



HAL
open science

Amélioration des stratégies thérapeutiques dans la pathologie anévrysmale intracânienne

Paul-Emile Labeyrie

► **To cite this version:**

Paul-Emile Labeyrie. Amélioration des stratégies thérapeutiques dans la pathologie anévrysmale intracânienne. Neurobiologie. Normandie Université, 2018. Français. NNT : 2018NORMC404 . tel-01842238

HAL Id: tel-01842238

<https://theses.hal.science/tel-01842238>

Submitted on 18 Jul 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité Aspect moléculaires et cellulaire de la Biologie

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

AMELIORATION DES STRATEGIES THERAPEUTIQUES DANS LA PATHOLOGIE ANEVRYSMALE INTRACRANIENNE

Présentée et soutenue par

Paul-Emile LABEYRIE

Thèse soutenue publiquement le 02 Février 2018

Devant le jury composé de

Mme Marlène WIART	Directeur de recherche, CNRS, Université LYON 1	Rapporteur
Mr Olivier NAGGARA	Professeur des Universités, Université Paris Descartes	Rapporteur
Mr Cyrille ORSET	Maitre de Conférence, HDR, Université Caen Normandie	Directeur de thèse
Mme Carine ALI	Professeur des Universités, Université Caen Normandie	Examinateur
Mr Denis VIVIEN	Professeur des Universités, Université Caen Normandie	Examinateur
Mr Raphaël BLANC	Docteur, Fondation A. de Rothschild, Paris	Examinateur

Thèse dirigée par Mr Cyrille ORSET,

UMR-S INSERM U1237 « Physiopathology and Imaging of Neurological Disorders



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE





« Un robot ne peut nuire à l'Humanité ni laisser sans assistance l'Humanité en danger. »

Loi Zéro de la robotique - Énoncée par le robot R.Daneel Olivaw
Isaac Asimov

REMERCIEMENTS

Merci au Docteur Marlène Wiart de sa disponibilité et d'avoir accepté d'être rapporteur pour ce travail. J'espère que son expertise dans les modèles animaux et les pathologies neurovasculaires aura pu être un point de convergence de nos centres d'intérêts scientifiques, et l'objet d'une critique éclairée.

Merci au Professeur Olivier Naggara de sa disponibilité et d'avoir accepté d'être rapporteur pour ce travail. Nous avons des thématiques de recherches très proches notamment sur l'anévrisme intracrânien. C'est un honneur de pouvoir présenter ce travail devant toi.

Merci au Docteur Cyrille Orset pour avoir dirigé ce travail et pour m'avoir supporté toutes ces années. Une belle aventure qui s'achève, toujours dans un style particulier. La distance géographique pendant ces années de thèse n'effacera pas la proximité qu'on a eu. Merci pour ta patience, on a fait des belles choses ensemble et on a est allé au bout.

Merci au Professeur Carine Ali, d'avoir accepté de participer à mon jury. On n'a jamais travaillé directement ensemble mais tu as toujours été une référence pour moi sur beaucoup d'aspect. J'espère que ce travail sera à la hauteur de ta rigueur scientifique.

Merci au Professeur Denis Vivien, d'avoir accepté de participer à mon jury. Merci de m'avoir accueilli dans ton labo et de m'avoir toujours aidé dans mes projets. Ce que tu as construit avec ton équipe à Cyceron est remarquable car la culture de la liberté en recherche n'a pas de prix.

Merci au Docteur Raphael Blanc d'avoir accepté de participer à mon jury. C'est fut un vrai plaisir de travailler et d'apprendre avec toi. Peut-être que ce travail te donnera des idées pour inventer les thérapies endovasculaire du futur.

Merci à tous ceux qui ont contribué à se travail.

Merci à toute l'équipe SP2U et du CURB pour son accueil et tout ce que j'ai appris. Merci à ceux qui m'ont inspiré, Fabian, Marina, Aurélien, Carine, Yannick, ...

Merci au grand Eric Maubert pour avoir été mon modèle scientifique. Cette fois l'élève ne dépassera pas le maitre, tu es trop fort.

Merci à Clément et Juliette pour m'avoir hébergé chez eux de nombreuses fois quand je venais au labo. Merci pour votre gentillesse. Vous êtes géniaux !

Un grand merci à Stéphanie Deryckere pour son naturel et sa liberté. Pour avoir squatté ton canapé tellement de fois, pour m'avoir remonté le moral en m'écoutant râler pendant des heures. Ça aurait été beaucoup plus difficile sans toi.

Merci à Marie Hébert pour ta camaraderie. Si la science était « games of throne » tu serais « arya stark ».

Merci à Lin pour ta gentillesse et sa bienveillance, j'espère que tu pouponne bien, à très vite.

Merci à Maxime pour ton incroyable vista du monde des sciences et ta disponibilité. Merci à Sara pour ta bonne humeur qui donne de l'espoir.

Merci à Arnaud Chevilly, pour son réalisme et son humilité. Antoine Anfray j'aurais vraiment aimé travaillé avec toi. Camille, Mathilde, Nolwen, Sophie, Richard, Benoit, Jerome, merci pour votre gentillesse.

Merci à tous les Caennais, ça me pince le cœur que nos routes se soient écartées mais je ne serai jamais très loin.

Merci à ma famille, pour leur soutien inconditionnel, pour l'inépuisable source de réjouissance, d'inspiration et de vacarme qu'elle génère.

Sabine, Alban, Arthur, Antonin, Julie.

Hadrien, Diana, Cecilia, Jacques, Lucia.

Marc-Antoine, Céline, Aurèle, Esther, Hector.

Merci à ma petite Baba.

Abraham j'espère que tu seras fier de nous. C'est pour toi aussi que je l'ai fait.

Merci à Serengeti-Mekong pour sa sérénité relative, et Malta sa relative affection.

Merci à tous les scientifiques et universitaires de ma famille qui m'ont sans aucun doute guidé vers ce projet : Jean Humbert, Françoise Labeyrie, Jacques Labeyrie, Michel Humbert...

Merci à mes ancêtres de m'avoir transmis la ténacité.

Merci à mes internes pendant ces trois ans, Laurène Chevallier, Nicolas Magand, Ana Gjorgjievska, Flavia Grangeon, Vincent Durous, Mehdi Beyragued, Thibault Garrivier, Badis Menassel. Ce fut une grande fierté d'essayer de vous intéresser aux problématiques des anévrysmes intracrâniens.

Merci et pardon à toutes les souris qui ont participées à cette étude.

- « - Qu'est-ce que tu viens de tirer de cette poche ?
- Y'a rien dans ma poche, dit Lennie avec astuce.
- Je l'sais bien. Tu l'as dans ta main. Qu'est-ce que t'as dans la main, que tu caches ?
- J'ai rien Georges. Bien vrai.
- Allons donne moi-ca.

Lennie tenait sa main fermée aussi loin que possible de George.

- C'est rien qu'une souris George
- Une souris ? une souris vivante ?
- Euh ... Rien qu'une souris morte, Georges. Je l'ai pas tué. Vrai ! J'l'ai trouvé. J'l'ai trouvé morte. »

Des souris et des Hommes
John Steinbeck

Merci à tous mes amis proches d'ici et d'ailleurs, qui savent qui je suis.

Merci à tous les gens que j'aime.

« La Montagne Froide est une maison ; sans murs, sans toit, sans chevron ; ses six portes sans cesses ouvertes de plain-pied sur le ciel bleu, ses chambres vides dans l'espace, l'est est à l'ouest et l'ouest est à l'est, au centre même il n'y a rien. Vous emprunteurs passez au large ; Quand j'ai très froid je fais mon feu ; quand j'ai très faim je cuis des herbes »

Les clochards Célestes – d'après Han Shan
Jack Kerouac

A Anne-Laure

Je n'y serais jamais arrivé sans toi. Tu me portes et m'animes.

« I'am not a smart man but I know what love is »

Forest Gump
Winston Groom

Je dédie cette thèse à ma mère Helene Labeyrie *,

Merci d'avoir toujours eu confiance en moi malgré tout ce qu'on disait.

« ἀνέχου καὶ ἀπέχου »

Epictète

* cette thèse et l'ensemble de mon cursus scolaire et universitaire

« La longue attente prenait fin. Sur un monde nouveau, l'intelligence était née et allait abandonner son berceau planétaire. Une expérience, entreprise une éternité plus tôt, serait bientôt couronnée de succès.

Ceux qui avaient conçu cette expérience, jadis, n'étaient pas des hommes, et même ils n'avaient rien d'humain. Mais ils étaient faits de chair et de sang ; et quand ils avaient contemplé les profondeurs de l'espace, ils avaient connu eux aussi la crainte, l'émerveillement, la solitude.

Dès qu'ils en avaient été capable, ils s'étaient élancés vers les étoiles. Ces explorations leur permirent de rencontrer de nombreuses formes de vie ; d'observer le travail de l'évolution sur des milliers de mondes. De voir aussi que, le plus souvent, les premières étincelles de l'intelligence vacillaient et mourrait dans la nuit de l'espace.

Et comme dans toute la galaxie, ils n'avaient rien trouvé de plus précieux que l'esprit, ils favorisèrent en tout lieu son apparition.

Ils devinrent les fermiers des prairies étoilées. Ils semèrent, parfois ils récoltèrent. Et de temps en temps, sans passion, ils devaient arracher les mauvaises herbes. »

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS.....	4
SOMMAIRE	12
LISTE DES ABBREVIATIONS	16
INTRODUCTION.....	17
I - L'ANEVRYSME INTRACRANIEN ET LA PATHOLOGIE ANEVRYSMALE	17
1 - L'anévrisme intracrânien : un phénomène morphologique complexe	17
1.1 - Définition morphologique	17
1.1.1 - ανευρυσμα	17
1.1.2 - La paroi de l'artère normale	18
1.2 - Les anévrysmes intracrâniens	19
1.3 - Particularités des artères cérébrales	20
1.4 - L'anévrisme intracrânien « vrai »	20
1.4.1 - Définition du concept	20
1.4.2 - Caractéristiques d'un AIC	21
2 - Les trois phases de l'histoire naturelle de l'AIC.....	22
2.1 - Formation des AIC	22
2.2 - Croissance des AIC	23
2.3 - Déstabilisation et rupture des AIC.....	24
3 - Les trois états d'un AIC	25
3.1 - L'AIC non rompu	25
3.2 - L'AIC symptomatique et/ou fissuré	25
3.3 - L'AIC rompu.....	26
4 - L'hémorragie sous arachnoïdienne par rupture d'AIC	27
4.1 - L'hémorragie sous arachnoïdienne d'origine anévrysmale	27
4.2 - Incidence et pronostic	28
5 - Prise en charge de l'HSA anévrysmale	30
5.1 - Traitement curatif de l'HSA anévrysmale	30
5.1.1 - Mesures générales.....	30
5.1.2 - Récidive précoce de la rupture anévrysmale.....	30
5.1.3 - Exclusion en urgence des AIC.....	31
5.1.4 - Technique d'exclusion des AIC.....	32
5.1.5 - Choix d'une stratégie d'exclusion	34
5.1.6 - Risques de l'exclusion des AIC	34
5.2 - Traitement préventif de l'HSA anévrysmale	35
5.2.1 - Traitement non invasif préventif de la rupture des AIC	36
5.2.2 - Traitement invasif préventif	36
5.2.3 - Gestion conservatrice des AIC	37
5.2.4 - Impact psychologique des patients porteurs d'AIC non rompus	38
II - MECANISMES DE LA PATHOLOGIE ANEVRYSMALE INTRACRANIENNE	39
1 - Mécanismes de la formation des AIC	40
1.1 - Facteurs héréditaires et génétiques	40
1.1.1 - Formes familiales et héréditaires d'anévrysmes	40
1.1.2 - Facteurs génétique de la formation anévrysmale.....	41
1.2 - Vulnérabilité structurelle	42
1.2.1 - Vulnérabilité de la paroi des artère cérébrales	42
1.2.2 - Vulnérabilité du réseau artériel.....	43

1.3 - Anomalies du tissu de soutien	43
1.4 - Facteurs hémodynamiques	44
1.4.1 - Pression artérielle	44
1.4.2 - Stress de cisaillement.....	45
1.5 - Changements moléculaire	45
1.5.1 - Impact du stress hémodynamique sur la paroi de l'artère.....	45
1.5.2 - Le remodelage matriciel	47
2 - Mécanismes de la croissance des AIC.....	49
2.1 - Description de la croissance anévrysmale	49
2.1.1 - Fréquence de la croissance anévrysmale	49
2.1.2 - Facteurs de risques.....	50
2.2 - Changements structurels durant la croissance	50
2.3 - Les métalloprotéases matricielles	51
2.3.1 - Activation des MMP.....	51
2.3.2 - Dérèglement de l'activation.....	52
2.4 - Infiltration inflammatoire de la paroi artérielle	52
2.4.1 - Un phénomène bien documenté.....	53
2.4.2 - Inflammation et instabilité anévrysmale.....	53
2.4.2 - L'équilibre instable de la paroi anévrysmale	54
2.5 - Voies alternes d'activation des MMP	55
2.5.1 - Les protéines plasmatiques	55
2.5.2 - Les protéases à sérine	55
3 - Mécanismes de la rupture des AIC.....	57
3.1 - Facteurs affectant la rupture des AIC	57
3.1.1 - Taille et forme des AIC	57
3.1.2 - Facteurs familiaux et génétiques.....	58
3.2 - Changements structurels et moléculaires.....	59
3.2.1 - Modification structurales à l'origine de la rupture.....	59
3.2.2 - Changements moléculaires	59
3.3 - Evènements déclenchant la rupture des AIC	60
III - VERS UNE AMELIORATION DES STRATEGIES THERAPEUTIQUES	62
1 - Etat des lieux des stratégies thérapeutiques	62
1.1 - Une amélioration du devenir des patients.....	62
2 - De la méconnaissance des mécanismes à l'observation clinique	64
2.1 - L'AIC et l'artère qui le porte.....	64
2.2 - Anomalie des artères cervicales à destinées encéphaliques.....	64
3 - De l'insuffisance du traitement à l'expérimentation animale	66
3.1 - Dangerosité de l'exclusion préventive des AIC	66
3.2 - Vers les traitements pharmacologiques préventifs	66
3.3 - Modèle murin d'AIC	67
4 - Une voie alterne de la promotion du remodelage matriciel : l'axe tPA/AIC.....	69
4.1 - De l'intérêt de l'étude des voies alternes	69
4.2 - L'activateur tissulaire du plasminogène : le tPA	69
4.3 - Implication du tPA dans la pathologie anévrysmale intracrânienne.....	70
5 - Pharmaco-stabilisation des AIC sur modèle murin	72
5.1 - Travail sur l'inhibition du tPA.....	72
5.2 - Thérapie matricielle.....	73
RESULTATS	74
I - PROJET DE RECHERCHE	74
1 - Anatomie d'un projet.....	74
2 - Objectifs de recherches.....	76
II - ARTICLE N° 1.....	79
« Cervical artery tortuosity is associated with intracranial aneurysm ».....	79

III - ARTICLE N° 2	80
« <i>Vascular tissue-type plasminogen activator promotes intracranial aneurysm formation</i> »	80
IV - PROJET EN COURS	81
1 - <i>Inhibition de l'axe tPA</i>	81
1.1 - Inhibition centrale du tPA par immunothérapie	81
1.2 - Inhibition indirecte du tPA via inhibition de la plasmine	82
2 - <i>Thérapie matricielle</i>	83
2.1 - Expérience pilote.....	83
DISCUSSION	84
I - L'AIC EST-IL LE SYMPTOME D'UNE MALADIE VASCULAIRE PLUS VASTE ?	84
1 - <i>Les anomalies morphologiques des ACE sont associées à la formation des AIC</i>	84
1.1 - Une association forte avec la présence des AIC	84
1.2 - Quelle signification donner à ces anomalies des ACE ?.....	85
1.3 - Comment expliquer l'association avec la formation des AIC ?.....	86
1.3.1 - Influence des facteurs hémodynamiques systémiques.....	86
1.3.2 - Importance de la vulnérabilité du tissu de soutien artériel.....	87
2 - <i>De la non association des anomalies des ACE et de la croissance et la rupture des AIC</i>	89
2.1 - Absence d'association avec l'évolutivité des AIC.....	89
2.2 - Les phases de l'histoires naturelles des AIC pourraient être indépendantes.....	89
3 - <i>Intérêt de l'étude et perspective</i>	90
II - LA VOIE DE LA FIBRINOLYSE IMPLIQUEE DANS DE L'HISTOIRE NATURELLE DES AIC	91
1 - <i>Implication du tPA dans la pathologie anévrysmale intracrânienne</i>	91
1.1 - Une forte association du tPA avec les AIC.....	91
1.1.1 - Les caractéristiques de cette implication	92
1.1.2 - D'où provient le tPA présent dans la paroi de l'AIC ?	92
2 - <i>L'axe tPA/ plasmine fortement impliqué dans le remodelage matriciel</i>	94
2.1 - Induction du remodelage matriciel.....	94
2.1.1 - Les MMP sont les outils du remodelage matriciel.....	94
2.1.2 - Activation des MMP par le tPA et la plasmine.....	94
2.1.3 - Effet pro-inflammatoire du tPA	95
2.2 - L'inflammation comme seul cause de la croissance des AIC ?	96
3 - <i>Intérêt de l'étude et perspectives</i>	97
III - AMELIORATION DES STRATEGIES THERAPEUTIQUES	98
1 - <i>Etat des lieux sur le terrain clinique</i>	98
1.1 - Pas de réelles améliorations des traitement invasifs.....	98
1.2 - L'absence de traitement non invasif.....	99
2 - <i>La création d'un traitement biologique des AIC via l'inhibition du tPA</i>	100
2.1 - Des résultats négatifs pour l'instant mais... ..	100
3 - <i>La création d'un traitement biologique des AIC via la Thérapie Matricielle</i>	101
3.1 - Des résultats positifs pour l'instant mais	101
CONCLUSION	102
BIBLIOGRAPHIE	104
ANNEXES	121
ANNEXE 1 : LES FORMES LIMITES ET LES FORMES FRONTIERES D'ANEVRYSMES INTRACRANIENS	121
a) <i>Les anévrysmes intracrâniens mycotiques</i>	121
b) <i>Les dolichoectasie artérielles intracrâniennes</i>	121
c) <i>Les Anévrysmes pédiculaires associées aux malformations artério-veineuses</i>	121
d) <i>Les anévrysmes intracrâniens disséquant</i>	121
e) <i>Les anévrysmes intracrâniens de l'enfant</i>	121

ANNEXE 2 : PRESENTATION CLINIQUE, GRAVITE ET DETECTION DE L’HSA	123
<i>a) Présentation clinique</i>	<i>123</i>
<i>b) Critères de gravité initial</i>	<i>123</i>
<i>c) Détection paraclinique</i>	<i>124</i>
<i>d) Mise en évidence de l’anévrysme rompu.....</i>	<i>125</i>
ANNEXE 3 : COMPLICATIONS DE L’HSA ANEVRYSMALE	126
<i>a) Complications aiguës.....</i>	<i>126</i>
<i>b) Complications sub-aiguës.....</i>	<i>126</i>
<i>c) Complications chroniques et à distance.....</i>	<i>127</i>

LISTE DES ABBREVIATIONS

AIC : Anévrisme Intracrânien
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
CML : Cellules Musculaires Lisses
COX : Cyclooxygénase
DFM : Dysplasie Fibro-Musculaire
HSA : Hémorragie Sous Arachnoïdienne
HTIC : Hyper Tension Intra-Crânienne
IEL : Irrégularités Endo-Luminales
IV : Intra-Veineux
LCR : Liquide Céphalo-Rachidien
LCR : Liquide Céphalo-Spinal
LEE : Limitante Elastique Externe
LEI : Limitante Elastique Interne
MEC : Membrane Extra-Cellulaire
MMP : Matriciel Metallo-Protease
NOS : Nitric Oxyde Synthetase
PA : Pression Artérielle
PL : Ponction Lombarie
PKRAD : PolyKystose Rénale Autosomique Dominante
SNP : Single Nucleotid Polymorphism
tPA : Activateur Tissulaire du Plasminogène

INTRODUCTION

I - L'anévrisme intracrânien et la pathologie anévrysmale

1 - L'anévrisme intracrânien : un phénomène morphologique complexe

1.1 - Définition morphologique

1.1.1 - ανευρυσμα

Le mot anévrisme vient du grec ancien *ανευρυσμα* qui signifie « dilatation ». Bien que ce mot soit issu du grec ancien il a été utilisé la première fois en médecine par Galien au deuxième siècle après J.C dans la Rome antique ^{1,2}. Le terme « anévrisme » fait référence à une déformation segmentaire et localisée de la paroi d'un vaisseau sanguin. Plus précisément il s'agit de la perte du parallélisme normal du vaisseau (Figure 1.A). La définition du terme « anévrisme » est purement morphologique et l'identification d'un anévrisme (quelque-soit le contexte clinique, la zone anatomique ou le vaisseau sur lequel il se situe) renvoie uniquement à des critères visuels. Le terme « anévrisme » est peu spécifique et ne renvoie pas directement à une maladie en tant que telle mais seulement à une anomalie de l'aspect d'un vaisseau. Précisons que même si ces déformations peuvent être décrites sur des veines, le terme « anévrisme » fait quasiment toujours référence aux anévrysmes artériels qui sont beaucoup plus remarquables. Ceux-ci possèdent plusieurs variantes et types et peuvent intéresser n'importe quelle artère de l'organisme. Leurs éventuelles conséquences sont indissociables de leur type, de leur forme et de leur localisation. Tous les anévrysmes artériels n'ont pas les mêmes tenants ni les mêmes aboutissants. La description de ces anévrysmes artériels est également morphologique. Ils peuvent être sacciformes (Figure 1.B), c'est-à-dire que la

