity. Macromol Biosci. 2017;17(5).
411. Holtkamp AD, Kelly S, Ulber R, Lang S. Fucoidans and fucoidanases--focus on techniques for molecular structure elucidation and modification of marine polysaccharides. Appl Microbiol Biotechnol. 2009;82(1):1-11.
412. Pomin VH. Fucanomics and galactanomics: current status in drug discovery, mechanisms of action and role of the well-defined structures. Biochim Biophys Acta. 2012;1820(12):1971-9.
413. Hwang PA, Yan MD, Lin HT, Li KL, Lin YC. Toxicological Evaluation of Low Molecular Weight Fucoidan in Vitro and in Vivo. Mar Drugs. 2016;14(7).
414. Chollet L, Saboural P, Chauvierre C, Villemin JN, Letourneur D, Chaubet F. Fucoidans in Nanomedicine. Mar Drugs. 2016;14(8).
415. Cunha L, Grenha A. Sulfated Seaweed Polysaccharides as Multifunctional Materials in Drug Delivery Applications. Mar Drugs. 2016;14(3).
416. Tsai LC, Chen CH, Lin CW, Ho YC, Mi FL. Development of mutlifunctional nanoparticles self-assembled from trimethyl chitosan and fucoidan for enhanced oral delivery of insulin. Int J Biol Macromol. 2019;126:141-50.

417. Lin Y, Qi X, Liu H, Xue K, Xu S, Tian Z. The anti-cancer effects of fucoidan: a review of both in vivo and in vitro investigations. Cancer Cell Int. 2020;20:154.
418. Apostolova E, Lukova P, Baldzhieva A, Katsarov P, Nikolova M, Iliev I, et al. Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Effects of Fucoidan: A Review. Polymers (Basel). 2020;12(10).
419. Zhang Z, Till S, Knappe S, Quinn C, Catarello J, Ray GJ, et al. Screening of complex fucoidans from four brown algae species as procoagulant agents. Carbohydr Polym. 2015;115:677-85.
420. Park HY, Han MH, Park C, Jin CY, Kim GY, Choi IW, et al. Anti-inflammatory effects of fucoidan through inhibition of NF-κB, MAPK and Akt activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells. Food Chem Toxicol. 2011;49(8):1745-52.
421. Prokofjeva MM, Imbs TI, Shevchenko NM, Spirin PV, Horn S, Fehse B, et al. Fucoidans as potential inhibitors of HIV-1. Mar Drugs. 2013;11(8):3000-14.
422. Atashrazm F, Lowenthal RM, Woods GM, Holloway AF, Dickinson JL. Fucoidan and cancer: a multifunctional molecule with anti-tumor potential. Mar Drugs. 2015;13(4):2327-46.
423. Pozharitskaya ON, Shikov AN, Obluchinskaya ED, Vuorela H. The Pharmacokinetics of Fucoidan after Topical Application to Rats. Mar Drugs. 2019;17(12).
424. Che N, Ma Y, Xin Y. Protective Role of Fucoidan in Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury through Inhibition of MAPK Signaling Pathway. Biomol Ther (Seoul). 2017;25(3):272-8.
425. Wang L, Oh JY, Lee W, Jeon YJ. Fucoidan isolated from Hizikia fusiforme suppresses ultraviolet B-induced photodamage by down-regulating the expressions of matrix metalloproteinases and pro-inflammatory cytokines via inhibiting NF-κB, AP-1, and MAPK signaling pathways. Int J Biol Macromol. 2021;166:751-9.
426. Park JH, Choi SH, Park SJ, Lee YJ, Park JH, Song PH, et al. Promoting Wound Healing Using Low Molecular Weight Fucoidan in a Full-Thickness Dermal Excision Rat Model. Mar Drugs. 2017;15(4).
427. Thorlacius H, Vollmar B, Seyfert UT, Vestweber D, Menger MD. The polysaccharide fucoidan inhibits microvascular thrombus formation independently from P- and L-selectin function in vivo. Eur J Clin Invest. 2000;30(9):804-10.
428. Bachelet L, Bertholon I, Lavigne D, Vassy R, Jandrot-Perrus M, Chaubet F, et al. Affinity of low molecular weight fucoidan for P-selectin triggers its binding to activated human platelets. Biochim Biophys Acta. 2009;1790(2):141-6.
429. Choi EM, Kim AJ, Kim YO, Hwang JK. Immunomodulating activity of arabinogalactan and fucoidan in vitro. J Med Food. 2005;8(4):446-53.
430. Jang JY, Moon SY, Joo HG. Differential effects of fucoidans with low and high molecular weight on the viability and function of spleen cells. Food Chem Toxicol. 2014;68:234-8.
431. Zhang W, Oda T, Yu Q, Jin JO. Fucoidan from Macrocystis pyrifera has powerful immune-modulatory effects compared to three other fucoidans. Mar Drugs. 2015;13(3):1084-104.
432. Capila I, Linhardt RJ. Heparin-protein interactions. Angew Chem Int Ed Engl. 2002;41(3):391-412.
433. Fitton JH. Therapies from fucoidan; multifunctional marine polymers. Mar Drugs. 2011;9(10):1731-60.
434. Senthilkumar K, Manivasagan P, Venkatesan J, Kim SK. Brown seaweed fucoidan: biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. Int J Biol Macromol. 2013;60:366-74.