Figure 1 : Les différentes descriptions des anévrysmes

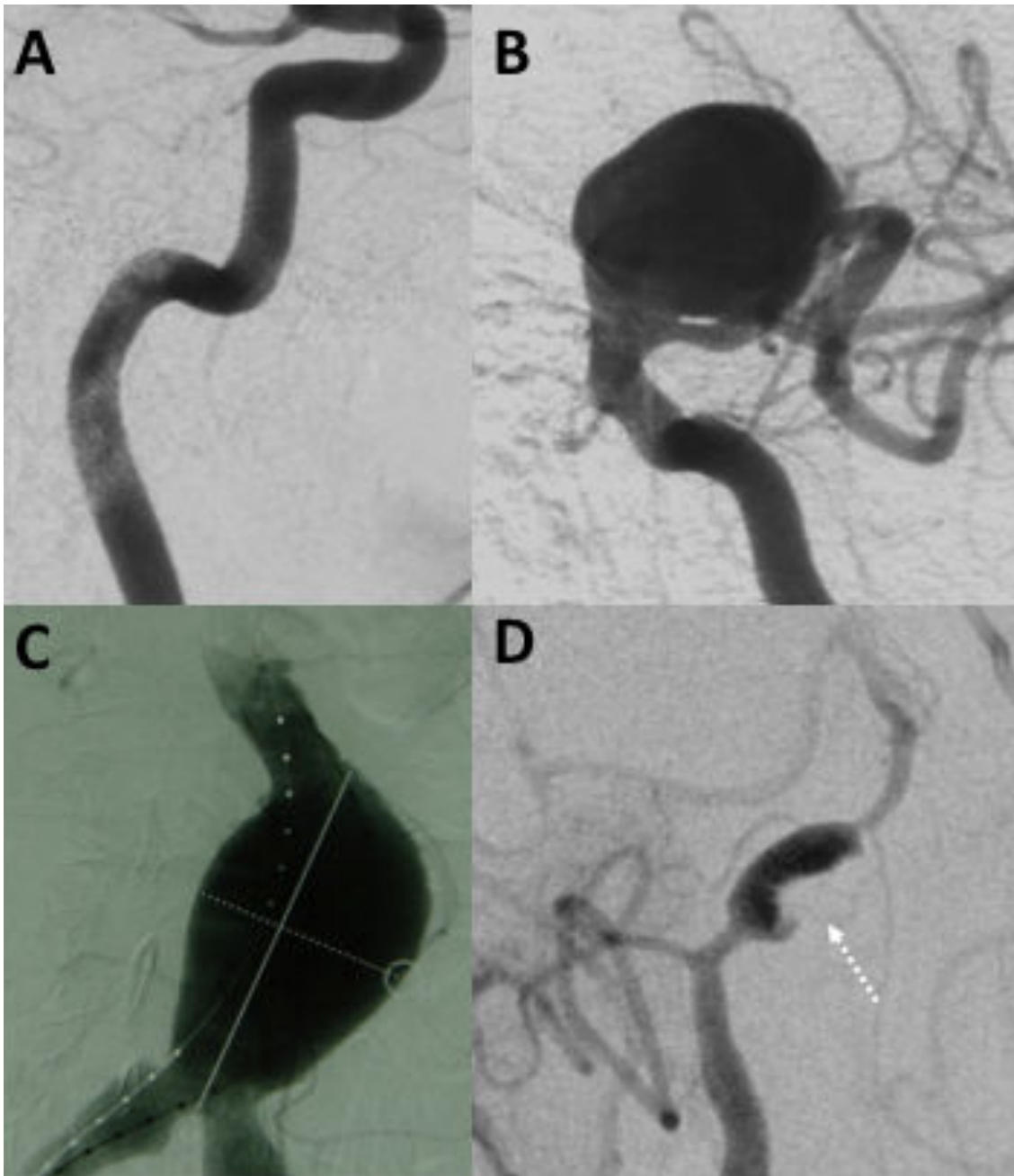


Figure 1 Différentes illustrations d'anévrysmes à l'angiographie numérisée soustraite. **A)** Aspect d'une artère carotide interne normale avec un parallélisme respecté de l'ensemble de l'axe. **B)** Anévrysme sacciforme de la carotide interne ophtalmique. Le sac est en continuité directe avec la lumière artérielle. **C)** Anévrysme fusiforme de l'aorte abdominale, la déformation structurale affecte la totalité de la section de l'artère. **D)** Anévrysme disséquant de l'artère vertébrale avec une irrégularité des angles de raccordement de l'anévrysme à l'artère vertébrale.

déformation structurale n'affecte pas la totalité de la section de l'artère à leur niveau ^{2,3}. Ils forment ainsi une sorte de « sac » appendu à l'artère cérébrale. Ce sac est en continuité directe avec la lumière artérielle, ils possèdent donc une partie circulante dont les conditions de pression et d'écoulement peuvent varier sensiblement avec l'artère dont ils sont issus (ou artère porteuse) ⁴⁻⁶. Ils peuvent également être fusiformes c'est-à-dire en forme de « fuseau » (figure 1.C) car la déformation structurale affecte la totalité de la section de l'artère à leur niveau ^{7,8}. Les conditions hémodynamiques peuvent également y varier sensiblement, par rapport à l'artère saine située en amont et en aval de la déformation. Un anévrisme artériel peut également être qualifié de disséquant (figure 1.D). Il s'agit d'une forme intermédiaire avec des caractéristiques morphologiques propres (Annexe 1) ⁹⁻¹¹.

Quel que soit son aspect ou son type, l'anévrisme en tant que déformation, est la conséquence d'une modification structurale acquise de la paroi artérielle ¹²⁻¹⁴.

1.1.2 - La paroi de l'artère normale

Les artères sont des vaisseaux sanguins qui transportent le sang dans l'organisme du cœur vers les organes. La structure de la paroi artérielle est très importante à préciser. Celle-ci est constituée de cellules mais surtout de matrice extracellulaire (MEC). La MEC désigne l'ensemble des macromolécules extracellulaires du tissu conjonctif et des autres tissus. Elle est constituée en grande partie de glycoprotéines, ainsi que de glycosaminoglycanes¹⁵. Elle contient les éléments comme le collagène, l'élastine, et les protéoglycans. Les macromolécules présentes dans la MEC de l'artère sont synthétisées et sécrétées par les cellules en contact avec celle-ci, à savoir les fibroblastes et les cellules musculaires lisses (CML).

Figure 2 : La paroi d'une artère musculaire

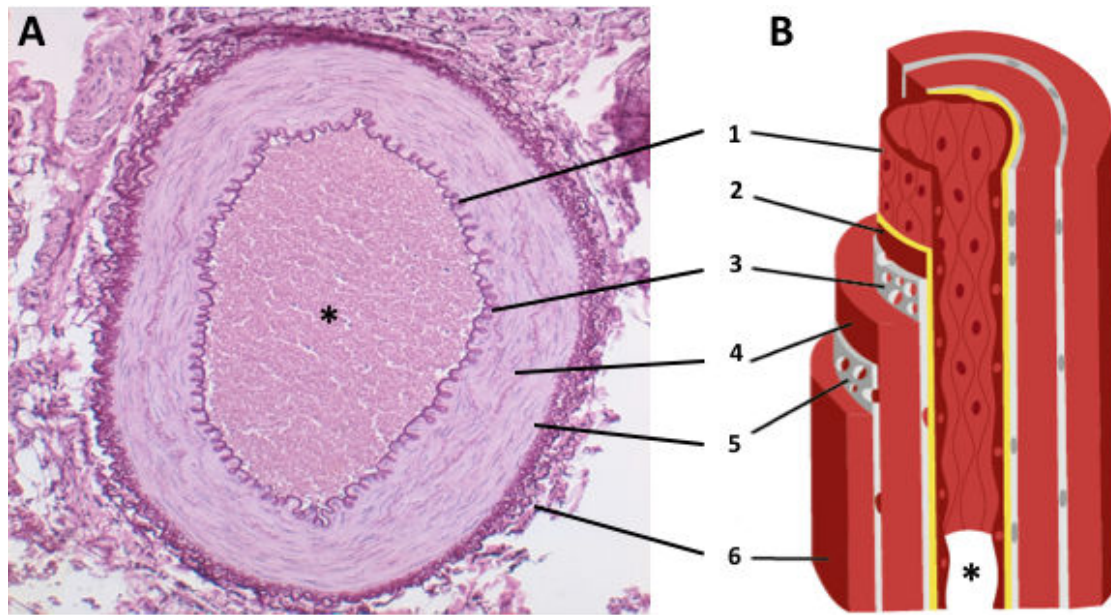


Figure 2 A) Coupe histologique d'une artère musculaire normale. **B)** Schéma représentatif des tuniques artérielles. 1 : Intima ; 2 : Lamé basale ; 3 : LEI ; 4 : Media ; 5 : LEE ; 6 Adventice ; * Lumière artérielle.

Indépendamment de leur fonction et de leur taille les artères possèdent une organisation concentrique en couches (Figure 2.A-2.B). En coupe transversale, et de l'intérieur vers l'extérieur on décrit : l'intima, la media et l'adventice. L'intima est la couche la plus interne de la paroi artérielle, elle est très fine et formée par l'endothélium vasculaire reposant sur une couche de tissu conjonctif. Elle est séparée de la media par la limitante élastique interne. La media est la couche moyenne de la paroi artérielle. Elle est composée de collagène et d'élastine libre non organisée en limitante. Dans les artères du calibre de celle des artères cérébrales ou artères dites « musculaires », elle contient les CML permettant la vasoconstriction. L'adventice est la couche externe de la paroi artérielle ; elle est composée de tissu conjonctif. L'adventice contient les *vasa vasorum* (vaisseaux capillaires vascularisant la paroi artérielle) ainsi que des fibres nerveuses du système autonome sympathique et parasympathique. Dans les artères « musculaires », adventice et media sont séparées par la limitante élastique externe (LEE), une couche acellulaire élastique. La media des artères « musculaires » possèdent beaucoup de fibres d'élastine et de collagène. Le but de l'élastine est d'apporter beaucoup d'élasticité pour que la paroi s'adapte selon aux variations de pression alors que le collagène a pour rôle de s'opposer à une trop forte variation du rayon, et va permettre de réduire l'extensibilité de la paroi.

1.2 - Les anévrysmes intracrâniens

Le terme d'anévrysme intracrânien correspond la plupart du temps à une dilatation segmentaire d'une artère, située à l'intérieur de la boîte crânienne. Ils sont situés précisément sur les artères destinées à la vascularisation du cerveau, dans le compartiment encéphalique. Les anévrysmes intracrâniens sont donc une forme particulière d'anévrysmes (à différencier des anévrysmes de l'aorte abdominale par exemple). Toutefois l'anévrysme intracrânien ne correspond toujours

pas à une pathologie propre, mais à un phénomène morphologique complexe situé dans un contexte anatomique très précis, celui des artères cérébrales et de la boîte crânienne.

1.3 - Particularités des artères cérébrales

Les artères cérébrales ont certaines particularités qui les rendent uniques dans l'organisme^{14,16,17}. Premièrement, la distribution des fibres élastiques dans la paroi des artères cérébrales est singulière comparativement aux artères de même calibre situé dans d'autres compartiments du corps humain. Elles ne possèdent pas de LEE mais seulement une LEI. Deuxièmement, sur une partie importante de leur trajet, les artères cérébrales possèdent un environnement très particulier : elles circulent dans du liquide, le liquide céphalo rachidien (LCR) dans l'espace sous arachnoïdien. En outre, les artères cérébrales ne sont pas entourées et « contenues » par du tissu comme les autres artères de l'organisme¹⁸. On comprend qu'à la fois leur constitution mais également l'environnement de ces artères sont très particuliers et les rendent particulièrement vulnérables : elles sont moins élastiques, et rien ne renforce leur paroi externe.

1.4 - L'anévrisme intracrânien « vrai »

1.4.1 - Définition du concept

Le concept d'anévrisme intracrânien « vrai » (AIC) est nécessaire pour circonscrire un type bien précis d'anévrisme intracrânien^{1,19}. Il s'agit de la plus fréquente et la plus éloquente forme d'anévrisme situé dans la boîte crânienne. Ce concept regroupe les anévrysmes artériels

intracrâniens sacciformes affectants les artères cérébrales. Anatomiquement, ils sont situés en dehors du tissu cérébral et donc extra-axiaux (en dehors du névraxe). La quasi-totalité de ces AIC sont localisés dans l'espace sous-arachnoïdien et donc entourés de LCR. Les artères impliquées sont : la terminaison des artères vertébrales, carotidiennes et basilaires, ainsi que sur les artères issues du polygone de Willis (communicantes et territoriales issues du cercle anastomotique artériel de la base du crâne). Ils affectent préférentiellement la circulation antérieure carotidienne (92%) plutôt que la circulation postérieure vertébro-basilaire (8%)^{1,20,21}. Les AIC ont des tailles variables, de quelques millimètres à plus de 25 millimètre pour ceux considérés comme « géants »^{22,23}. Ils sont essentiellement situés sur les bifurcations artérielles^{1,21,24}. Les AIC sont les plus fréquents, les plus répandus. C'est uniquement ce type d'anévrismes que nous étudierons ici.

1.4.2 - Caractéristiques d'un AIC

Dans la description morphologique d'un AIC, on utilise couramment le terme d'artère « porteuse » pour désigner l'artère qui de laquelle est issue l'anévrisme. Le collet anévrysmal (zone d'entrée du sang dans l'anévrisme depuis l'artère porteuse) et son diamètre ont une importance clinique^{25,26}. Le dôme ou sac anévrysmal représentant la plus grande partie de l'AIC c'est-à-dire l'ensemble de la déformation. Le sac « fille » ou phlyctène (inconstant) correspond à une poche de fragilité très fréquemment retrouvé dans le cadre d'AIC rompu^{27,28}. Notons également les termes de lobes anévrysmaux et grand axe dont nous illustrons les définitions dans la Figure 3.

Figure 3 : Description d'un AIC

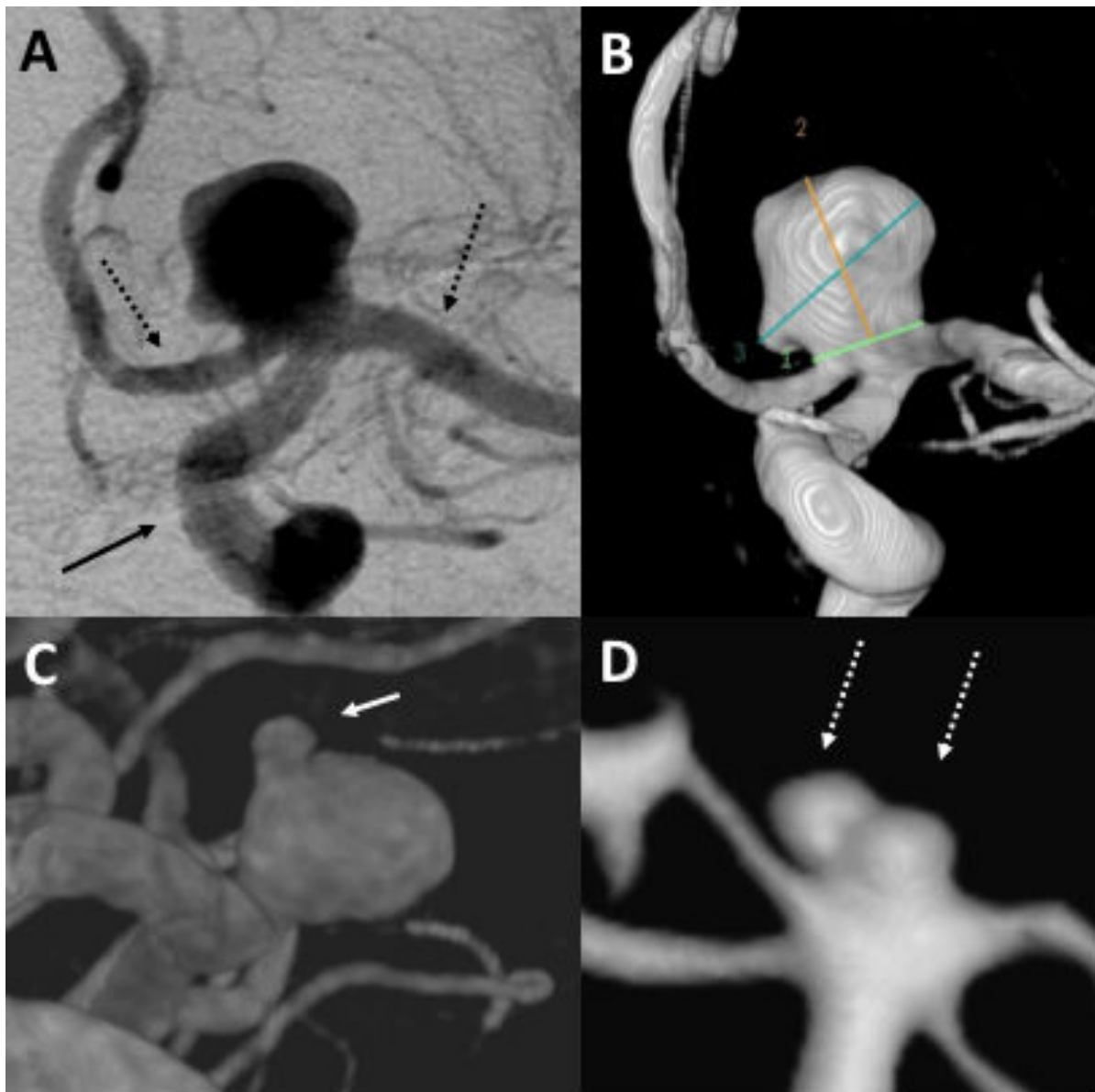


Figure 3 A) AIC de la terminaison carotidienne (artère porteuse : flèche noire pleine) à l'angiographie numérisée soustraite. B) Sur une reconstruction en 3D de cette angiographie on apprécie 1 : collet de l'AIC ; 2 : hauteur de l'AIC ; 3 : grand axe de l'AIC. C) Sac « fille » appendu au sac principal d'un AIC carotidien (flèche blanche pleine). D) Deux lobes anévrysmaux distincts sur une reconstruction en 3D d'un AIC du tronc basilaire.

2 - Les trois phases de l'histoire naturelle de l'AIC

Comme nous venons de le voir, l'AIC n'est pas une maladie en soit mais une anomalie morphologique spécifique des artères cérébrales. Pourtant, l'AIC est indissociable de la tragique « rupture d'anévrisme » qui est une condition pathologique particulièrement grave²⁹⁻³¹. Cela est dû au fait que l'AIC est une anomalie spontanément évolutive³². C'est-à-dire qu'aussi bien la morphologie que les changements structuraux de la paroi sont amenés à évoluer dans le temps^{14,16,33}. Cette évolution peut se faire notamment vers et une fragilisation de la paroi entraînant une défaillance de sa fonction : contenir et véhiculer le sang. Ainsi, du fait de son évolutivité, l'anomalie morphologique devient une pathologie.

Cette évolution spontanée ou « histoire naturelle » distingue habituellement trois phases : une phase initiale de formation, puis une phase de croissance et enfin une phase de déstabilisation qui peut provoquer la rupture de la paroi de l'AIC^{12,34,35}. Ces différentes phases se succèdent mais il est très difficile de les dissocier avec précision d'un point de vue chronologique.

Pourtant il est indispensable de considérer ces différentes phases car toutes ne répondent pas forcément aux mêmes mécanismes et facteurs de risques^{1,16}.

2.1 - Formation des AIC

L'AIC ne serait pas une lésion d'origine congénitale ou due à une erreur du développement comme on l'a longtemps cru, mais une lésion acquise secondairement^{21,36,37}. Il ne semble pas que l'on naisse avec un AIC comme en témoigne la très faible incidence de cette atteinte chez les enfants comparativement aux adultes, mais également la rareté du caractère familial des AIC³⁸⁻⁴⁰.

La phase de formation des AIC est probablement la plus difficile à étudier chez l'homme c'est l'une des raisons pour laquelle elle reste globalement incomprise. Cela s'explique par la réalité même d'un anévrysme uniquement basée sur des critères morphologiques. Ainsi, est très délicat d'identifier précocement la perte de parallélisme d'une artère du cerveau. L'identification des facteurs d'initiation responsables de cette lésion pariétale n'est pas non plus élucidée et les hypothèses avancées restent la source de controverses ^{1,41-43}. La plupart du temps cette phase d'initiation ou de formation est silencieuse c'est-à-dire qu'elle n'est responsable d'aucun symptôme chez le patient ³.