435. Lake AC, Vassy R, Di Benedetto M, Lavigne D, Le Visage C, Perret GY, et al. Low molecular weight fucoidan increases VEGF165-induced endothelial cell migration by enhancing VEGF165 binding to VEGFR-2 and NRP1. J Biol Chem. 2006;281(49):37844-52.
436. Ishihara M, Shaklee PN, Yang Z, Liang W, Wei Z, Stack RJ, et al. Structural features in heparin which modulate specific biological activities mediated by basic fibroblast growth factor. Glycobiology. 1994;4(4):451-8.
437. Hlawaty H, Suffee N, Sutton A, Oudar O, Haddad O, Ollivier V, et al. Low molecular weight fucoidan prevents intimal hyperplasia in rat injured thoracic aorta through the modulation of matrix metalloproteinase-2 expression. Biochem Pharmacol. 2011;81(2):233-43.
438. Boisson-Vidal C, Zemani F, Caligiuri G, Galy-Fauroux I, Colliec-Jouault S, Helley D, et al. Neoangiogenesis induced by progenitor endothelial cells: effect of fucoidan from marine algae. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem. 2007;5(1):67-77.
439. Grunewald M, Avraham I, Dor Y, Bachar-Lustig E, Itin A, Jung S, et al. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. Cell. 2006;124(1):175-89.
440. Marinval N, Sabboural P, Haddad O, Maire M, Bassand K, Geinguenaud F, et al. Identification of a Pro-Angiogenic Potential and Cellular Uptake Mechanism of a LMW Highly Sulfated Fraction of Fucoidan from Ascophyllum nodosum. Mar Drugs. 2016;14(10).
441. Liu F, Wang J, Chang AK, Liu B, Yang L, Li Q, et al. Fucoidan extract derived from Undaria pinnatifida inhibits angiogenesis by human umbilical vein endothelial cells. Phytomedicine. 2012;19(8-9):797-803.
442. Chabut D, Fischer AM, Helley D, Colliec S. Low molecular weight fucoidan promotes FGF-2-induced vascular tube formation by human endothelial cells, with decreased PAI-1 release and ICAM-1 downregulation. Thromb Res. 2004;113(1):93-5.
443. Manzo-Silberman S, Louedec L, Meilhac O, Letourneur D, Michel JB, Elmadbouh I. Therapeutic potential of fucoidan in myocardial ischemia. J Cardiovasc Pharmacol. 2011;58(6):626-32.
444. Elmadbouh I, Haider H, Ashraf M, Chachques JC. Preconditioning of Human Skeletal Myoblast with Stromal Cell-derived Factor-1α Promotes Cytoprotective Effects against Oxidative and Anoxic Stress. Int J Stem Cells. 2011;4(1):50-60.
445. Elmadbouh I, Haider H, Jiang S, Idris NM, Lu G, Ashraf M. Ex vivo delivered stromal cell-derived factor-1alpha promotes stem cell homing and induces angiomyogenesis in the infarcted myocardium. J Mol Cell Cardiol. 2007;42(4):792-803.
446. Lee JH, Yun CW, Hur J, Lee SH. Fucoidan Rescues p-Cresol-Induced Cellular Senescence in Mesenchymal Stem Cells via FAK-Akt-TWIST Axis. Mar Drugs. 2018;16(4).
447. Han YS, Lee JH, Jung JS, Noh H, Baek MJ, Ryu JM, et al. Fucoidan protects mesenchymal stem cells against oxidative stress and enhances vascular regeneration in a murine hindlimb ischemia model. Int J Cardiol. 2015;198:187-95.
448. Sweeney EA, Priestley GV, Nakamoto B, Collins RG, Beaudet AL, Papayannopoulou T. Mobilization of stem/progenitor cells by sulfated polysaccharides does not require selectin presence. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97(12):6544-9.
449. Fermas S, Gonnet F, Sutton A, Charnaux N, Mulloy B, Du Y, et al. Sulfated oligosaccharides (heparin and fucoidan) binding and dimerization of stromal cell-derived factor-1 (SDF-1/CXCL 12) are coupled as evidenced by affinity CE-MS analysis. Glycobiology. 2008;18(12):1054-64.
450. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. Exp Hematol. 2002;30(9):973-81.

451. Frenette PS, Weiss L. Sulfated glycans induce rapid hematopoietic progenitor cell mobilization: evidence for selectin-dependent and independent mechanisms. Blood. 2000;96(7):2460-8.
452. DiGabriele AD, Lax I, Chen DI, Svahn CM, Jaye M, Schlessinger J, et al. Structure of a heparin-linked biologically active dimer of fibroblast growth factor. Nature. 1998;393(6687):812-7.
453. Sperinde GV, Nugent MA. Heparan sulfate proteoglycans control intracellular processing of bFGF in vascular smooth muscle cells. Biochemistry. 1998;37(38):13153-64.
454. Pieper JS, Hafmans T, van Wachem PB, van Luyn MJ, Brouwer LA, Veerkamp JH, et al. Loading of collagen-heparan sulfate matrices with bFGF promotes angiogenesis and tissue generation in rats. J Biomed Mater Res. 2002;62(2):185-94.
455. Losi P, Briganti E, Errico C, Lisella A, Sanguinetti E, Chiellini F, et al. Fibrin-based scaffold incorporating VEGF- and bFGF-loaded nanoparticles stimulates wound healing in diabetic mice. Acta Biomater. 2013;9(8):7814-21.
456. Xie JL, Bian HN, Qi SH, Chen HD, Li HD, Xu YB, et al. Basic fibroblast growth factor (bFGF) alleviates the scar of the rabbit ear model in wound healing. Wound Repair Regen. 2008;16(4):576-81.
457. Huang YC, Yang YT. Effect of basic fibroblast growth factor released from chitosan-fucoidan nanoparticles on neurite extension. J Tissue Eng Regen Med. 2016;10(5):418-27.
458. Huang YC, Liu TJ. Mobilization of mesenchymal stem cells by stromal cell-derived factor-1 released from chitosan/tripolyphosphate/fucoidan nanoparticles. Acta Biomater. 2012;8(3):1048-56.
459. Chabut D, Fischer AM, Colliec-Jouault S, Laurendeau I, Matou S, Le Bonniec B, et al. Low molecular weight fucoidan and heparin enhance the basic fibroblast growth factor-induced tube formation of endothelial cells through heparan sulfate-dependent alpha6 overexpression. Mol Pharmacol. 2003;64(3):696-702.
460. Zeng H-Y, Huang Y-C. Basic fibroblast growth factor released from fucoidan-modified chitosan/alginate scaffolds for promoting fibroblasts migration. J Polym Res. 2018;25.
461. Kim TH, Lee EK, Lee MJ, Kim JH, Yang WS. Fucoidan inhibits activation and receptor binding of transforming growth factor-β1. Biochem Biophys Res Commun. 2013;432(1):163-8.
462. Mascitelli JR, Moyle H, Oermann EK, Polykarpou MF, Patel AA, Doshi AH, et al. An update to the Raymond-Roy Occlusion Classification of intracranial aneurysms treated with coil embolization. J Neurointerv Surg. 2015;7(7):496-502.
463. Bardet SM, Cortese J, Blanc R, Mounayer C, Rouchaud A. Multiphoton microscopy for pre-clinical evaluation of flow-diverter stents for treating aneurysms. J Neuroradiol. 2021;48(3):200-6.
464. Cortese J, Rasser C, Even G, Bardet SM, Choqueux C, Mesnier J, et al. CD31 Mimetic Coating Enhances Flow Diverting Stent Integration into the Arterial Wall Promoting Aneurysm Healing. Stroke. 2021;52(2):677-86.
465. Helmchen F, Denk W. Deep tissue two-photon microscopy. Nat Methods. 2005;2(12):932-40.
466. Borile G, Sandrin D, Filippi A, Anderson KI, Romanato F. Label-Free Multiphoton Microscopy: Much More Than Fancy Images. Int J Mol Sci. 2021;22(5).
467. Patterson GH, Piston DW. Photobleaching in two-photon excitation microscopy. Biophys J. 2000;78(4):2159-62.
468. Weigelin B, Bakker GJ, Friedl P. Third harmonic generation microscopy of cells and tissue organization. J Cell Sci. 2016;129(2):245-55.