2.2 - Croissance des AIC

Les AIC sont susceptibles de grandir (augmentation de volume) avec le temps sous l'influence de facteurs hémodynamiques notamment ^{16,44,45}. Les cas de régression spontanée sont exceptionnels et correspondent vraisemblablement à une forme différente de la maladie. La phase de croissance des AIC est assez documentée chez l'Homme. Cela grâce au suivi des patient chez qui il a été découvert fortuitement un AIC ^{36,45,46}. Cette phase de croissance est habituellement décrite comme longue. Même s'il existe une grande hétérogénéité entre les cas ^{45,47}. La plupart des auteurs considère qu'elle évolue sur des années voire des dizaines d'années en fonction de la taille de découverte des AIC, et des facteurs de risques cardiovasculaires. Cette phase n'est probablement pas constante ni même progressive dans le temps mais plutôt irrégulière et discontinue avec des périodes alternées de croissance et de stagnation ^{1,47,48}. Enfin, cette phase est également silencieuse pour le patient.

2.3 - Déstabilisation et rupture des AIC

La phase de croissance qui conduit à une augmentation de volume conduit à une déstabilisation de la paroi. La notion clinique de syndrome fissuraire précédant la rupture entretient l'idée d'un phénomène de déstabilisation aiguë de la paroi anévrysmale qui engendrerait la rupture à la suite d'un épisode hypertensif aigu⁴⁹⁻⁵¹. Les facteurs de risques de rupture d'anévrysmes sont également bien documentés⁵²⁻⁵⁴. Cependant peu d'anévrysmes atteignent la phase de déstabilisation et de rupture (de 1 % à 3 % par an selon les études)⁵⁵⁻⁵⁷.

Il faut préciser qu'un même patient peut être porteur de plusieurs AIC^{1,58}. Le nombre moyen d'AIC par patient est souvent rapporté dans les études autour de 1,6^{3,21,59}. Chez ces patients présentant plusieurs AIC, l'histoire naturelle de chaque anévrysmes est indépendante.

Du fait de son histoire naturelle qui évolue avec le temps, un AIC peut se présenter sous différents « états ». Un état renvoie au mode de prestation clinique de l'AIC. On distingue couramment trois types d'états sous lequel un AIC peut être découvert.

3 - Les trois états d'un AIC

3.1 - L'AIC non rompu

Chez une majorité de patient l'AIC est présent à l'état asymptomatique ou « non rompu ». La prévalence de ces anévrysmes non rompus chez l'homme est de 2 à 3% de la population générale^{60,61}. Ces AIC sont découverts fortuitement lors d'un examen d'imagerie réalisé pour des vertiges, une céphalée ou autres^{44,62,63}. Avec les progrès importants et la diffusion des appareils d'imagerie en coupe (scanner, IRM) de plus en plus d'AIC sont découverts fortuitement. Ces AIC asymptomatiques sont une menace potentielle qui possède un risque global annuel de rupture de l'ordre de 1 % à 3 % par an selon les études⁵⁵⁻⁵⁷. La prise en charge de ces patients devient donc un enjeu significatif des services hospitaliers.

3.2 - L'AIC symptomatique et/ou fissuré

Dans de rares cas un AIC est découvert à l'état symptomatique mais sans véritable rupture^{46,49}. C'est à dire sans extravasation de sang dans les espaces sous arachnoïdiens. La prévalence de ces anévrysmes symptomatique est faible⁶⁴. Il peut s'agir d'un AIC instable qui lors d'une phase aiguë de croissance comprime une structure nerveuse se situant à proximité responsable des symptômes^{22,65}. Les atteintes visuelles sont les plus fréquemment constatées. Il s'agit généralement d'une atteinte des nerfs oculomoteurs⁶⁶. Il peut s'agir également de syndrome fissuraire, avec des symptômes cliniques évoquant une authentique rupture d'anévrysme mais sans mise en évidence de saignement intracrânien⁶⁴. Classiquement les AIC symptomatiques

sont jugés évolutifs et/ou instables. Certaines anomalies morphologiques peuvent également accompagner ces anévrysmes instables^{27,28,67}.

3.3 - L'AIC rompu

La rupture est l'état le plus « bruyant » sous lequel peut se présenter un AIC. Il s'agit d'un évènement soudain et brutal^{1,51,65}. Cet évènement est la conséquence d'une interruption de la continuité de la paroi anévrysmale qui est responsable d'une extravasation plus ou moins importante de sang^{31,68}. C'est la rupture potentielle ou réelle de l'anévrysmes qui lui confère sa dangerosité.

Le phénomène de rupture intervient lorsque le processus de déstabilisation de la paroi anévrysmale la rend particulièrement fragile à la pression à l'intérieur de l'artère. La paroi fragilisée de l'AIC n'est plus assez solide pour supporter la tension artérielle et se rompt^{12,34,69}. La rupture correspond à une perforation focale de l'AIC. Des modifications morphologiques de la paroi peuvent être identifiées précisant le site exact de la rupture^{18,27} (Figure 3.C). L'AIC rompu devient alors une entité pathologique à part entière et cela indépendamment de l'hémorragie qu'il a provoquée. Il faut noter que dans la majorité des cas, la rupture de continuité de la paroi n'est que transitoire, de quelques secondes à quelques minutes et qu'elle cède d'elle-même par un phénomène complexe de contre-pression dont nous reparlerons^{70,71}. Le point de perforation de l'AIC se colmate tout seul mais ce colmatage est labile. De fait un AIC rompu est très instable^{58,64}.

Comme un même patient peut être porteur de plusieurs AIC, dont l'histoire naturelle est indépendante, un patient peut être porteur d'un anévrysmes rompu et d'un ou d'autres AIC non rompus découverts fortuitement.

4 - L'hémorragie sous arachnoïdienne par rupture d'AIC

Comme nous l'avons vu, l'AIC est indissociable de la « rupture d'anévrisme » qui, elle, représente une condition pathologique particulièrement grave. La « rupture d'anévrisme » est bien connue pour sa gravité au même titre qu'un cancer par exemple^{29,31}. L'AIC, exposant au risque de saignement intracrânien, devient une pathologie.

4.1 - L'hémorragie sous arachnoïdienne d'origine anévrysmale

En cas de rupture de la continuité de la paroi anévrysmale, il se produit une hémorragie intracrânienne. Il s'agit d'une hémorragie sous-arachnoïdienne (HSA) ou hémorragie méningée, qui est définie par l'extravasation de sang artériel dans les espaces entourant le cerveau et notamment les citernes arachnoïdiennes remplies de LCR (ou citernes de la base du crâne) (Figure 4). Le sang diffuse dans le LCR sous l'effet de la pression sanguine au niveau de la brèche vasculaire. Mais également par diffusion physique simple (comme l'encre dans l'eau)⁷². Parfois cette hémorragie est dite cérébro-méningée car elle atteint également le parenchyme cérébral sous forme d'un hématome intraparenchymateux^{68,73}. Dans de rares cas la rupture d'un AIC entraîne un hématome sous dural pur ou un hématome intraparenchymateux pur⁷⁴. L'HSA est due à une rupture d'AIC dans 85% des cas²⁹. Dans 10% des cas l'origine d'une HSA n'est pas due à la rupture d'un AIC, et elle n'expose pas aux mêmes complications, mais ces cas ne seront pas traités ici.

Chez les patients, l'HSA entraîne initialement une céphalée très brutale à cause de l'hémorragie dans les espaces sous-arachnoïdiens^{51,64,65}. La gravité de la situation clinique initiale du patient

Figure 4 : Aspect en imagerie et en macroscopie d'une HSA

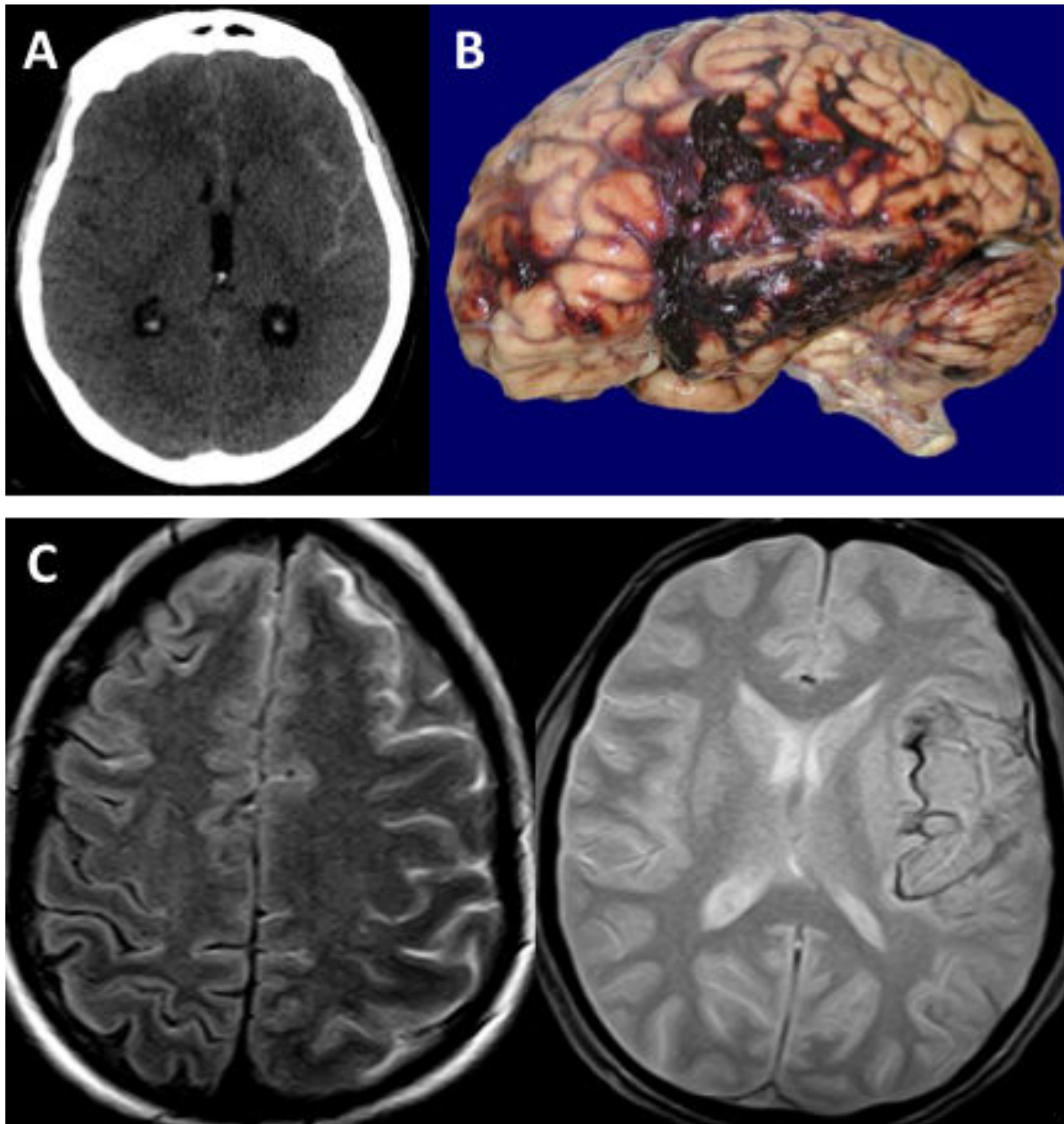


Figure 4 A) Scanner cérébral chez une patiente victime d'une hémorragie sous-arachnoïdienne avec un hyperdensité spontanée de la vallée sylvienne gauche. **B)** Macroscopie du prélèvement post-mortem d'un patient victime d'une HSA sur rupture d'un anévrysme. On voit la répartition du sang dans les enveloppes autour du cerveau. **C)** IRM cérébrale illustrant une HSA à la phase aiguë. A droite : séquence T2 FLAIR avec un hyper signal traduisant la présence de sang. A gauche une séquences T2* identifie le sang dans la vallée sylvienne gauche sous forme d'un hypo signal.

est souvent associée à la gravité de la rupture, c'est-à-dire à la quantité de sang extravasée⁷³. En effet, le volume de cette hémorragie est variable.

L'HSA est une urgence diagnostique qui impose une détection rapide en vue d'une admission immédiate en milieu spécialisé pour une prise en charge thérapeutique optimale. Cette prise en charge est complexe et fait appel à de nombreuses ressources cliniques et paracliniques. Ces points importants, essentiellement médicaux sont détaillés dans l'Annexe 2. (Présentation clinique, gravité et détection de l'HSA). Par la suite, le sang présent dans les citernes arachnoïdiennes au contact des vaisseaux intracrâniens joue un rôle déterminant dans la survenue de complications neurologiques. Complications qui peuvent être précoces comme l'hydrocéphalie aiguë, ou retardée comme le vasospasme cérébral. Ces complications sont détaillés dans l'Annexe 3.

4.2 - Incidence et pronostic

Dans des études basées sur la population et incluant également les décès extra-hospitaliers l'incidence de l'HSA anévrysmale est de 9,1 cas pour 100 000 personnes par an^{30,60,75}. Il existe certaines variations régionales avec une incidence particulièrement élevée en Finlande (19 cas pour 100 000 personnes par an) et au Japon (22 cas pour 100 000 personnes par an)^{1,20,56}. Une controverse scientifique existe sur ces variations d'incidence, et à l'heure actuelle aucune explication fiable n'a été avancée⁷⁶. Des études rapportent que l'incidence de l'HSA a baissé de 0,6% par an entre 1955 à 2003 mais ces résultats sont contestés^{29,77}.

En terme d'âge de survenue, on décrit classiquement deux pics de fréquence de l'HSA, à 40 ans et à 60 ans^{30,60,75}. Il n'est pas rare qu'elle touche de jeunes adultes. L'incidence de l'HSA anévrysmale est plus fréquente chez la femme (1,6 fois plus fréquent que chez les hommes)

mais cette différence intervient principalement après la cinquième décennie ⁵⁴. Les hormones féminines comme les oestrogènes et la progestérone, ont été incriminées mais sans qu'aucune conclusion cohérente ne soit retenue par la communauté scientifique ^{1,54}.

Les taux globaux de mortalité de l'HSA anévrysmale sont très élevés ^{30,31,72}. De 30% avec traitement à 67% sans traitement, et avec 10 à 20% des patients présentant un handicap dû aux dommages du cerveau engendrant une dépendance à long terme. On relate que 12% des patients meurent avant même la prise en charge médicale tandis que 15 % à 25% des patients décèdent dans les premières semaines malgré une prise en charge optimale dans une structure adaptée ²⁹. La qualité de vie des patients survivants à une HSA est également profondément impactée même si les données sont plus difficiles à établir ⁷⁸. Les statistiques de survie publiées sont bien entendu réalisées dans les pays très industrialisés et avec un haut niveau de technicité de la médecine. Il est évident que les conséquences de l'HSA anévrysmale sont catastrophiques dans les pays en voie de développement d'autant plus que son incidence n'y est pas moindre comparativement au pays industrialisés. L'HSA anévrysmale est un fléau mondial.

5 - Prise en charge de l'HSA anévrysmale

5.1 - Traitement curatif de l'HSA anévrysmale

5.1.1 - Mesures générales

La prise en charge d'une HSA anévrysmale est une urgence vitale qui impose un transfert médicalisé immédiat dans une unité de soins intensifs spécialisée^{58,70,79}. Il s'agit d'une prise en charge pluridisciplinaire complexe dont les objectifs sont multiples.

Sans entrer dans les détails, les mesures générales contiennent des mesures symptomatiques comme l'antalgie et la prévention des complications éventuelles. Elles impliquent : une surveillance continue, l'évaluation d'une hydrocéphalie et/ou d'une hypertension intracrânienne (HTIC) et le cas échéant son traitement, la mise en repos strict au lit, une rééquilibration hydro-électrolytique et un contrôle tensionnel. La prévention du spasme artériel par la prescription de nimodipine (inhibiteur calcique) par voie orale ou intraveineuse (IV), adaptée à la pression artérielle (PA), avec surveillance rapprochée de celle-ci pour éviter toute baisse inadaptée de la PA. L'ensemble de cette prise en charge fait appel à des mesures de réanimation complexes qui ne seront pas développées ici.

5.1.2 - Récidive précoce de la rupture anévrysmale

Si un anévrysme rompu n'est pas traité, il peut présenter une récurrence de saignement, c'est à dire une autre « rupture d'anévrysme »^{58,71,80}. En plus des mesures générales il est indispensable d'empêcher un re-saignement dont on sait qu'il est extrêmement grave^{70,71,81}.

Plus grave même que l'HSA initiale. Il survient précocement, dans la première semaine, mais il peut également survenir plus à distance, dans les semaines et les mois qui suivent ⁷⁹. Sa survenue est impossible à prévoir. Environ un tiers des patients qui ont survécu à l'hémorragie initiale vont mourir à cause d'un re-saignement dans les 6 mois suivant la première HSA. Ainsi à 6 mois d'une HSA le risque de récurrence est de 50% et deux tiers de ces saignements récurrents entraînent la mort.

5.1.3 - Exclusion en urgence des AIC

L'AIC rompu expose rapidement à une récurrence. L'objectif principal du traitement curatif de l'HSA anévrysmale à la phase aiguë est d'empêcher le re-saignement de l'AIC. La seule façon fiable de prévenir cette deuxième rupture consiste à réaliser l'occlusion de l'anévrysme rompu ^{58,70,82}. Cette occlusion permet son « exclusion » de la circulation sanguine : il ne peut plus saigner. Pourtant nous avons vu que l'AIC rompu peut s'obstruer spontanément grâce à des mécanismes physiologiques complexes. Mais ce colmatage est instable et la paroi reste fragilisée. L'exclusion physique de l'AIC est alors indispensable, en urgence ^{58,83}.

Chez les patients présentant plusieurs AIC, seul l'AIC impliqué dans le saignement doit être traité en urgence ⁵⁸. La valeur locative de l'HSA aide à identifier l'AIC responsable, mais pas toujours ⁶⁸

5.1.4 - Technique d'exclusion des AIC

Pour occlure les AIC, deux types d'interventions sont possibles^{58,79}. Il s'agit dans les deux cas d'une intervention chirurgicale sur les artères cérébrales sous anesthésie générale. Aucun autre traitement n'a fait preuve de son efficacité et n'est utilisé en pratique. Ces deux interventions se font soit par voie endo-vasculaire soit par voie externe.

Par le passé, la seule approche permettant l'exclusion des AIC était la chirurgie par voie externe comme la ligature proximale des vaisseaux ou l'enrobage de l'anévrisme avec un tissu musculaire pour renforcer la paroi rompue⁸³. Puis l'exclusion de l'AIC par voie chirurgicale externe a été révolutionnée une première fois avec l'utilisation de clips chirurgicaux. Avec le développement des clips, le risque de récurrence hémorragique a diminué considérablement. Par la suite avec le développement de la microchirurgie (utilisation d'un microscope opératoire), les voies chirurgicales externes sont devenues de moins en moins traumatisantes pour le patient.

Concrètement, l'exclusion par voie chirurgicale externe d'un AIC nécessite une ouverture de la boîte crânienne (craniotomie) avec une ouverture de la dure-mère. A l'aide d'un microscope opératoire, le tissu cérébral est délicatement mobilisé et déplacé sans blessure pour permettre d'accéder à la base du crâne où se situe la majorité des AIC. L'espace sous-arachnoïdien autour des artères cérébrales est disséqué jusqu'à exposer l'AIC. Un (ou plusieurs) clip en titane est (sont) placé sur le collet de l'anévrisme tout en préservant les artères normales adjacentes.) (Figure 5.A-5.C). Le sang ne peut plus rentrer dans l'AIC : celui-ci est exclu.

Une autre révolution majeure dans le domaine de l'exclusion des AIC intervient en 1990 avec l'invention par G. Guglielmi de pelote de métal à détachement contrôlé : les coils (de *to coil* en anglais qui signifie enrouler). Les coils permettent d'exclure l'anévrisme de la circulation par voie endo-vasculaire. Cette approche a été initialement développée pour exclure les anévrismes

Figure 5 : Illustration des traitements d'exclusion des AIC

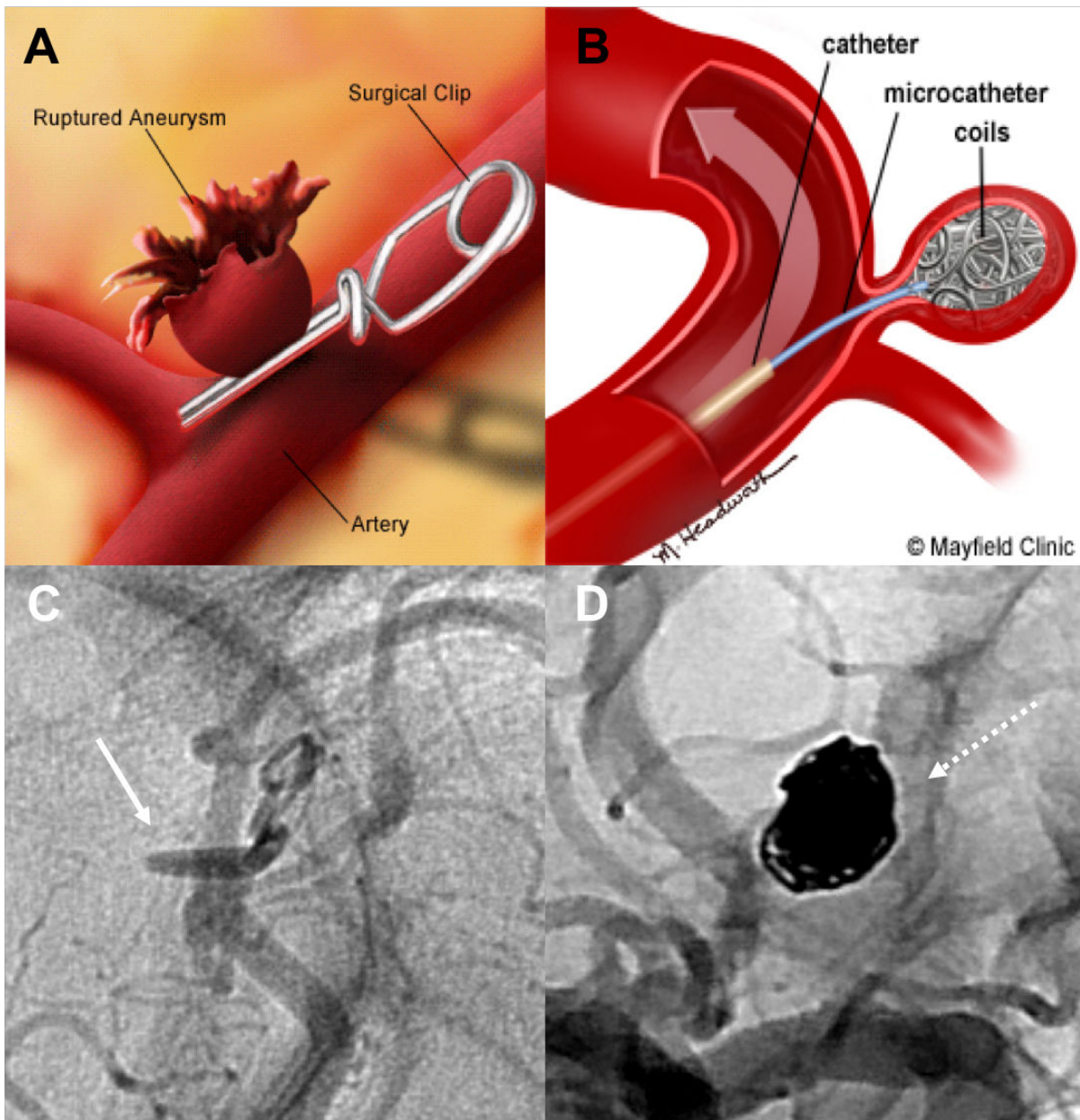


Figure 5 A) Dessin illustrant le principe de l'exclusion par voie chirurgicale externe d'un AIC. **B)** Dessin illustrant le principe de l'exclusion par voie endo-vasculaire d'un AIC. **C)** Angiographie numérisée non soustraite représentant un contrôle après exclusion par voie chirurgicale externe d'un AIC sylvien. On voit le clip en métal radio-opaque (flèche blanche pleine). **D)** Angiographie numérisée non soustraite représentant un contrôle après exclusion par voie endo-vasculaire d'un AIC communicant antérieur. On voit les coils en métal formant une pelote radio-opaque (flèche blanche pointillée).

difficiles d'accès au traitement par voie chirurgicale externe (par exemple les AIC rompus du tronc basilaire). L'exclusion par voie endo-vasculaire d'un AIC ne nécessite pas d'ouverture de la boîte crânienne elle est donc moins invasive. Pour s'affranchir d'une vision directe, elle implique l'utilisation de rayon X pour réaliser des images à travers les tissus du crâne. Ces images sont réalisées sous fluoroscopie c'est-à-dire en temps réel, permettant de contrôler les mouvements et le déplacement des instruments. En effet les principaux instruments utilisés possèdent des caractéristiques physiques qui les rendent plus opaques que les tissus adjacents (généralement ils sont constitués avec des métaux comme le tungstène, le titane ou l'or). La voie d'abord dans la circulation artérielle (typiquement l'artère fémorale, au niveau du pli de l'aîne) du patient permet de déplacer ou « naviguer » du matériel à l'intérieur des vaisseaux sanguins. Cette navigation se fait d'abord à contre-courant du sang depuis l'artère fémorale jusque dans l'aorte ascendante, puis en iso-courant depuis d'aorte jusque dans les artères cervicales à destinée encéphalique, pour finalement arriver dans la boîte crânienne. On peut ainsi amener du matériel d'exclusion depuis l'artère fémorale jusque dans le sac de l'anévrisme. Techniquement, il est procédé à la navigation d'un cathéter porteur ou cathéter guide (de 2 à 3 mm de diamètre) sur un guide métallique jusque dans l'artère parente de l'anévrisme au niveau du cou dans artères cervicales à destinée encéphalique, artères carotides ou vertébrales. Puis, de façon télescopique, un micro-cathéter plus petit et plus souple (moins d'1 mm) est enfilé à l'intérieur du cathéter porteur, et navigué sur un micro guide métallique jusqu'à l'intérieur du sac de l'AIC. Des coils sont alors introduits à travers le micro-cathéter et libérés dans le sac de l'AIC où ils reprennent leur forme d'origine et s'enroulent comme une pelote de laine. Plusieurs coils sont ainsi utilisés de manière concentrique, et de taille décroissante, jusqu'à combler une partie importante du sac de l'AIC. Cela empêche le flux sanguin de circuler dans le sac anévrysmal et induit la formation d'un caillot ou thrombus qui exclut l'anévrisme de la circulation. (Figure 4.B-4.D)

5.1.5 - Choix d'une stratégie d'exclusion

Rapidement l'exclusion par voie endo-vasculaire a prouvé son efficacité pour la prise en charge de la plupart des AIC. Puis l'étude de l'ISAT (Interantional SubArachnoid Trial) en 2002 a montré une supériorité de la prise en charge par voie endo-vasculaire par rapport à la voie chirurgicale externe pour les AIC rompus avec de meilleurs résultats fonctionnels à 1 an malgré un taux d'occlusion significativement meilleur dans le groupe chirurgie externe⁸². Ces résultats sont stables dans le temps. Les résultats d'ISAT, associés au fait que les patients ont tendance à préférer une intervention moins invasive, a entraîné une explosion des indications de la voie endo-vasculaire de traitement des AIC rompus^{79,84}. En 2013 un consensus européen a établi que dans les cas où l'anévrisme semble être accessible aux deux voies externe et endo-vasculaire, la voie endo-vasculaire devrait être préférée⁵⁸. En général, la voie d'abord dépend de plusieurs facteurs liés à l'âge du patient, ses comorbidité, présence d'un hématome associé, l'emplacement et la configuration de l'anévrisme^{13,71,85}.

5.1.6 - Risques de l'exclusion des AIC

Quel que soit la technique utilisé, les procédures d'exclusion peuvent être responsable de complications^{20,85}. Ces complications peuvent aggraver l'état du patient et être responsable de dégât plus important que ce qu'aurait provoqué l'HSA elle-même. Le taux de complication procédurales est plus élevé lorsque l'AIC est rompu⁸⁵. Les principales causes de complications sont les infections, les embolies cérébrales, le « clippage » de branche fonctionnelle, les perforations d'anévrisme péri-procédurales. Le taux de complication grave, c'est-à-dire les déficits neurologiques persistants et les décès après opération par voie endo-vasculaire et par

voie chirurgicale externe sont respectivement de 2,1% et 1,4%⁸³. Ces taux ne sont pas significativement différents entre les techniques^{82,83}. Bien que certaines complications soient inévitables l'exclusion des AIC à la phase aiguë est toujours justifiée. Mais il faut reconnaître que les deux types de traitements, tous deux invasifs, doivent être réalisés par des praticiens spécialisés et expérimentés dans les centres experts pour minimiser ces risques opératoires^{58,79}.

5.2 - Traitement préventif de l'HSA anévrysmale

Malgré les progrès établis dans le traitement curatif de l'HSA anévrysmale, celle-ci reste toujours associée à une mortalité et une morbidité importante. La gravité de cette affection et sa fréquence pousse la communauté médicale à envisager des stratégies de traitement préventif de l'HSA anévrysmale.

Pour les patients qui ont déjà été victime d'une HSA anévrysmale, la formation de nouveaux anévrysmes, pouvant eux-mêmes être responsables d'une deuxième HSA, est possible¹. Une surveillance et/ou un traitement préventif doit clairement être proposé le cas échéant. Par contre pour les patients chez qui un AIC non rompu a été découvert fortuitement, l'indication d'un traitement d'exclusion est bien plus discutée car le risque d'HSA est parfois très faible^{2,80}. Pour prévenir d'une HSA il faut soit empêcher la formation des AIC, soit les stabiliser et bloquer leur croissance, ou enfin les exclure de la circulation avant leur rupture.

5.2.1 - Traitement non invasif préventif de la rupture des AIC

A l'heure actuelle aucun traitement préventif de la formation des AIC n'a été prouvé chez l'Homme^{80,86,87}. Il est vrai l'AIC est une anomalie complexe, plurifactorielle et évolutive dans le temps, et imaginer un médicament ou un vaccin contre la formation des anévrysmes est difficile à concevoir. Par contre empêcher la croissance et/ou la rupture d'un anévrysme déjà présent est tout à fait envisageable. Mais là non plus, aucun traitement non invasif n'a permis de stabiliser les AIC et d'empêcher leur rupture.

Même si les essais cliniques n'ont pas fourni de données indiscutables il semble logique de traiter l'hypertension des personnes atteintes d'AIC non rompus, non seulement pour réduire le risque de rupture, mais aussi pour réduire le risque de maladie cardiovasculaire en général^{1,26,80}. Les antiagrégants plaquettaires sont largement utilisés dans la prévention de la maladie thrombo-embolique et dans l'AVC (Accident Vasculaire Cérébral) ischémique, mais leurs effets dans la prévention d'une HSA n'est pas clairement établie⁸⁶⁻⁸⁸. Les statines ont également été proposées, mais sans efficacité démontrée chez l'Homme⁸⁹.

5.2.2 - Traitement invasif préventif

Le traitement préventif invasif de l'HSA anévrysmale est extrêmement efficace^{79,90,91}. Qu'il s'agisse de la voie endo-vasculaire ou de la voie chirurgicale externe, le risque de saignement d'un anévrysme préalablement exclus est très faible^{82,90,91}. Pour la voie chirurgicale externe, il s'agit exactement du même type d'intervention que décrit plus haut, même si certaines variantes peuvent être apportées comme par exemple la réalisation de dérivation ou « by-pass » artériels qui sont plus difficile à réaliser à la phase aiguë de la rupture des AIC. Pour la voie endo-

vasculaire, de nombreuses variantes techniques sont employées comme l'utilisation de dispositif de protection du collet tels que les stents ⁹². Ces techniques endo-vasculaires plus complexes nécessitent parfois l'implantation de prothèse vasculaire dans les vaisseaux sanguins et ainsi l'utilisation de médicaments antiagrégant plaquettaires pour fluidifier le sang, ce qui est difficile à mettre en place à la phase aiguë de la rupture d'un AIC ^{92,93}.

Quelle que soit la voie d'abord, il semble que les complications opératoires soient moins importantes lorsqu'un AIC est traité à l'état non-rompu ⁸⁵.

Mais les patients sont la plupart du temps asymptomatiques et ces traitements peuvent être responsables de complications dramatiques ⁵⁷. Ainsi la décision opératoire pour le traitement préventif de l'HSA par exclusion des AIC non rompus est complexe et très controversée ^{21,80,94,95}. Il n'existe pas d'étude randomisée de grande ampleur sur laquelle fonder la décision de d'exclure préventivement un AIC ⁹⁴. Le risque procédural de 3 à 10 %, opposé au risque spontané de rupture de 0 à 10% par an et au bénéfice attendu pour le patient en fonction de son espérance de vie, doit faire apprécier l'indication opératoire toujours à l'échelle individuelle ^{1,80}.

5.2.3 - Gestion conservatrice des AIC

Si la décision est prise de ne pas exclure un AIC, les patients porteurs sont souvent surveillés à vie par imagerie pour détecter une éventuelle croissance ^{1,32,36}. Il n'existe pas d'autre type de surveillance particulière par exemple biologique. La croissance d'un AIC est évaluée de façon assez basique par augmentation de la taille et/ou parfois modification de l'aspect ^{45,47,96}. On comprend que ce type de surveillance présente des limites et d'importantes variations. Pourtant, des auteurs rapportent qu'une croissance de plus de 1 mm représente un risque accru de rupture

car elle suggère que l'AIC est ou a été instable^{26,44,47}. Un AIC qui est suspect d'évolutivité sera volontiers considéré pour un traitement d'exclusion préventif. Etablir la bonne fréquence de surveillance est difficile car nous avons vu que la croissance est discontinue dans le temps. Certaines équipes ont développé de nouveaux outils d'imagerie, notamment d'imagerie de haute résolution ou d'imagerie moléculaire permettant d'améliorer la pertinence de la surveillance en ne se limitant pas à des données morphologiques comme la taille⁹⁷⁻⁹⁹. Ces travaux sont prometteurs, et pourraient concerner un très grand nombre de patients.

5.2.4 - Impact psychologique des patients porteurs d'AIC non rompus

Le retentissement psychologique de se savoir porteur d'un AIC est souvent important¹⁰⁰⁻¹⁰². Plusieurs études concordantes ont montré que vivre avec un AIC non traité peut altérer la qualité de vie des patients qui les portent^{100,102}. Par contre les atteintes psychiatriques définies comme l'anxiété et la dépression ne semblent pas être plus fréquentes chez ces patients. A l'heure où l'information médicale circule, parfois sans contrôle, sur les médias numériques comment confronter l'angoisse des patients à la réalité des études qui préconise la gestion conservatrice des AIC ? Cependant l'amélioration de la qualité de vie après traitement ne semble pas être un argument déterminant pour appuyer l'indication d'exclure préventivement un anévrisme¹⁰¹. Aucune étude ou aucun consensus ne prend en compte l'impact psychologique chez les patients porteurs d'AIC non rompus dans l'indication thérapeutique alors qu'elle est couramment évoquée dans la pratique quotidienne des équipes pluridisciplinaires.

II - Mécanismes de la pathologie anévrysmale intracrânienne

L'absence de traitement non invasif et l'absence de consensus sur le traitement des AIC non rompus sont le corolaire direct d'un manque de connaissance des mécanismes physiopathologiques de la maladie anévrysmale. La connaissance des mécanismes de la pathologie anévrysmale intracrânienne pourrait ouvrir la voie au développement de traitements préventifs non invasifs ainsi qu'à la conception de futures études cliniques ou expérimentales sur les AIC non rompus.

L'étude des mécanismes de la pathologie anévrysmale intracrânienne est difficile et les AIC répondent de phénomènes complexes et évolutifs. Pourtant, au cours des dernières années, il est devenu évident que les AIC ne sont pas des dilatations passives des artères. Ils présentent plutôt des caractéristiques importantes de dégénérescence tissulaire et de remaniements inflammatoires^{12,34}. Ces détériorations localisées de la paroi artérielle se caractérisent par une destruction de la LEI associée à un amincissement et une désorganisation de la media^{12,33,34,48}.

Certains auteurs pensent que les incertitudes autour des mécanismes physiopathologiques de la maladie anévrysmale résultent de données contradictoires entre la formation des AIC et la rupture de ceux-ci^{1,103,104}. Ces phénomènes n'ont rien d'un *continuum* régulier, au même titre que leur évolution est irrégulière et imprévisible. Le fait de distinguer entre eux les différents états de l'AIC permet de les analyser indépendamment. Nous choisirons donc d'étudier les mécanismes de la pathologie anévrysmale intracrânienne en distinguant les différentes phases de l'histoire naturelle des AIC : la formation, la croissance et la rupture.

1 - Mécanismes de la formation des AIC

La connaissance actuelle des mécanismes de formation des AIC indique que de très nombreux facteurs sont impliqués^{4,43,105-109}. Citons les principaux : les facteurs hémodynamiques locaux et systémiques, les particularités structurales des artères et leur géométrie, les facteurs de risque vasculaire (y compris l'hypertension artérielle et le tabagisme), les prédispositions génétiques, les possibles anomalies des tissus de soutien. Tous semblent impliqués voire associés dans le processus de formation des AIC.

1.1 - Facteurs héréditaires et génétiques

1.1.1 - Formes familiales et héréditaires d'anévrismes

Les AIC se développent au cours de la vie et sont rares chez les patients de moins de 20 ans^{1,61}. Les formes sporadiques d'AIC sont souvent décrites comme étant les plus fréquentes et concerneraient 90 % des patients selon les études, minimisant ainsi l'importance des formes héréditaires d'AIC^{21,40,110}. Pourtant des formes familiales existent et des maladies héréditaires peuvent être associées aux AIC^{40,110,111}. Ainsi, la probabilité d'être porteur d'un AIC est 3 à 4 fois plus importante chez les personnes ayant un parent de premier degré diagnostiqué avec un AIC^{21,110}. En fait, l'incidence réelle de la forme sporadique des AIC est difficile à établir car difficile à isoler des différents facteurs de risque congénitaux éventuellement associés. Les anévrismes peuvent également être associés à des maladies syndromiques^{101,112,113}. La probabilité d'être porteur d'un AIC est 6 à 7 fois plus importante que la population générale chez les patients atteint d'une polykystose rénale autosomique dominante (PKRAD)¹¹³.

D'autres conditions syndromiques héréditaires comme la maladie de Marfan, la sclérose tubéreuse de Bourneville, le syndrome d'Ehlers-Danlos, la télangiectasie hémorragique héréditaire, et la neurofibromatose de Von Recklinghausen, sont moins fortement associées aux AIC ¹¹².

1.1.2 - Facteurs génétique de la formation anévrysmale

Les parents de premier degré de patients victimes d'HSA présentent un risque élevé de développer des AIC ^{40,114}. Des investigations génétiques dans des familles atteintes de formes familiales d'AIC ont permis d'identifier des *loci* génétiques associés à la formation des anévrysmes intracrâniens ^{111,115}. Ces *loci* génétiques incluent des gènes candidats intéressants codant pour les protéines structurales de la matrice extracellulaire notamment celle située sur le 7q11 près du gène qui code pour l'élastine (qui est un constituant de la paroi vasculaire comme nous l'avons vu plus haut ^{37,111,116,117}).

Des études génomiques dans des populations plus large de patients présentant des formes sporadiques d'AIC ont également été réalisées. Une méta-analyse comprenant des données provenant de 61 études génomiques, ont identifié trois polymorphismes nucléotidiques d'un seul nucléotide (SNP, single-nucleotide polymorphism) associés à la présence d'AIC intracrâniens sporadiques ¹¹⁸. Ces SNP résidaient dans des *loci* liés à une augmentation de l'incidence des maladies cardiovasculaires. Les polymorphismes communs étaient situés sur le chromosome 9 dans le gène CDKN2B-AS1, sur le chromosome 8 près du gène régulateur de transcription SOX17 et sur le chromosome 4 près du gène du récepteur de l'endothéline. Une étude expérimentale a par ailleurs montré qu'un déficit en Sox17 chez la souris peut induire des AIC dans des conditions d'hypertension artérielle systémiques ¹⁰⁵. Mais l'association la plus forte entre formation d'AIC et polymorphisme génétique était celle située sur 7q11 ^{106,111,118}.

On retiendra que des facteurs génétiques sont en partie responsables de la formation des AIC, peut-être plus dans les formes multiples et familiales et qu'ils concernent volontiers des constituants de la MEC.

1.2 - Vulnérabilité structurelle

1.2.1 - Vulnérabilité de la paroi des artère cérébrales

Comme nous l'avons vu, la paroi des artères cérébrales est structurellement distincte de celles des artères extra-crâniennes de même calibre. De nombreux auteurs partagent l'idée que ces particularités structurelles rendent les artères cérébrales sensibles à la formation d'anévrismes^{4,16}. D'ailleurs les anévrismes sacciformes se développent quasiment uniquement au niveau de la circulation cérébrale, rarement dans l'abdomen et exceptionnellement dans les autres artères du corps. La singularité structurelle des artères cérébrales (absence de LEE et environnement liquidien) serait leur « talon d'Achille » et provoquerai la formation des AIC. Plus précisément, au niveau d'une bifurcation artérielle, site classique de développement des AIC. Des études dont les résultats sont discutés semblent indiquer que la répartition des fibres élastiques de la LEI, précisément au niveau de la bifurcation est déficiente. Or, des études histologiques ont clairement mis en évidence cette altération de la LEI dans les AIC^{12,13,119}. Mais, la raison pour laquelle cette dégénérescence de la LEI ne se produit que chez certains individus reste non élucidée.

1.2.2 - Vulnérabilité du réseau artériel

Un autre élément pouvant être associé à la vulnérabilité structurelle des artères cérébrales est le réseau anastomotique dans lequel elles sont intégrées ^{103,109,120}. En effet, les variations anatomiques dans le polygone de Willis sont considérées comme un facteur important dans la formation de l'anévrisme intracrânien ¹⁰⁹. Des auteurs ont remarqué que les patients porteurs de bifurcations asymétriques ou alors dont les artères naissaient à angles particulièrement aigus étaient plus à risque de développer un AIC ¹²¹. On peut imaginer que l'altération des conditions d'écoulement hémodynamique causées par des variations anatomiques majore le risque de formation des AIC.