469. Chen X, Nadiarynkh O, Plotnikov S, Campagnola PJ. Second harmonic generation microscopy for quantitative analysis of collagen fibrillar structure. Nat Protoc. 2012;7(4):654-69.
470. Dudenkova VV, Shirmanova MV, Lukina MM, Feldshtein FI, Virkin A, Zagainova EV. Examination of Collagen Structure and State by the Second Harmonic Generation Microscopy. Biochemistry (Mosc). 2019;84(Suppl 1):S89-s107.
471. Majamaa K, Myllylä VV. A disorder of collagen biosynthesis in patients with cerebral artery aneurysm. Biochim Biophys Acta. 1993;1225(1):48-52.
472. Jones CI, Payne DA, Hayes PD, Naylor AR, Bell PR, Thompson MM, et al. The antithrombotic effect of dextran-40 in man is due to enhanced fibrinolysis in vivo. J Vasc Surg. 2008;48(3):715-22.
473. Grasset E, Schwartz DE. In vivo and in vitro comparative assays of the anticoagulant activity of dextran sulphate and heparin. Br J Pharmacol Chemother. 1955;10(3):317-20.
474. Miao KH, Guthmiller KB. Dextran. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
475. Zhang Q, Jing L, Liu J, Wang K, Zhang Y, Paliwal N, et al. Predisposing factors for recanalization of cerebral aneurysms after endovascular embolization: a multivariate study. J Neurointerv Surg. 2018;10(3):252-7.
476. Grandhi R, Kottenmeier E, Cameron HL, Kane ST, Taussky P. Influence of neurovascular embolic coil primary wind diameter on aneurysm packing density and case costs. J Med Econ. 2021;24(1):345-51.
477. Chen W, Xing W, He Z, Peng Y, Wang C, Wang Q. Accuracy of 320-detector row nonsubtracted and subtracted volume CT angiography in evaluating small cerebral aneurysms. J Neurosurg. 2017;127(4):725-31.
478. Wehman JC, Hanel RA, Levy EI, Hopkins LN. Giant cerebral aneurysms: endovascular challenges. Neurosurgery. 2006;59(5 Suppl 3):S125-38; discussion S3-13.
479. Ajiboye N, Chalouhi N, Starke RM, Zanaty M, Bell R. Unruptured Cerebral Aneurysms: Evaluation and Management. ScientificWorldJournal. 2015;2015:954954.

19 Annexes

Europäisches Patentamt | European Patent Office | Office européen des brevets

Acknowledgement of receipt

We hereby acknowledge receipt of your request for grant of a European patent as follows:

Submission number	1000502161	
Application number	EP21305573.4	
File No. to be used for priority declarations	EP21305573	
Date of receipt	04 May 2021	
Your reference	BET 21P0945/KYB	
Applicant	INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM)	
Country	FR	
Title	NEW DEVICES FOR USE FOR TREATING CEREBRAL ANEURYSMS	
Documents submitted	package-data.xml	ep-request.xml
	application-body.xml	ep-request.pdf (5 p.)
	SPECEPO-1.pdf\BET 21P0945_Patent application for filing.pdf (21 p.)	SPECEPO-2.pdf\BET 21P0945_Dessins déposés.pdf (4 p.)
Submitted by	CN=Etienne Habasque 15217	
Method of submission	Online	
Date and time receipt generated	04 May 2021, 13:29:32 (CEST)	
Official Digest of Submission	D2:F9:64:C5:1E:DD:0A:59:B0:D6:55:86:01:3C:F5:22:10:83:51:D4	

/INPI, section dépôt/