1.3 - Anomalies du tissu de soutien

Il existe des maladies, dites « maladies du tissu conjonctif » qui affectent directement la qualité des éléments de la MEC ^{59,112,122}. Ces maladies ne sont pas forcément héréditaires ¹²³⁻¹²⁵. Elles touchent parfois l'ensemble du réseau artériel systémique comme la dysplasie fibro-musculaire (DFM) par exemple. Par exemple, les patients atteints de DFM ont une prévalence d'AIC d'environ 7% ¹²⁶. Le caractère systémique de ces maladies peut se manifester par une atteinte de la paroi des artères cervicales et se traduire par des anomalies morphologiques identifiables, telles que des boucles, des plicatures, des tortuosités ou des anomalies de la lumière artérielle comme des irrégularités endo-luminales (IEL), des sténoses ou des dilatations. Le développement d'AIC au cours de ces pathologies suggère que l'AIC surviendrait dans un contexte de maladie artérielle plus diffuse. Cependant, les maladies du tissu conjonctif bien caractérisées sur le plan phénotypique sont très rares, y compris chez les patients porteurs

d'AIC. Pourtant, on peut envisager que des formes mineures de maladies du tissu conjonctif soient plus fréquentes et qu'elles se manifestent de manière diffuse par des anomalies artérielles à minima avec peu de manifestations cliniques systémiques. Très peu d'études ont analysé l'incidence réelle de ces anomalies dans les populations de patients porteurs AIC.

1.4 - Facteurs hémodynamiques

1.4.1 - Pression artérielle

Beaucoup d'études se sont intéressées aux facteurs hémodynamiques et à l'influence de l'écoulement du sang dans les artères sur la formation des AIC ^{5,6,27,104,120,127}. Ces études analysent les contraintes sur la paroi des artères et des AIC, soit sur des modèles d'anévrismes idéalisés, soit en sur des données cliniques obtenues par angiographie ou IRM. Divers modèles mathématiques ont été utilisés pour estimer la pression et le stress de cisaillement sur la paroi vasculaire. Concernant la pression, des études ont rapporté que les élévations de pression locales aux points de branchement et aux courbures dans les artères étaient de 1 mmHg, ce qui représente seulement 1-2% de la pression intravasculaire maximale ^{4,24}. L'augmentation de la pression à l'intérieur du sac anévrisimal provoquée par le flux dans l'AIC s'est avérée être encore plus faible. La pression artérielle locale ne semble pas être impliquée dans la formation des AIC.

1.4.2 - Stress de cisaillement

Par contre, des études sur modèles ont montré qu'au niveau de l'éperon d'une bifurcation, site classique des AIC, on retrouvait des contraintes hémodynamiques anormalement élevées dues à un stress de cisaillement important⁴⁻⁶. Ce stress de cisaillement est particulièrement important au niveau du point d'impact au sommet d'une bifurcation artérielle. De telles contraintes hémodynamiques associées à des conditions d'écoulement non physiologiques peuvent conduire à une perte de la fonction des cellules endothéliales et à un remodelage dégénératif de la paroi de l'artère touchant les constituants de la MEC et de la média de l'artère^{104,108}. Mais la pertinence de ces modèles est incertaine. En outre, la plupart des simulations restent purement mathématiques, avec une intégration limitée des données biologiques réelles. Pour une simulation plus précise, des données biologiquement pertinentes, telles que les gradients de pression artérielle intra-anévrysmale ou l'élasticité et la tension de l'anévrysme devraient être incluses.

1.5 - Changements moléculaire

1.5.1 - Impact du stress hémodynamique sur la paroi de l'artère

La vulnérabilité structurelle des artères cérébrales associée à des conditions particulières d'écoulement du sang et à un stress hémodynamique, sont souvent considérés comme le *primum movens* de la formation des AIC. L'hypothèse la plus couramment admise est que le stress exercé sur l'endothélium vasculaire pourrait activer de façon exagérée des voies de transcription du signal et notamment la voie Nitric Oxyde Synthase (NOS), associée à la formation des AIC dans les modèles expérimentaux. Certains auteurs ont détecté une

augmentation de l'expression de la NOS dans la paroi des AIC et l'inhibition du système NOS prévenait leur formation chez le rat ⁴¹. Cela indiquerait que la dérégulation de ce système NOS pourrait être due au stress de cisaillement induit dans le flux sanguin des artères. De manière générale la dysfonction endothéliale est souvent suspectée comme étant à l'origine de la formation des AIC ^{1,5,105,108}, que ce soit au niveau du système NOS ou bien d'autres comme le système rénine angiotensine aldostérone ¹²⁸. L'importance potentielle du rôle de l'endothélium dans la pathologie anévrysmale est soulignée par le fait qu'un locus de susceptibilité pour la formation des anévrysmes dans certaines populations se trouve sur le chromosome 8q dans une région est requise pour la formation et le maintien des cellules endothéliales ¹¹⁸. D'ailleurs l'endothélium est souvent la première zone atteinte histologiquement au début de la formation des AIC.

De plus, le stress hémodynamique peut déclencher un processus inflammatoire en activant les cellules endothéliales et inflammatoires. Une forte contrainte de cisaillement active les cellules endothéliales et régule les molécules d'adhésion des leucocytes y compris l'ICAM-1 et les chémokines telles que la protéine chimiotactique monocyttaire-1 (MCP-1) ⁴². Ces molécules attirent les neutrophiles et les monocytes en circulation, ce qui facilite leur invasion dans la paroi vasculaire et leur maturation ^{108,119,129}. Étant donné que les analyses moléculaires des modifications pré-anévrysmale ou proto-anévrysmale des artères intracrâniennes sont très difficiles à obtenir sur des échantillons humains, la plupart de nos connaissances actuelles concernant les changements moléculaires conduisant à la formation de AIC sont issues des modèles expérimentaux. Il semble que l'inflammation induite par la dérégulation endothéliale soit à l'origine des remaniements de la paroi artérielle qui provoque la formation des AIC.

1.5.2 - Le remodelage matriciel

L'événement clé dans la formation des AIC est la rupture des lamelles élastiques de la paroi de l'artère cérébrale ^{12,34}. La perte de l'élasticité de la paroi de l'artère conduit vraisemblablement à surexposer les autres constituants de la paroi, à savoir les fibres de collagène, à un stress mécanique plus important. Cela entraîne une usure et un processus de réparation et de maintenance des fibres de collagène avec un turn-over moléculaire plus important et une modification progressive de la composition de la MEC de la paroi de l'artère vers celle plus fragile de l'AIC ^{14,33,48,130}. Ce phénomène fondamental au niveau moléculaire et central dans la formation des AIC est appelé le remodelage matriciel.

Même si peu de voies de transduction du signal ont été à ce jour clairement mises en évidence, il semble que les CML vasculaires et les fibroblastes soient des acteurs cellulaires clés de ce remodelage. Ces cellules pathologiques synthétisent donc plus de collagène de types 1 et 5, qui sont les principaux constituants de la paroi des AIC par rapport aux collagènes 2 et 9 abondants dans la MEC de la paroi de l'artère normale ³⁴. Plusieurs phénomènes sont observés à ce stade : une modulation phénotypique des cellules musculaires lisses, une apoptose de ces CML, et un phénomène inflammatoire ³⁴. Une fois que les mécanismes moléculaires ne compensent plus la surcharge mécanique de la paroi vasculaire, l'inflammation cellulaire et humorale deviennent les principaux moteurs de la formation de l'anévrisme ⁶⁹. Ces réponses, qui sont médiées par des cytokines inflammatoires comme le facteur de nécrose tumorale (TNF), l'interleukine (IL-1 β) et surtout les métalloprotéinases matricielles (MMP), favorisent l'afflux de macrophages et la dégradation continue des fibres de collagène et d'élastine ^{14,69,119,131,132}. L'activation du facteur nucléaire kappa produit par les cellules inflammatoires réduit la synthèse du collagène dans la paroi de l'artère cérébrale ce qui favorise la formation des AIC ¹³⁰. MCP-1 est exprimée par les cellules de la paroi des AIC, plus précisément les CML. Son inhibition chez la souris empêche

la formation des AIC et diminue l'inflammation dans la paroi de l'artère ⁴². En outre, les macrophages qui s'infiltrent dans le site de formation des AIC produisent également des MMP (MMP-9 et MMP-2) qui dégradent la matrice de collagène de la paroi artérielle ^{131,133}. Ce qui perturbe encore l'équilibre entre la synthèse et la répartition des composants matriciels.

Ensemble, ces observations suggèrent que la perte de fonction des CML dans un environnement pro-inflammatoire et protéolytique entraîne une diminution de la synthèse du collagène et de la capacité de réparation de la MEC. Ce phénomène semble s'auto-entretenir et s'amplifier. Les mécanismes qui initient ces phénomènes de remodelage conduisant à la formation des AIC sont inconnus. Mais on imagine qu'un ou plusieurs acteurs moléculaires clefs qui se situeraient à la jonction des phénomènes pro-inflammatoires et protéolytiques puissent être impliqués. L'identification d'un tel acteur clef pourrait constituer une cible pour une thérapie médicamenteuse qui inhiber la formation de AIC.

2 - Mécanismes de la croissance des AIC

La croissance des AIC est bien plus facile à observer chez l'homme que leur formation^{26,36,45,96}. Même si les mécanismes de la croissance sont également difficiles à mettre en évidence, l'abondance de l'observation permet d'avoir une vision mieux documentée que la formation elle-même des AIC.

2.1 - Description de la croissance anévrysmale

La croissance des AIC est décrite comme discontinue et stochastique plutôt que linéaire^{1,16,47}. Les AIC peuvent ainsi stagner pendant une longue période avant de présenter des phases de croissance rapide au cours desquels ils sont particulièrement fragiles et sujets à rupture^{1,47}.

2.1.1 - Fréquence de la croissance anévrysmale

Les phénomènes de croissance anévrysmale sont assez fréquents quand on observe une population d'AIC non rompus^{26,36,45}. Selon les études cliniques on retrouve des incidences globales de croissance de 9% à 33,3%^{26,36,96}. Ces résultats bien que très hétérogènes suggèrent qu'un nombre important d'AIC augmentent de taille au moins une fois durant leur évolution naturelle. Dans une méta-analyse comprenant des données provenant de 3 990 patients avec 4 972 anévrysmes non rompus, 437 (9%) des AIC non rompus ont augmenté de taille sur une durée de suivi moyenne de 2,8 ans²⁶. Ces résultats soulignent la nécessité d'un suivi pour les patients chez qui une surveillance simple des AIC non rompus a été décidée⁸⁰. Il faut

comprendre que tous les anévrysmes n'ont pas forcément une longue croissance. Certains se développent et se rompent rapidement (de l'ordre de quelques mois). La croissance des AIC est plus fréquente que le développement d'anévrysmes *de novo*, avec une incidence de 5,9% sur 5 ans seulement ³⁶.

2.1.2 - Facteurs de risques

Les facteurs de risques de la croissance anévrysmale sont également bien documentés ^{26,53,60}. Il s'agit de l'intoxication tabagique, le sexe féminin, l'HTA, la présence d'AIC multiples et la localisation dans la circulation postérieure. Le taux de croissance était plus élevé pour les anévrysmes de la circulation postérieure (3,8% par an) par rapport aux anévrysmes de la circulation antérieure (2,7% par an). De même des facteurs propres à l'AIC, comme la forme allongée, la surface multilobée, ou la taille initiale ont été rapportés ^{55,96}.

2.2 - Changements structurels durant la croissance

Pendant la phase de croissance des changements structurels interviennent et le remodelage matriciel se poursuit et s'intensifie ^{1,16,34}.

Une publication très intéressante a étudié l'âge du collagène de type I par datation au carbone 14 dans des échantillons prélevés chez l'homme ^{33,48}. On a vu que collagène de type I était un des principaux constituants de la MEC remodelée dans la paroi des AIC, et qu'il était synthétisé au cours de la formation et surtout pendant la croissance des AIC. Les auteurs ont rapporté que le renouvellement collagène de type I et le remodelage étaient particulièrement accélérés dans

la paroi des anévrysmes de patients exposés à des facteurs de risques cardiovasculaire comme le tabac et l'HTA ¹¹⁴.

Les mécanismes moléculaires qui induisent un remodelage vasculaire et provoquent la croissance des AIC sont semblables à ceux qui provoquent leur formation. Une fois que la modulation phénotypique des CML a été initiée lors de la formation, le remodelage matriciel de la MEC passe au premier plan des mécanismes moléculaires et parmi eux les principaux effecteurs de ce remodelage, les MMP.

2.3 - Les métalloprotéases matricielles

2.3.1 - Activation des MMP

Les MMP sont un groupe de protéases ubiquitaires dans tout le corps et qui servent principalement de médiateurs physiologiques de la dégradation de la MEC ^{13,131,132}. Elles sont capables de dégrader les protéines structurales de la MEC comme les différents collagènes, l'élastine, les protéoglycans, la laminine et la fibronectine et sont sécrétées sous forme de zymogènes. Les MMP sont subdivisés en six groupes en fonction des composants de la MEC qu'elles dégradent. Parmi elles, des études ont montrés que les isotypes MMP-2 et MMP-9 jouent un rôle important dans la croissance des AIC ¹³¹. MMP-2 est responsable de la dégradation des collagènes de type I et III, qui constitue une part importante de la MEC des AIC, et la MMP-9 dégradent l'élastine.

L'activation des MMP se produit par clivage du zymogène au niveau de motifs protéiques spécifiques, par les MMP ou d'autres protéinases ¹³⁴. On comprend que l'activation des MMP

peut donc se faire « en cascade » sous l'effet d'un signal activateur ¹³. De nombreuses cellules de la paroi artérielle peuvent produire des MMP. Il s'agit des cellules endothéliales, des CML et les fibroblastes, mais aussi les cellules inflammatoires, qui migrent dans la paroi au cours de la croissance de l'anévrisme ^{13,69,119,131}.

2.3.2 - Dérèglement de l'activation

Ces MMP possèdent des inhibiteurs naturels présents également dans la MEC les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases (TIMP) ¹³⁵. L'activité enzymatique des MMP est souvent indétectable dans la paroi de l'artère normale, mais certains auteurs ont montré que MMP-2, TIMP-1 et TIMP-2 sont synthétisés par les CML. Dans des conditions physiologiques normales, l'expression et l'activité des MMP sont régulées au niveau de la transcription, du clivage et de l'activation des zymogènes, *via* l'interaction avec les composants de la MEC, en plus d'être étroitement contrôlée par l'expression associée des inhibiteurs. Dans des conditions pathologiques, un déséquilibre entre l'expression de MMP et TIMP s'installe ^{130,135,136}. On ignore si l'expression et l'activité des MMP sont augmentées *via* un effecteur inconnu ou si l'expression de TIMP et d'autres inhibiteurs potentiels sont diminués pendant la progression des anévrismes intracrâniens ?

2.4 - Infiltration inflammatoire de la paroi artérielle

L'implication potentielle de l'infiltration inflammatoire dans la croissance des AIC est très documentée chez l'animal mais aussi chez l'homme ^{17,119}.

2.4.1 - Un phénomène bien documenté

La présence de cellules inflammatoires ou de marqueurs de différenciation est retrouvée dans des échantillons d'AIC ou de sérum de patients porteur d'AIC ^{12,13}. Certaines études ont également rapporté la présence de lysosome extracellulaire dans la paroi de l'AIC, au niveau de la LEI, là où celle-ci est altérée ¹³⁷. La présence de macrophages mais également de lymphocytes-T dans la paroi anévrysmale a été rapportée ^{69,131}. Cette infiltration de cellules inflammatoires apparaît diffuse dans toute la paroi anévrysmal, indiquant que l'inflammation est plutôt une réaction généralisée. Dans une étude sur prélèvement opératoire, cette infiltration de la paroi est moins importante dans les AIC non rompus par rapport aux AIC rompus ¹². Les associations entre rupture et inflammation dans ces études histologiques doivent être interprétées avec précaution. En effet on ne sait pas si l'infiltration inflammatoire dans les AIC est due à la rupture elle-même ou à un épiphénomène. Cependant, cela n'explique pas la présence de cellules inflammatoires dans les AIC non rompus, largement rapportée.

2.4.2 - Inflammation et instabilité anévrysmale

Plusieurs études assez récentes chez l'homme se sont intéressées à la relation entre l'inflammation de la paroi de l'anévrysme et sa stabilité ^{88,97,99}. Ces études ont exploité la prise de contraste de la paroi anévrysmale à l'IRM. Dans une étude prospective, l'inflammation de la paroi de l'anévrysme indirectement visualisée à l'IRM, était liée à la croissance ou à la rupture de l'anévrysme ⁹⁸. Dans une autre étude un agent original, le ferumoxytol a été utilisé pour visualiser les macrophages dans la paroi de l'anévrysme comme marqueurs d'inflammation ⁹⁷. L'absorption précoce du ferumoxytol témoignant d'une inflammation dans la paroi de l'AIC, a

été confirmée par des analyses histologiques ultérieures et serait prédictive de l'instabilité de l'anévrisme. L'inflammation semble donc participer au déséquilibre structurel de la paroi et donc à la croissance de l'AIC.

2.4.2 - L'équilibre instable de la paroi anévrysmale

La stabilité de l'anévrisme dépend d'un équilibre entre deux processus concurrents : la réparation de la MEC de l'AIC par le renouvellement du collagène eutrophique et la régénération de la matrice extracellulaire versus la destruction de la MEC par les MMP et la synthèse de collagène dystrophique. L'intégrité de la paroi des AIC est perdue lorsque les événements destructifs s'imposent face aux processus de régénération de la paroi. Les macrophages infiltrant la paroi libèrent non seulement des cytokines pro-inflammatoires qui conduisent au recrutement de cellules inflammatoires supplémentaires, mais aussi à la libération de MMP qui digèrent la matrice extracellulaire de la paroi artérielle et causent d'autres dommages *via* une régulation positive d'autres protéinases. Il a été démontré que l'expression des MMP dérivées de macrophages était étroitement associée à la croissance de l'anévrisme et que l'inhibition sélective de ces MMP bloquait la progression de l'anévrisme^{69,130,131,136}. On peut imaginer que des thérapies ciblant l'activation des macrophages et la libération de MMP dans la paroi anévrysmale pourraient bloquer la croissance de l'anévrisme.

2.5 - Voies alternes d'activation des MMP

2.5.1 - Les protéines plasmatiques

Indépendamment du stress hémodynamique et de la dysfonction endothéliale que nous avons évoqués plus haut, l'activité des MMP est inductible par différentes voies de signalisation^{119,132,134,138}. En effet, certaines molécules circulant dans le plasma sanguin et liées aux cellules endothéliales sont capables de les activer. Par exemple, les sérines protéases, la kallikreine et la plasmine sont capables d'activer diverses MMP, en particulier MMP-9^{132,134}.

2.5.2 - Les protéases à sérine

Les protéases à sérine, ou sérine protéase, sont une famille d'enzymes ubiquitaires dans l'organisme. Elles participent à de très nombreux mécanismes biologiques dont dépendent des fonctions indispensables à l'organisme. Elles interviennent à des étapes clés des voies de signalisation, notamment de l'apoptose et de la différenciation cellulaire, du remodelage matriciel, de la réponse immunitaire, de la fibrinolyse physiologique ou encore de l'angiogenèse. Ces enzymes sont capables de cliver les liaisons peptidiques entre les acides aminés d'une protéine. La plasmine et l'activateur tissulaire du plasminogène appartiennent aux sérines protéases. Ces protéines qui induisent l'activation des MMP pourraient jouer un rôle important dans leur sur-activation et donc dans la formation et le développement des AIC. Plus précisément, la plasmine est une molécule formée lors du clivage de son précurseur, le plasminogène, par l'activateur tissulaire de plasminogène (tPA). La plasmine active les MMP en clivant les zymogènes pro-MMP. De plus, la plasmine peut elle-même cliver les

glycoprotéines de la MEC, ce qui rend ses composants fibrillaires plus vulnérables à la destruction ultérieure des MMP ^{134,139,140}. Une étude très intéressante rapporte qu'une expression localisée de plasmine a été observée dans la paroi des AIC ¹³.

Ces voies alternes d'activations des MMP dans la croissance des AIC sont peu décrites et peu explorées. Pourtant, dans le cadre des AIC, l'axe tPA/Plasmine/MMP possède des caractéristiques très intéressantes que nous verrons un peu plus tard.

3 - Mécanismes de la rupture des AIC

De nombreuses études ont essayé de prévoir le risque de rupture des AIC pour aider à affiner la prise de décision. Pourtant la prédiction fiable du risque de rupture reste très difficile.

3.1 - Facteurs affectant la rupture des AIC

Une méta-analyse sur le risque de rupture d'un total de 10 272 AIC non rompus a identifié six facteurs de risque indépendants favorisant la rupture ⁵⁵. Il s'agissait d'un âge ≥ 70 ans, d'une HTA associée, d'un antécédent d'une autre HSA anévrysmale, de la taille et la localisation de l'anévrysmes, ainsi que l'endroit de résidence du patient en Finlande ou au Japon. Le score de PHASES (Population, Hypertension, Age, Size, Earlier HSA, Site of aneurysm) a même été créé pour estimer le risque de rupture d'un AIC. Ce score permet des estimations pour un risque de rupture à 5 ans de 0,3% à plus de 15%. L'utilisation de ce score en pratique clinique n'a jamais fait l'objet d'une étude prospective ^{1,95,141}. Mais cela permet de prendre en compte les facteurs de risques les plus importants associés à la rupture. Le tabagisme est également un facteur de risque de rupture d'AIC, comme souligné dans de nombreuses études ^{43,142}.

3.1.1 - Taille et forme des AIC

Certains facteurs propres aux AIC eux-mêmes sont couramment impliqués dans la survenue d'une rupture.

La taille des AIC non rompus a souvent été décrite comme le plus important facteur de risque de rupture. Pourtant dans la pratique courante, de très nombreux patients victimes d'HSA présentent de petits anévrysmes (< 5 mm)^{44,143}. Une étude montre d'ailleurs que dans le cas de ces petits AIC non rompus, la taille est un mauvais critère de jugement du risque de rupture⁴⁴.

La morphologie de l'AIC, à savoir, une irrégularité de sa surface ou la présence d'un sac fille, sont des facteurs de risque de rupture indépendants de la taille^{27,28,109}. L'angle d'entrée du sang dans l'AIC ou « impact flow » de la circulation sanguine dans l'anévrysme influence également le risque de rupture quand le flux est direct plutôt que quand celui-ci est plus courbe¹²⁰.

3.1.2 - Facteurs familiaux et génétiques

Les formes familiales d'AIC sont également plus associées à la rupture^{40,114}. Le taux annuel de rupture est 17 fois plus élevé chez les patients ayant des antécédents familiaux⁴⁰. Ces AIC familiaux se rompent à un âge plus jeune, en moyenne 5 ans plus tôt, et à une plus petite taille.

Les facteurs génétiques peuvent avoir un rôle dans la rupture de l'anévrysme. Une étude très intéressante sur des échantillons d'anévrysmes rompus *versus* contrôle a mis en évidence 1489 expressions différentielles de gènes dans les anévrysmes rompus par rapport aux non rompus¹³⁷. Concernant la rupture des AIC, l'induction des voies de signalisation impliquées dans la réponse immunitaire et dans la production de lysosome semblent privilégiée par rapport à celle impliquée dans le remodelage de la MEC^{98,119,137}.

3.2 - Changements structuraux et moléculaires

3.2.1 - Modification structurales à l'origine de la rupture

On sait que les propriétés mécaniques de la paroi d'un AIC vont se dégrader avec la croissance de l'AIC jusqu'à parfois devenir insuffisantes pour résister aux contraintes de l'écoulement sanguin. Lorsque les résistances mécaniques de la paroi sont dépassées par rapport à la contrainte hémodynamique, l'AIC se rompt.

La rupture d'un AIC est un événement brutal et court et les modifications structurales qui en sont responsables sont parfois difficiles à distinguer de celles associées à leur croissance. Cependant, certaines particularités sont pourtant observées pendant la phase de rupture par rapport à la phase de croissance des AIC. Notamment une accentuation de l'infiltration inflammatoire. Certains auteurs rapportent que les réactions inflammatoires humorales et cellulaires dans la paroi de l'anévrisme sont prépondérantes et particulièrement accentuées au moment précis de la rupture ^{12,13}.

3.2.2 - Changements moléculaires

Une évaluation histologique d'AIC considérés comme étant à très haut risque, sur la base d'imagerie fonctionnelle de l'inflammation, puis prélevés chirurgicalement, a montré une infiltration par les lymphocytes T, les polynucléaires neutrophiles et les mastocytes et non pas que des macrophages ⁶⁹. Un déséquilibre entre les macrophages M1 pro-inflammatoires et les macrophages M2 anti-inflammatoires a également été décrit ^{1,119}. Les enzymes inflammatoires

clés de la cyclooxygénase-1 (COX-1) et de la cyclooxygénase-2 (COX-2), qui catalysent la synthèse de prostaglandines à partir de l'acide arachidonique, sont également considérées comme des composants importants dans les mécanismes de la rupture de l'anévrisme^{86,88}. Des auteurs rapportent d'ailleurs que l'inhibition de la COX-2 par l'aspirine réduit l'inflammation et la rupture des AIC chez la souris^{86,88}. Bien que l'aspirine semble avoir un effet protecteur sur l'inflammation de la paroi et donc sur le risque de rupture, les mécanismes exacts sont encore incertains et les résultats d'études cliniques chez l'homme ne sont pas concluants.

3.3 - Evènements déclenchant la rupture des AIC

Plusieurs facteurs sont décrits comme étant des évènements déclenchant la rupture des AIC¹⁴⁴. On parle alors d'effet « trigger » terme anglo-saxon signifiant « gâchette ». Comme la rupture d'un AIC est brutale et symptomatiquement très bruyante il est tout à fait possible de retrouver à l'interrogatoire du patient son activité au moment précis de la rupture. On retrouve ainsi les efforts défécatoires, la surconsommation de caféine, l'éternuement, les accès de colère, les chocs émotionnels, les rapports sexuels, et l'exercice physique intensif^{1,144}.

Les circonstances déclenchantes pour lesquelles le nombre de patients est le plus important sont la consommation de café (10,6%) et l'exercice physique intensif (7,9%). Les risques relatifs pour ces facteurs trigger vont de 2 pour la surconsommation de caféine à 20 pour le choc émotionnel. Tous ces effets « trigger » ont en commun d'induire une augmentation rapide et brutale de la tension artérielle. C'est le moment précis où la contrainte hémodynamique surpasse brutalement la résistance mécanique de la paroi anévrysmale qui atteint son point de rupture. Cependant, si ces triggers déclenchent la rupture anévrysmale ils ne semblent pas la favoriser. Par exemple, les patients porteurs d'AIC non rompus devraient supprimer 1,3

millions de rapports sexuels (soit 20 000 ans d'activité sexuelle pour les gens normaux...) pour éviter une seule rupture d'anévrisme.

III - Vers une amélioration des stratégies thérapeutiques

1 - Etat des lieux des stratégies thérapeutiques

Si l'HSA anévrysmale reste associée à de nombreuses incertitudes, elle n'en reste pas moins une condition pathologique particulièrement grave, brutale et qui touche de surcroît des patients plutôt jeunes avec un coût social estimé à deux fois celui d'un AVC ischémique¹⁴⁵. Un effort tout particulier de la communauté scientifique est nécessaire pour lever les doutes et améliorer la prise en charge des patients.

1.1 - Une amélioration du devenir des patients

Malgré les stratégies de dépistage et de traitements préventifs, la diminution de l'incidence des HSA au cours des 25 dernières années est très discutée. Les études divergent en fonction de la géographie des populations étudiées^{29,31}. Par contre plusieurs études récentes avancent que la mortalité des HSA a diminué significativement durant cette période²⁹. Confirmant l'impression acquise « sur le terrain » par ceux qui traitent les patients atteints d'HSA. Le devenir clinique des patients s'est amélioré au cours des deux dernières décennies. Les raisons de cette amélioration sont nombreuses^{29,146}. Elles incluent un meilleur diagnostic radiologique, l'apparition et le perfectionnement de la voie endo-vasculaire, et la prise en charge plus agressive des complications de l'HSA en particulier du vasospasme cérébral. D'autres progrès ont eu lieu dans le traitement préventif de l'HSA grâce à la prévention des facteurs de risque (tabagisme, HTA, ...), une meilleure identification des populations à risque de rupture (scores, imagerie, ...), une diminution des risques des traitements.

Ces résultats sont encourageants, mais ils ne sont en rien dus à une meilleure connaissance des mécanismes de la pathologie anévrysmale, il s'agit juste d'une amélioration des standards diagnostiques et thérapeutique. Aucune nouvelle stratégie thérapeutique efficace n'a vu le jour depuis l'émergence du traitement endo-vasculaire il y a 30 ans.

L'ensemble du travail exposé ici a eu pour but de participer à cet effort scientifique dans le but de mieux comprendre la pathologie anévrysmale intracrânienne, et qui pourrait être la base de nouvelles stratégies améliorant le traitement des AIC.

2 - De la méconnaissance des mécanismes à l'observation clinique

2.1 - L'AIC et l'artère qui le porte

De nombreux axes de recherche sont explorés pour élucider les mécanismes à l'origine de la formation, de la croissance et de la rupture des AIC. La plupart de ces études ont tendances à considérer les AIC comme des maladies en soit, circonscrites à la déformation de la paroi artérielle. Par exemple les analyses histologiques ne concernent la plupart du temps que les fragments de paroi d'anévrysmes et rarement les portions d'artères adjacentes ¹². Pourtant, l'AIC étant une anomalie de la paroi artérielle, il apparaît licite d'étudier les mécanismes de la pathologie anévrysmale en étudiant les artères qui les portent. Or, les AIC se développent uniquement sur les territoires vasculaires de quatre artères cervicales issues des troncs supra-aortiques, les artères cervicales à destinées encéphaliques (les deux carotides internes et les deux vertébrales). Il est difficile d'exclure une pathologie vasculaire des vaisseaux qui la portent tant on sait que les conditions structurelles sont importantes dans ce type de pathologie. Il apparaît donc cohérent de rechercher et d'étudier rigoureusement d'éventuelles anomalies des artères cervicales à destinées encéphaliques chez les patients porteurs d'AIC. Au vu de la littérature actuelle, ce type de démarche scientifiques est très originale.

2.2 - Anomalie des artères cervicales à destinées encéphaliques

Nous avons vu que lors de la prise en charge par voie endo-vasculaire des patients porteurs d'AIC (rompus ou non), l'on procède à la navigation de matériel depuis l'artère fémorale jusque dans les artères cervicales à destinée encéphalique. Ce temps opératoire, fondamental pour

l'opération intracrânienne, nous permet d'observer presque « par hasard » ces artères qui portent les AIC, parfois 20 ou 30 centimètre en aval du flux dans la boîte crânienne. Nous avons remarqué que chez les patients porteurs d'AIC ces vaisseaux sont très souvent le siège d'anomalies morphologiques, parfois non spécifiques. Qu'il s'agisse d'anomalies du trajet ou d'anomalies de la lumière artérielle, certaines font l'objet de descriptions, mais rares sont celles qui sont étudiées ou décrites comme de réelles entités nosologiques.

Nous avons déjà parlé des maladies dites maladie du tissu de soutien qui affectent directement la qualité de ces éléments matriciels et qui touchent parfois l'ensemble du réseau artériel systémique comme la DFM¹⁴⁷. Ces maladies peuvent se manifester par une atteinte de la paroi des artères cervicales et se traduire par des anomalies morphologiques identifiables, telles que des boucles, des plicatures, des tortuosités ou des anomalies de la lumière artérielle comme des irrégularités endo-luminales (IEL), des sténoses ou des dilatations^{112,123,148}. Pourtant, comme nous l'avons vu, ces maladies du tissu conjonctif bien caractérisées sur le plan génétique et phénotypique sont très rares, y compris chez les patients porteurs d'AIC. Mais, on peut envisager que des formes mineures de maladies du tissu conjonctif soient plus fréquentes et qu'elles se manifestent de manière diffuse par des anomalies artérielles à minima avec peu de manifestations cliniques systémiques. Ainsi, si les AIC sont associées à une atteinte vasculaire plus généralisée et la plupart du temps occulte on devrait s'attendre à retrouver ces anomalies plus fréquemment que dans une population contrôle.

C'est sur la base de cette observation et de ces hypothèses que nous avons réalisé le premier travail publié dans cette thèse.

3 - De l'insuffisance du traitement à l'expérimentation animale

3.1 - Dangers de l'exclusion préventive des AIC

Comme nous l'avons déjà dit plusieurs fois, un nombre croissant d'AIC non rompus sont détectés, en partie en raison de l'utilisation accrue des techniques d'imagerie cérébrale^{62,63}. La décision d'exclusion des AIC non rompus n'est pas standardisée aussi et surtout parce que les thérapeutiques employées sont associées à des complications graves. Si le taux de morbi-mortalité tout venant est de 3 % globalement pour la plupart des centres il est parfois proche de 10% ou 15 % dans le cas d'anévrismes plus complexes^{93,149,150}. Le risque de l'exclusion préventive des AIC est trop important et paraît incompressible. Les conséquences sont parfois catastrophiques et impossible à anticiper. De nouvelles stratégies thérapeutiques ont été développées ces dernières années. Pour la voie externe citons l'angiographie per-opératoire à la fluorescéine. Pour la voie endo-vasculaire citons les stents à diversion de flux, les cages intra-anévrysmales ou encore les dispositifs complexes de protection du collet comme le Pconus^{93,150-152}. Ces nouveaux dispositifs ne sont pas moins dangereux pour le patient. Aucune amélioration technique d'envergure n'a permis de réduire le risque de l'exclusion préventive du fait d'un risque opératoire incompressible.

3.2 - Vers les traitements pharmacologiques préventifs

Comme nous l'avons vu, il n'existe actuellement aucun traitement non invasif préventif de la rupture des AIC qui ne soit validé, ou même en cours d'étude chez l'homme. Cette carence en traitement s'explique par la méconnaissance des mécanismes moléculaires mais aussi par

l'absence, dans le passé, de modèles expérimentaux appropriés pour la réalisation d'études précliniques dans la stabilisation pharmacologique des AIC.

3.3 - *Modèle murin d'AIC*

A la fin des années 2000, l'équipe de T.Hashimoto a développé un nouveau modèle d'AIC chez la souris ^{153,154}. Ce modèle est particulièrement intéressant car il est au plus près des réalités de la pathologie anévrysmale intracrânienne.

Alors que les modèles animaux développés jusque-là ne correspondaient qu'à des anomalies morphologiques induites chirurgicalement et pouvaient même se situer hors de la boîte crânienne ¹⁵⁵. Le modèle de Hashimoto présente les principales caractéristiques pathologiques des AIC et de l'histoire naturelle de la pathologie chez l'humain (figure 6). En effet il permet l'induction d'AIC situés sur des bifurcations artérielles du polygone de Willis et de ses principales branches. Histologiquement, les AIC formés dans ce modèle ressemblent étroitement à ceux chez l'Homme et peuvent rompre spontanément. Les souris deviennent alors symptomatiques, victimes d'une HSA, et il ainsi possible de détecter la rupture de l'AIC *in vivo*. La ressemblance est même assez frappante quand on voit que les souris peuvent également présenter des authentiques complications de l'HSA comme chez l'Homme, à savoir l'hydrocéphalie aiguë (figure 6-D) ou le re-saignement anévrysmal précoce. L'induction des anévrysmes est rendue possible par l'action combinée de l'HTA et la rupture de la LEI ^{153,154}. La dégradation de la LEI est induite par une seule injection d'élastase dans le LCR par voie stéréotaxique. L'HTA est induite par une perfusion continue d'angiotensine II humaine. Ce modèle animal est très reproductible et entraîne une incidence élevée d'anévrysmes intracrâniens au cours d'un temps d'incubation de quelques jours. Ce modèle peut être utilisé

Figure 6 : Aspect du modèle murin d'AIC

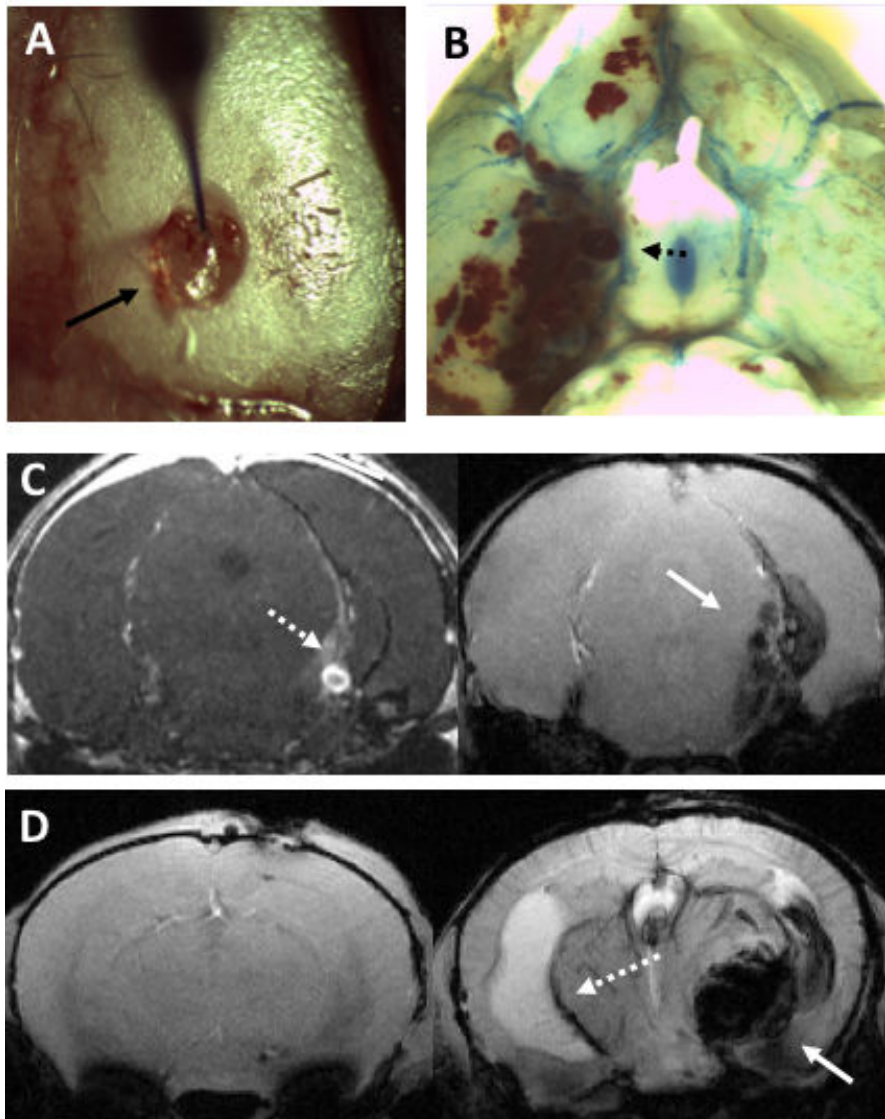


Figure 6 **A)** Photographie représentant l'injection stéréotaxique à travers une minime craniotomie (flèche noire pleine) pratiquée chez une souris anesthésiée. **B)** Photographie à la loupe binoculaire du prélèvement autopsique d'un cerveau chez une souris ayant présenté une HSA par rupture d'un AIC induit. Les artères cérébrales ont été préalablement opacifiées au colorant bleu. **C)** IRM 7T illustrant la détection d'un AIC rompu chez une souris symptomatique. À gauche séquence 3DT1 avec injection de gadolinium montrant l'AIC (flèche blanche pointillée). À droite, sur une séquence T2* on visualise l'HSA (flèche blanche pleine). **D)** Sur une IRM en T2* chez un animal asymptomatique à J2 (à droite). Le même animal très symptomatique à J8, sur le même plan de coupe, on visualise une HSA associée à un hématome intra-parenchymateux (flèche blanche pleine) et une hydrocéphalie (flèche blanche pointillée).

pour étudier les voies moléculaires qui sont potentiellement impliquées dans la physiopathologie des AIC, mais également étudier l'incidence de formation et de rupture des AIC. Ce modèle est applicable à tous type de souris, y compris des souris transgéniques. Des thérapies pharmacologiques peuvent être administrées en parallèle aux souris et testées dans différents groupes afin de comparer l'incidence de la rupture anévrysmale en fonction des traitements administrés ¹⁵⁶.

Ce modèle représente un outil formidable pour mieux comprendre la pathologie anévrysmale intracrânienne et pour améliorer les stratégies thérapeutiques dans le cadre des AIC. Nous sommes les premiers à avoir travaillé sur ce model en France. Nous y avons ajouté certaines modifications notamment un score clinique d'évaluation et un suivi par micro-IRM des animaux, et nous avons par ailleurs amélioré le rendement du modèle avec près de 100% d'anévrysme induit chez les souris.

4 - Une voie alterne de la promotion du remodelage matriciel : l'axe tPA/AIC

4.1 - De l'intérêt de l'étude des voies alternes

Sur la base de cet excellent modèle expérimental nous avons voulu explorer des voies de signalisation inédites dans la pathologie anévrysmale intracrânienne. Il se trouve que les voies de l'inflammation sont déjà très explorées et documentées sans pour autant avoir amélioré les stratégies thérapeutiques. L'inflammation, omniprésente dans la lecture de la recherche expérimentale sur les AIC est peut-être un facteur de confusion. C'est la raison pour laquelle l'étude de voie alterne du remodelage matriciel comme la voie de la fibrinolyse *via* l'axe tPA / Plasmine / MMP représentait une opportunité scientifique incroyable.

4.2 - L'activateur tissulaire du plasminogène : le tPA

L'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) est une protéase à sérine ayant pour substrat principal le plasminogène. Le tPA est composé de 5 domaines structuraux : un domaine « Finger » situé en amino-terminal^{157,158}. Ce domaine assure l'affinité de la fibrine. Deux domaines Kringle, un domaine sérine protéase et un domaine « épidermal growth factor-like ». Le tPA est synthétisé et exprimé par les cellules endothéliales, il existe une fraction circulante très faible¹⁵⁸. Il est synthétisé et stocké sur les cellules endothéliales de l'intima, mais il peut également être transduit à travers la media de la paroi artérielle pour gagner le parenchyme cérébral ou l'adventice. Le tPA sous sa forme recombinante (rtPA) est un médicament thrombolytique qui représente le traitement de référence de l'Accident Vasculaire Cérébral (AVC) ischémique à la phase aiguë¹⁵⁹. Le tPA est un des principaux effecteurs de la fibrinolyse

physiologique. En conditions physiologiques, il y a peu ou pas de génération de plasmine dans la circulation et elle est indétectable dans la paroi des vaisseaux^{157,158}. Dans le compartiment sanguin le tPA est suractivé par la fixation de son substrat, le plasminogène, sur la fibrine : il clive alors le plasminogène en plasmine ce qui la rend active.

Au-delà de sa fonction fibrinolytique, le tPA a récemment été impliqué dans de nombreuses voies de signalisation tant au niveau vasculaire que tissulaire^{157,158,160,161} (Figure 7.A) Ces découvertes récentes l'impliquent notamment dans les processus du remodelage matriciel *via* l'activation de protéases de la famille des (MMP) (Figure 7.B). D'autres études récentes impliquent également le tPA en tant qu'agent chimiotactique pro-inflammatoire^{162,163}. Or, on sait que l'infiltration inflammatoire de la paroi artérielle est impliquée dans la croissance des AIC. Le tPA apparaît comme un acteur potentiel du remodelage imputé aux métalloprotéases^{139,140,158}. Il pourrait donc être cet « intermédiaire moléculaire », cet « effecteur inconnu » qui déséquilibre le remodelage matriciel et qui serait un acteur central de la pathologie anévrysmale intracrânienne.

4.3 - Implication du tPA dans la pathologie anévrysmale intracrânienne

L'unité de recherche INSERM SP2U que j'ai rejoint à l'automne 2013, alors interne au CHU de Caen, dirigée par le Pr Vivien, est spécialisée dans l'étude du tPA et de ses nombreuses voies de signalisation. Un travail scientifique incroyable sur le tPA avait déjà été réalisé en marge du traitement des AVC ischémiques. J'ai eu la chance de pouvoir importer mes problématiques inédites au laboratoire concernant les anévrysmes intracrâniens et de profiter de l'expertise de toute l'équipe SP2U sur la recherche sur le tPA.

Figure 7 : Le tPA, une sérine-protéase au centre de l'unité neurovasculaire

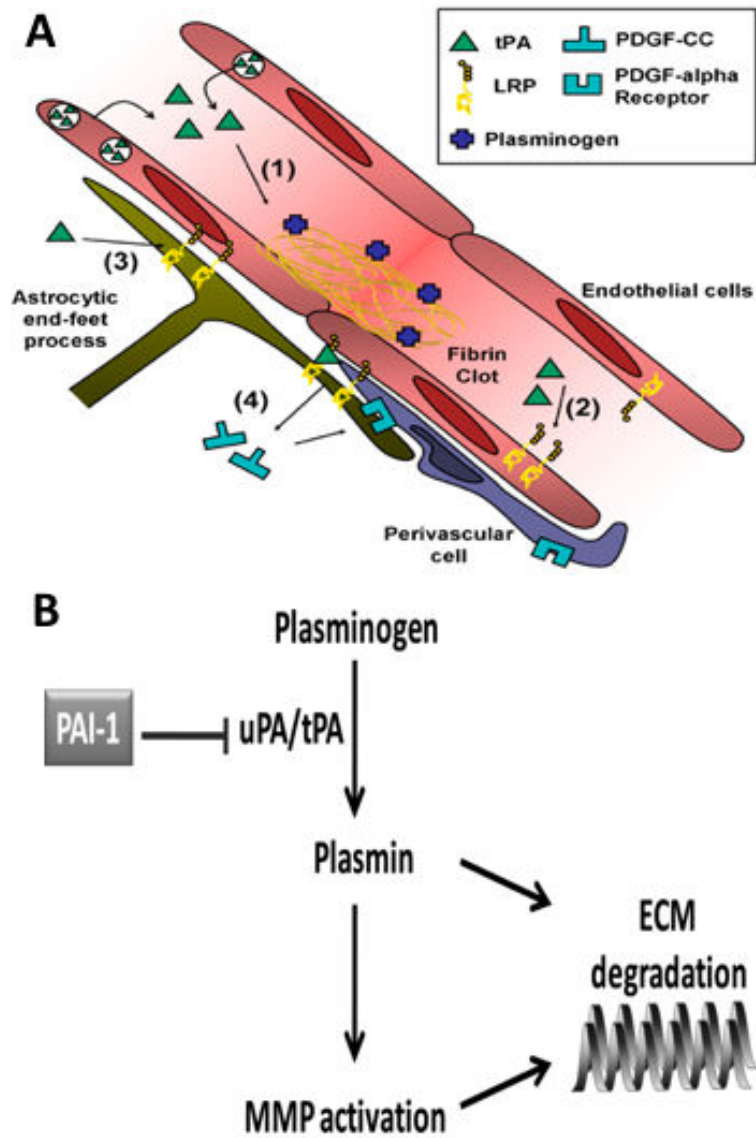


Figure 7 A) Schéma illustrant le lien entre le tPA et l'unité neuro-vasculaire. Notamment sa capacité à franchir la barrière hémato-encéphalique, et certains de ses effecteurs comme LRP et PDGF-C. (D'après Vivien *et al.*) **B)** Principale voie d'activation de remodelage matriciel et de l'activation des MMP par le tPA et la plasmine.

Par ailleurs le tPA est à l'interface de l'ensemble des phénomènes décrit dans les mécanismes de la pathologie anévrysmale intracrânienne depuis le stress hémodynamique au remodelage pariétal en passant par l'endothélium.

C'est sur la base de ce raisonnement et de ces hypothèses que nous avons réalisé le deuxième travail publié dans ce manuscrit.

5 - Pharmacostabilisation des AIC sur modèle murin

La découverte d'une nouvelle voie d'activation du remodelage matriciel de la paroi anévrysmale nous a permis d'imaginer de nouvelles stratégies thérapeutiques. Nous pensons que ces hypothèses, plus près de la réalité moléculaire de la progression des AIC, pouvait être confrontée à une étude préclinique. L'objectif était de tester des molécules susceptibles d'empêcher la formation ou la rupture des AIC induits chez les souris. La faisabilité de ce type d'expérience avait été établit ¹⁵⁶.

5.1 - Travail sur l'inhibition du tPA

Avant l'avènement des thérapeutiques endo-vasculaires pour le traitement des AVC ischémiques, le r-tPA restait le seul espoir pour de nombreux patients. Mais son utilisation présente plusieurs limites notamment à cause de sa fonction protéolytique qui provoque des saignements intracrâniens qui peuvent aggraver l'état des patients ^{138,139}. Un immense travail scientifique dans le but de diminuer les effets délétères et d'améliorer l'efficacité du tPA a été réalisé. Ce travail a permis d'identifier des inhibiteurs directs et indirects du tPA celui-ci étant au centre de très nombreuses voies de signalisation¹⁵⁸ (Figure 8.A-8.B). Ces inhibiteurs peuvent agir au niveau central comme au niveau périphérique. Certains d'entre eux sont d'ailleurs déjà utilisés en pratique clinique pour traiter d'autres types de pathologies ¹⁶⁴. D'autre inhibiteur, ciblant précisément la fixation du tPA au récepteur à la N-méthyl-D-Aspartate (NMDA-R) a été beaucoup étudié dans notre laboratoire et dans des études préclinique ^{160,161}.

Figure 8 : Les nombreuses voies de signalisation du tPA

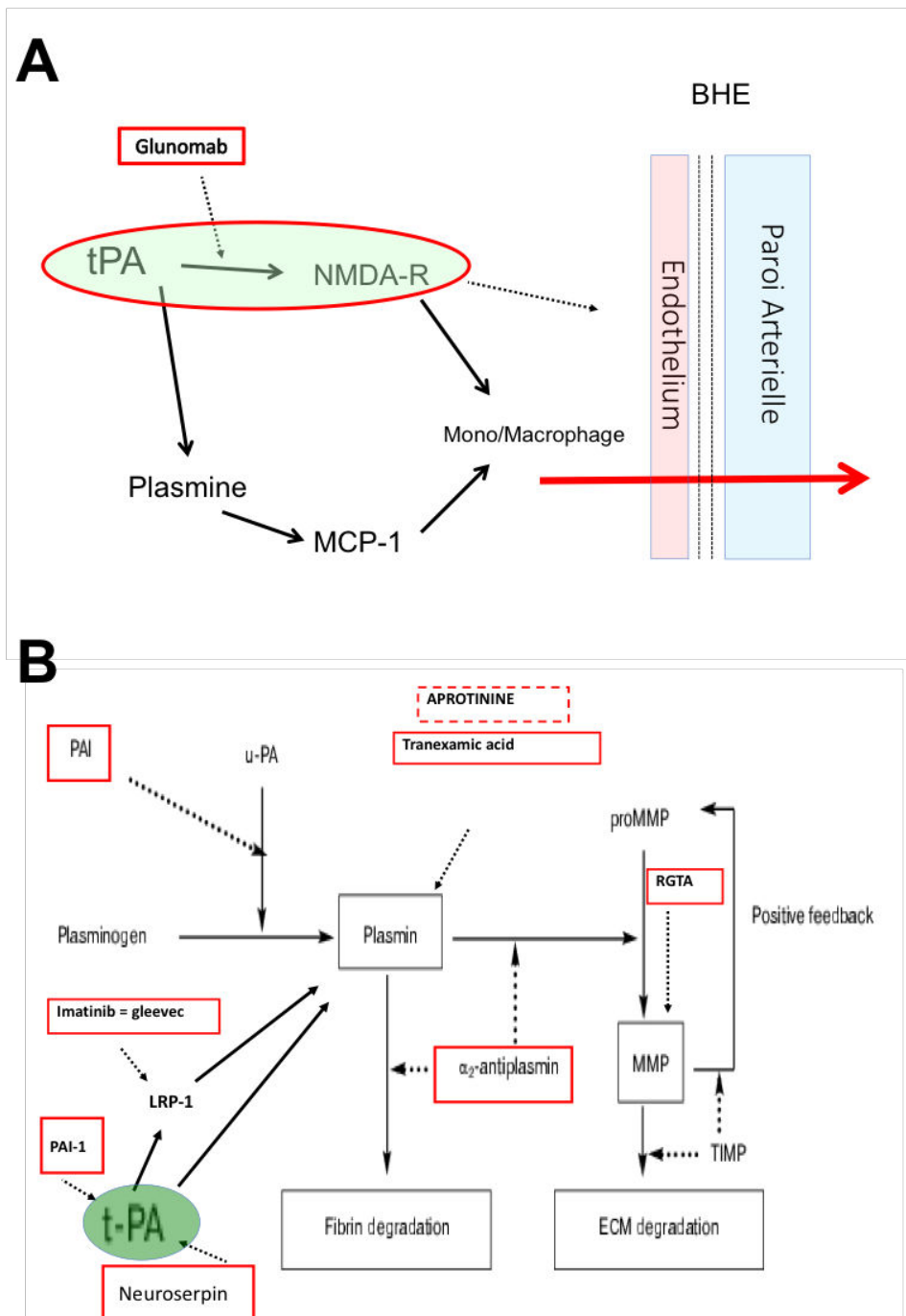


Figure 8 A) Illustration des nombreuses voies d'activation liée au tPA et leur inhibiteurs (cercle rouge). Principalement au niveau de la barrière hématoencéphalique, où le tPA permet de stimuler l'infiltration inflammatoire de la paroi artérielle *via* l'axe tPA/ NMDA-R. **B)** Les très nombreux inhibiteurs potentiels du tPA selon les voies d'activation, qui représentent autant de possibilités d'inhibition de son influence dans la formation des AIC.

Nous avons cherché à inhiber l'action délétère du tPA sur la paroi anévrysmale dans des expériences de pharmaco-stabilisation dont les résultats non encore publiés seront présentés plus loin.

5.2 - Thérapie matricielle

J'ai exposé plus haut l'intérêt de l'étude des voies alternes du remodelage matriciel mais il existe également des voies thérapeutiques alternes et novatrices dont j'ai pensé qu'elles seraient intéressantes à explorer. La thérapie matricielle est une nouvelle approche thérapeutique qui vise à régénérer la MEC dans des maladies où celle-ci est abimée ¹⁵. Or, la dégradation de la MEC de la paroi anévrysmale est la traduction histologique de la pathologie anévrysmale intracrânienne. Concrètement la thérapie matricielle consiste en l'administration de constituant matriciel comme les héparanes sulfates mais obtenu par synthèse ^{165,166}. Ils permettent une régénération de la MEC et du tissu lésé ¹⁶⁵. Ces agents de régénération matricielle sont déjà utilisés pour traiter des pathologies où la MEC est au premier plan de l'atteinte tissulaire comme par exemple les lésions de la cornée ou les brûlures cutanées ¹⁸⁹.

Nous avons testé la thérapie matricielle dans des expériences de pharmaco-stabilisation d'AIC dont les résultats non encore publiés seront présentés dans la partie résultats.

RESULTATS

I - Projet de recherche

1 - Anatomie d'un projet

Lorsque j'ai commencé réfléchir à la pathologie anévrysmale intracrânienne en 2012, j'ai l'ai abordé par une voie purement clinique. Je voulais vérifier si les observations que nous faisons quotidiennement en salle opératoire avec mon maître, le Pr Patrick Courthéoux, à savoir que chez les patients porteurs d'AIC nous avons l'impression que les artères cervicales étaient « bizarres ». Il fallait théoriser tout cela. J'ai donc établi une méthode de classification exhaustive (il n'en existait aucune...) des anomalies morphologiques des artères cervicales à destinés encéphaliques (ACE) définis en six types distincts : sténose, boucle, plicature, dilatation, tortuosité et irrégularité endo-luminale (IEL) (Figure 9). Ces anomalies ont été analysés dans une population de patients porteurs d'AIC et comparé à un groupe de témoins appariés sans AIC. Nous avons constaté avec surprise que la prévalence des anomalies angiographiques des ACE chez les patients porteurs d'AIC est très élevée. Bien qu'inégale entre les différents types étudiés, cette association est très significative pour certains d'entre eux notamment les irrégularités endo-luminales (données non publiés). Par contre, à ma grande surprise, la présence des anomalies angiographiques n'avait aucun impact sur l'évolution naturelle des AIC et plus précisément sur leur rupture.

Nous avons publié la majeure partie de ces données, en nous concentrant uniquement sur les tortuosités sous l'article « Cervical artery tortuosity is associated with intracranial aneurysm » publié dans *International Journal of Stroke* et que je signe en premier auteur.

Figure 9 : Une classification originale des anomalies morphologiques des ACE

Score Item	0 Artère normale	1	2	3
IEL	paroi lisse et régulière	Irrégularités focales <0,5 mm de hauteur non circonférentielles non regroupées, étendues à moins de 3 cm de l'artère	Irrégularités étendues >0,5 mm <1mm de hauteur non circonférentielles regroupées, et/ou étendues à plus de 3 moins de 5 cm de l'artère	Irrégularités franches et/ou diffuses >1 mm de hauteur et/ou circonférentielles et/ou étendues à plus de 5 cm de l'artère et/ou associées à des ectasies inter-irrégularités et/ou aspect en « collier de perle »
Dilatation	parois parallèles	Aspect subjectif de perte de parallélisme. non quantifiable, non segmentaire	Dilatation segmentaire > 50 % et <75 % du diamètre des segments sains	Dilatation segmentaire > 75 % du diamètre des segments sains
Sténose	parois parallèles	sténose focale < 50 % du diamètre des segments sains	sténose focale > 50 % et <75 % du diamètre des segments sains	sténose focale > 75 % du diamètre des segments sains et/ou étendue > 25mm
Tortuosité	trajet rectiligne	Tortuosité d'un segment artériel par rapport à l'axe anatomique	Tortuosité de deux segments artériels par rapport à l'axe anatomique	Tortuosité de trois segments artériels (au moins) par rapport à l'axe anatomique
Boucle	trajet rectiligne	une boucle	deux boucles	NA
Plicature	trajet rectiligne	plicature artérielle > 90° et <60°	plicature artérielle > 60° et <30°	plicature artérielle <30°

Figure 9 Tableau de classification morphologique des anomalies des ACE. Il s'agit d'une classification exhaustive et originale avec un système de cotation. (D'après des données non publiées de Labeyrie *et al.*)

Puis entre temps j'ai rejoint l'équipe INSERM U919 « Serine protéases et pathophysiologie de l'Unité Neurovasculaire » en 2013, mon projet de recherche comportait plusieurs aspects.

Le premier aspect, plus pratique, avait pour objectif de reproduire et d'améliorer le modèle murin d'anévrisme intracrânien décrit par Hashimoto en y apportant un suivi par imagerie non invasive notamment par IRM 7T. Nous étions les premiers à étudier ce modèle en France. L'équipe de SP2U (et Cyrille Orset en particulier) avait une grande expérience des modèles animaux notamment dans l'AVC ischémique et hémorragique mais pas dans l'HSA anévrysmale spécifiquement. L'apport de l'IRM était pour nous fondamental car il permettait de suivre le développement des AIC chez les animaux et donc l'activité de la maladie, avec précision.

Le second aspect, plus fondamental, était de vérifier l'hypothèse selon laquelle le tPA pouvait être cet intermédiaire moléculaire qui déséquilibre ainsi le remodelage matriciel et qui serait un acteur central de la pathologie anévrysmale intracrânienne. Nous avions à disposition différentes souches de souris transgéniques notamment les tPA KO, produite par l'équipe (tPA -/-) chez qui nous avons décidé de tester nos hypothèses.

Le troisième aspect, plus ambitieux, était de mettre au point un nouveau traitement non invasif pour les AIC. Bien sûr en tant que médecin et thérapeute l'idée de « soigner » les souris en inhibant l'influence du tPA est venue très rapidement.

Enfin, le dernier aspect, plus philosophique, en lien avec mon unité clinique de Neuroradiologie Interventionnelle du CHU de Caen, était d'explorer la fréquence des anomalies des artères cervicales a destinée encéphalique et leur éventuel lien avec la pathologie anévrysmale.

2 - Objectifs de recherches

Mon objectif principal était donc d'établir la preuve inédite que le tPA pourrait bien être cet effecteur principal et de la pathologie anévrysmale. Pour ce faire, nous avons d'abord étudié la pertinence du modèle d'un point de vue clinique, de l'imagerie et de l'anatomo-pathologie. Ce modèle nous est apparu particulièrement adapté à notre projet. Nous avons ensuite induit des anévrysmes chez des souris, puis prélevé des échantillons d'anévrysmes et recherché par immunohistochimie la trace du tPA ou de ces substrats. Nous avons constaté que la plasmine et le tPA étaient massivement présents dans la paroi des AIC comparativement aux artères saines. Nous avons par ailleurs observé par immunohistochimie de nombreux phénomènes décrits de la pathologie anévrysmale, comme l'apoptose, l'inflammation, la prolifération des CML. Renforcé par ces premières découvertes nous avons ensuite décidé d'étudier le profil de la pathologie anévrysmale chez des souris sans tPA à savoir des souris tPA^{-/-} versus témoin wild type (WT). Nous avons remarqué que les souris tPA^{-/-} développaient beaucoup moins d'AIC et beaucoup moins d'entre elles ne présentaient de rupture. L'absence de tPA endogène protège les souris contre la formation et la rupture des AIC. Nous avons également induit des AIC chez des souris PAI-1^{-/-} qui sont déficientes pour le principal inhibiteur tissulaire du tPA. Nous avons remarqué que ces souris présentaient un profil de formation et de rupture encore plus accentué que les souris WT. Nous avons par ailleurs pu bénéficier d'échantillons humains d'anévrysmes intracrâniens que nous avons comparés avec nos résultats histologiques chez l'animal avec une concordance très significative.

Nous avons ensuite voulu savoir quel contingent de tPA était à l'origine de cet effet inducteur d'AIC. Nous suspectons alors le tPA vasculaire, sécrété par les cellules endothéliales et hépatiques et qui circule dans le sang. Nous avons donc réalisé des expériences de transduction hémodynamique du gène du tPA chez des souris tPA^{-/-}. Cette technique permettait

l'expression transitoire du tPA sous forme circulante. Nous avons ainsi remarqué que le tPA vasculaire permettait au souris tPA -/- de récupérer un profil d'activité de la maladie anévrysmale tout à fait comparable aux souris contrôles, WT. Nous avons publié l'ensemble de ces données sous l'article « Vascular tissue-type plasminogen activator promotes intracranial aneurysm formation » publié dans *Stroke* et que je signe en premier auteur.

Nous avons ensuite voulu inhiber spécifiquement l'action du tPA vasculaire. Toujours sur le même modèle animal. En réalisant des expériences de pharmaco-stabilisation de souris induites.

Partant de l'hypothèse que l'accentuation de la perméabilité de la paroi artérielle et par là de la barrière hémato-encéphalique (BHE) était un évènement important dans le remodelage matriciel, nous avons voulu inhiber l'axe tPA/NMDA-R. Inhibition obtenue *via* un anticorps, le Glunomab© développé par l'équipe.

Cette expérience s'est soldé par un échec. Le fait de bloquer l'action centrale du tPA ne freine en rien l'effet tPA sur la pathologie anévrysmale. Au contraire, j'ai remarqué que les souris développaient des anévrysmes plus gros et plus nombreux avec une explication possible à ces résultats inattendus.

Nous avons ensuite voulu inhiber l'action périphérique du tPA *via* l'activation de la plasmine en utilisant l'acide tranexamique qui permet un blocage de la formation de plasmine, par inhibition de l'activité protéolytique du tPA.

Malheureusement, les conditions pratiques de l'administration de ce traitement ont été très difficiles à mettre en place. Les souris ont très mal toléré, et nous avons dû interrompre l'étude en raison d'un fort taux de mortalité. Nous ne pouvons malheureusement pas conclure sur cette hypothèse pour l'instant mais nous réfléchissons à la mise au point d'une expérience testant l'inhibition périphérique du tPA.

Parallèlement à cela j'ai voulu tester une thérapeutique originale : la thérapie matricielle. Nous avons donc passé un accord de partenariat (MTA) avec un laboratoire français qui produit une molécule innovante dans le traitement des pathologies matricielles. Cette expérience a donné des résultats très intéressants et nous espérons pouvoir continuer dans cette voie.

La totalité de mes résultats sont présentés ci-après ; mes deux articles publiés, suivi par les données non publiées de mes projets en cours.

II - Article n° 1

« Cervical artery tortuosity is associated with intracranial aneurysm »

Au cours de cette étude, nous avons réalisé une étude cas-témoins dont l'objectif principal était d'étudier l'association entre les anomalies morphologiques des artères cervicales et la présence d'un AIC. Les objectifs secondaires étaient premièrement d'examiner si cette association variait selon le caractère rompu ou non de l'anévrisme et deuxièmement d'examiner si la sévérité des anomalies artérielles cervicales était liée à la sévérité de la pathologie anévrismale. Cet article ne se concentre que sur les tortuosités, car nous avons besoin de simplifier nos résultats. Mais l'étude qui avait été réalisée était bien plus exhaustive. Nous rapportons que la prévalence des anomalies angiographiques chez les patients porteurs d'AIC est élevée. Bien qu'inégale entre les différents types étudiés, cette association est très significative pour certains d'entre eux notamment les irrégularités endo-luminales (Figure 9). De plus l'incidence d'une pathologie rare, la dysplasie fibro-musculaire est très élevée chez les patients porteurs d'AIC comparativement à la population générale. La présence des anomalies angiographiques n'a aucun impact sur l'évolution naturelle des AIC vers la rupture, ni sur d'autres aspect comme leur taille, leurs nombres ou leur forme.

Cervical artery tortuosity is associated with intracranial aneurysm

Paul-Emile Labeyrie^{1,2,3,4}, Florent Braud², Clément Gakuba^{1,4,5}, Thomas Gaberel^{1,4,6}, Cyrille Orset⁴, Romain Goulay⁴, Evelyne Emery^{1,4,6}, Patrick Courthéoux^{1,2,4,†} and Emmanuel Touzé^{1,4,7}

International Journal of Stroke
0(0) 1–4
© 2017 World Stroke Organization
Reprints and permissions:
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/1747493016687577
journals.sagepub.com/home/wso



Abstract

Background: Intracranial aneurysms may be associated with an underlying arteriopathy, leading to arterial wall fragility. Arterial tortuosity is a major characteristic of some connective tissue disease.

Aim: To determine whether intracranial aneurysm is associated with an underlying arteriopathy.

Methods: Using a case-control design, from May 2012 to May 2013, we selected intracranial aneurysm cases and controls from consecutive patients who had conventional cerebral angiography in our center. Cases were patients with newly diagnosed intracranial aneurysm. Controls were patients who had diagnostic cerebral angiography and free of aneurysm. The prevalence of tortuosity, retrospectively assessed according to standard definitions, was compared between cases and controls and, association between tortuosity and some aneurysm characteristics was examined, in cases only.

Results: About 659 arteries from 233 patients (112 cases and 121 controls) were examined. Tortuosity was found in 57 (51%) cases and 31 (26%) controls (adjusted OR = 2.71; 95%CI, 1.53–4.80). The same trend was found when looking at each tortuosity subtype (simple tortuosity, coil, kink) or at carotid or vertebral territory separately. In contrast, no association between tortuosity and rupture status, aneurysm number or neck size was found.

Conclusions: Cervical artery tortuosity is significantly associated with intracranial aneurysm, although not related to main aneurysm characteristics. Our results support the presence of an underlying diffuse arteriopathy in intracranial aneurysm patients.

Keywords

Intracranial aneurysm, connective tissue disease, arterial tortuosity, subarachnoid hemorrhage, fibromuscular dysplasia

Received: 26 August 2016; accepted: 23 October 2016

Intracranial aneurysms (IA) are common acquired lesions that occur in about 3% of the general population.^{1,2} Inherited and environmental risk factors for IA have been well identified but pathophysiology of genesis, growth, and rupture of IA remain unknown.^{3,4} IA is prevalent in several diseases associated with arterial fragility, such as fibromuscular dysplasia (FMD), Ehlers-Danlos syndrome, or Marfan disease.^{5,6} However, those diseases are rare in IA populations seen in practice and well-designed epidemiological studies demonstrating association with IA are scarce.⁶ Arterial tortuosity of the cervical arteries is associated with these genetic connective tissue diseases.^{7–9} We hypothesized that arterial tortuosity, which may reflect an underlying “minor” generalized arteriopathy, would be more frequent than in patients without IA.

¹Normandie Université, Unicaen, France

²Department of Radiology, Centre Hospitalier Universitaire de Caen (CHU Caen), Caen, France

³Department of Interventional Neuroradiology, Hospices Civils, Lyon, France

⁴Inserm U919, Caen, France

⁵Department of Anesthesiology, CHU Caen, Caen, France

⁶Department of Neurosurgery, CHU Caen, Caen, France

⁷Department of Neurology, Stroke Unit, CHU Caen, Caen, France

†Deceased in April 2016.

Corresponding author:

Emmanuel Touzé, Department of Neurology, Centre Hospitalier Universitaire de Caen, Caen, Avenue de la Côte de Nacre, 14000 Caen, Basse-Normandie, France.
Email: emmanuel.touze@unicaen.fr

We conducted a case-control study to investigate the association between arterial tortuosity of cervical arteries and IA and to examine whether there was any relation between severity of arterial abnormalities and severity of aneurysmal disease.

Methods

Study design

This was a monocentric retrospective case-control study of consecutive patients undergoing diagnostic or therapeutic cerebral angiography in our institution. The study was reviewed and approved by the local Institutional Ethics Committee. Consecutive cerebral angiographies performed between May 2012 and May 2013, whatever the indication, were reviewed to select cases and controls. We excluded patients with arteriovenous malformation (AVM), mycotic aneurysms, and patients treated with mechanical thrombectomy in the setting of an acute ischemic stroke. Cases were patients newly diagnosed with one or more IA in whom surgical or endovascular treatment was considered. Controls were all patients without IA who had diagnostic cerebral angiography to the exploration of brain diseases involving life-threatening, for example sub-arachnoid hemorrhage or brain hematoma.

Angiographic data

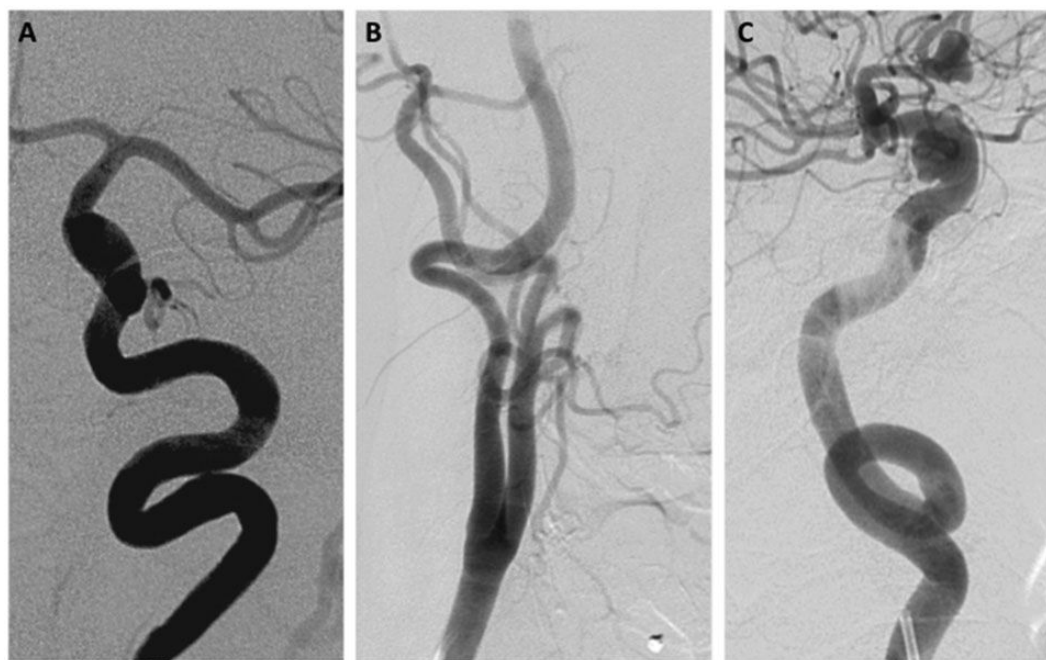
All digital subtraction angiographies were performed on a flat detector monoplane angiographic system (ALLURA 400[®], Philips, USA) and stored in a PACS system (Horizon Rad system, Mc Kesson Corporation, San Francisco, CA, USA). A neuroradiologist with 5 years of experience reviewed images.

For each patient, extra cranial carotid and vertebral arterial segments were examined in at least two orthogonal projections. Arterial tortuosity was defined as any of the following arterial variation: (1) simple tortuosity was an elongation in the course of the artery causing at least two markedly tortuous turns ("S"-shaped curve; simple "C"-shaped curve elongation was not considered tortuous) (Figure 1(a)); (2) kink was an acute angulation of the artery, with an angle between the two segments $\leq 60^\circ$ (Figure 1(b)); (3) coil was an elongation of the artery resulting in a circular configuration (360° rotation, Figure 1(c)).^{10,11} In cases, after calculating the aspect ratio (as a very simple ratio of dome size on neck size), IA were also classified, when available, into narrow (aspect ratio > 1.5) or wide (aspect ratio ≤ 1.5) neck.

Statistical analysis

The unit of analysis was the patient and the presence of any tortuosity on one or more vessel was sufficient to

Figure 1. Different types of tortuosity on angiography: (a) simple tortuosity, (b) kink; (c) coil.



consider the presence of tortuosity. Continuous variables were compared using *t*-test or nonparametric tests and categorical variables using χ^2 or Fisher's exact test. Crude odds ratios (OR) and OR adjusted on age and sex were calculated in logistic models to estimate the association between IA and arterial tortuosity.

Results

During the study period, 829 angiograms were performed in 540 patients. Among those patients, 112 IA cases and 121 controls were included (supplemental figure). Description of aneurysms is given in Supplemental Table 1 as the reasons for the angiographic investigation in the control group are detailed

in Supplemental Table 2. A total of 659 cervical arteries were examined. The median (IQR) number of arteries examined was 2 in cases and 4 in controls ($p < 0.0001$).

As shown in Table 1, women were more frequent in cases than in controls (63% vs. 50%, $p = 0.03$), but other main characteristics did not differ between groups. No cases or controls had connective tissue disease reported. Typical cervical FMD was observed in 10 (8.9%) cases and in none controls ($p < 0.0001$). As shown in Table 2, any tortuosity was found in 57 (51%) cases and 31 (26%) controls (OR = 3.01; 95%CI, 1.73–5.22). Adjustment for age and sex did not change the finding (OR = 2.71; 95%CI, 1.53–4.80). Exclusion of patients with FMD did not change the significance of the association (OR = 2.21; 1.13–4.33). Overall, tortuosity was more frequent in the carotid territory but the strength of the association with IA was similar in both territories, even stronger for coils in the vertebral territory.

In cases, as shown in Supplemental Table 3, there was no association between tortuosity and ruptured versus unruptured status (OR = 1.29; 0.59–2.81), multiple versus unique IA (OR = 0.80; 0.35–1.85), narrow versus wide neck (OR = 1.03; 0.46–2.29).

Table 1. Population

	Cases (n = 112)	Controls (n = 121)	p-Value
Mean \pm SD age (years)	56.1 \pm 13.3	53.8 \pm 14.8	0.21
Female	71 (63)	60 (50)	0.03
Hypertension	31 (34)	34 (38)	0.64
Current smoking	13 (15)	18 (20)	0.32

Values are numbers (%) unless otherwise indicated.

Discussion

In this study, we found an association between IA and cervical artery tortuosity, without heterogeneity across the different tortuosity subtypes. By contrast, we did not find any relation between tortuosity and some

Table 2. Tortuosity in cases and controls

	Cases (n = 112)	Controls (n = 121)	Crude OR (95%CI)	Adjusted OR* (95%CI)
Any tortuosity	57 (51)	31 (26)	3.00 (1.73–5.22)	2.71 (1.53–4.80)
Simple tortuosity	28 (25)	20 (17)	1.68 (0.89–3.20)	1.52 (0.77–2.98)
Carotid	26 (23)	19 (16)	1.62 (0.84–3.13)	1.47 (0.74–2.92)
Vertebral	5 (4.5)	3 (2.5)	1.84 (0.43–7.87)	1.68 (0.38–7.41)
Kink	50 (45)	24 (20)	3.26 (1.82–5.83)	2.91 (1.59–5.31)
Carotid	44 (39)	24 (20)	2.62 (1.46–4.70)	2.32 (1.27–4.23)
Vertebral	10 (9)	0	–	–
Coil	17 (15)	9 (7)	2.23 (0.95–5.22)	2.35 (0.98–5.60)
Carotid	12 (11)	8 (7)	1.70 (0.67–4.31)	1.92 (0.74–5.02)
Vertebral	6 (5.4)	1 (0.8)	6.79 (0.80–57.47)	5.67 (0.66–48.58)

*Adjusted for age and sex.

Values are numbers (%) unless otherwise indicated.

features of IA, including number, rupture status, size, or neck shape.

Although there is no similar study reported in the literature, our findings are in agreement with those from two studies that reported a high prevalence of abnormalities of the cervical arteries in IA patients.^{11,12} However, abnormalities considered in these studies were not focused on tortuosity only. Only patients with ruptured IA of the anterior circulation were included and a control group considered in only one study. No study examined the association between tortuosity and IA characteristics.

Our results support the concept that IA may reflect a diffuse arteriopathy leading to arterial fragility. Indeed, tortuosity is observed in genetic connective tissue diseases that are associated with arterial fragility.^{6,13} The prevalence of IA has been reported to be high in most of these diseases and association was found with Marfan disease.⁹ In our population no connective tissue disease was found, but cervical FMD was found in 8.9% of cases compared to 0% in controls. The association between IA and FMD has long been recognized in case series but had never been formally demonstrated in a well-designed epidemiological study.^{14,15}

The lack of association between tortuosity and the main characteristics of aneurysmal disease may be surprising. Indeed, considering our hypothesis patients with ruptured IA may have been more likely to have tortuosity than patients with unruptured aneurysm. While IA formation depends on arterial wall weakness, growth and rupture seem to be linked to local hemodynamic and systemic factors.^{3,4,16}

Declaration of conflicting interests

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

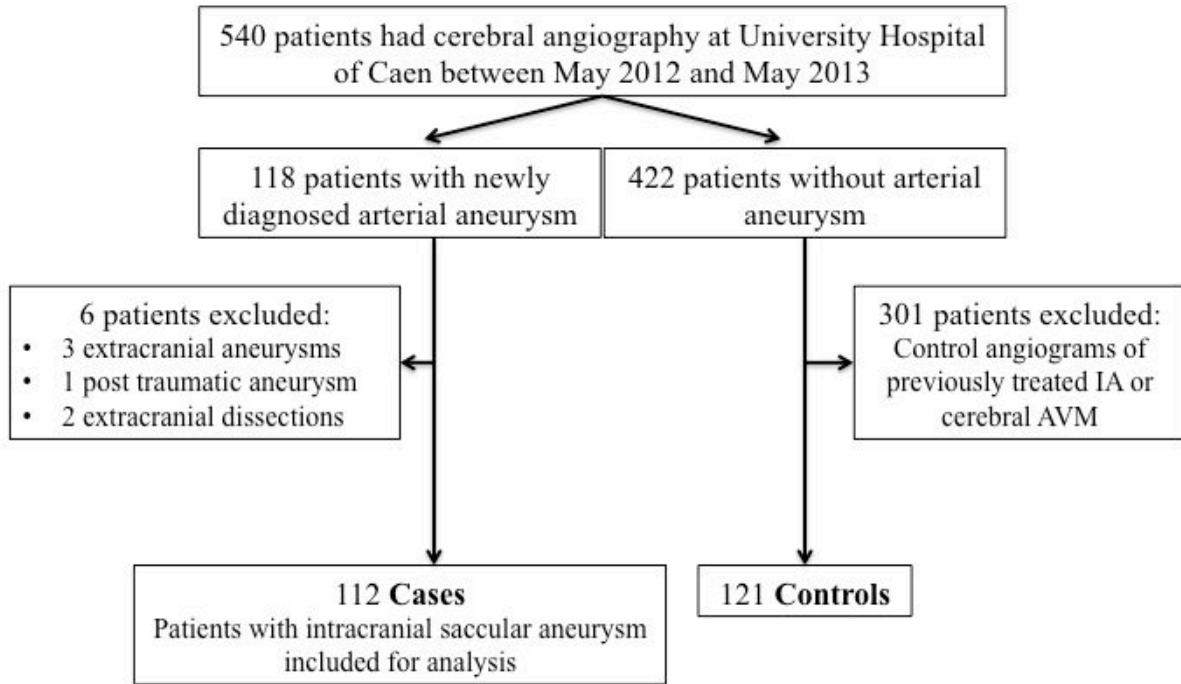
Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

References

- Sandvei MS, Mathiesen EB, Vatten LJ, et al. Incidence and mortality of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in two Norwegian cohorts. *Neurology* 2011; 77: 1833–1839.
- Vlak MH, Algra A, Brandenburg R and 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: 626–636.
- Chalouhi N, Ali MS, Jabbour PM, et al. Biology of intracranial aneurysms: Role of inflammation. *J Cereb Blood Flow Metab* 2012; 32: 1659–1676.
- Ruigrok YM, Rinkel GJE, van't Slot R, Wolfs M, Tang S and Wijmenga C. Evidence in favor of the contribution of genes involved in the maintenance of the extracellular matrix of the arterial wall to the development of intracranial aneurysms. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 3361–3368.
- Cloft HJ, Kallmes DF, Kallmes MH, Goldstein JH, Jensen ME and Dion JE. Prevalence of cerebral aneurysms in patients with fibromuscular dysplasia: A reassessment. *J Neurosurg* 1998; 88: 436–440.
- Southerland AM, Meschia JF and Worrall BB. Shared associations of nonatherosclerotic, large-vessel, cerebrovascular arteriopathies: Considering intracranial aneurysms, cervical artery dissection, moyamoya disease and fibromuscular dysplasia. *Curr Opin Neurol* 2013; 26: 13–28.
- Weibel J and Fields WS. Tortuosity, coiling, and kinking of the internal carotid artery. *Neurology* 1965; 15: 7–18.
- Sethi SS, Lau JF, Godbold J, Gustavson S and Olin JW. The S curve: A novel morphological finding in the internal carotid artery in patients with fibromuscular dysplasia. *Vasc Med* 2014; 19: 356–362.
- Morris SA, Orbach DB, Geva T, Singh MN, Gauvreau K and Lacro RV. Increased vertebral artery tortuosity index is associated with adverse outcomes in children and young adults with connective tissue disorders. *Circulation* 2011; 124: 388–396.
- Metz H, Murray-Leslie R, Bannister R, Bull JW and Marshall J. Kinking of the ICA in relation to cerebrovascular disease. *Lancet* 1961; 1: 424–426.
- George B, Mourier L, Gelbert F, Reizine D and Ragueneau JL. Vascular abnormalities in the neck associated with Intracranial Aneurysms. *Neurosurgery* 1989; 24: 499–508.
- Spallone A and Cantore G. The role of extracranial carotid abnormalities in the genesis of cerebral aneurysms. *J Neurosurg* 1981; 55: 693–700.
- Callewaert BL, Willaert A, Kerstjens-Frederikse WS, et al. Arterial tortuosity syndrome: Clinical and molecular findings in 12 newly identified families. *Hum Mutat* 2008; 29: 150–158.
- Steiger HJ and Turowski B. Fibromuscular dysplasia. *N Engl J Med* 2004; 351: 509–510.
- Olin JW, Gornik HL, Bacharach JM, et al. Fibromuscular dysplasia: State of the science and critical unanswered questions: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2014; 129: 1048–1078.
- Bacigaluppi S, Piccinelli M, Antiga L, et al. Factors affecting formation and rupture of intracranial saccular aneurysms. *Neurosurg Rev* 2014; 37: 1–14.

Supplemental Figure : Flow chart of patients



Supplemental Table 1 - Characteristics of aneurysmal disease in cases.

Hemorrhagic status N (%) aneurysms	Ruptured 54 (41)	Unruptured 77 (59)	
Aneurysm size (mm) mean±sd	7.33 ± 3.89		
Aneurysm location N (%) aneurysms	Anterior circulation 119 (91)		Posterior circulation 12 (9)
	MCA	34 (26)	BA 9 (7)
	ACoA	27 (21)	PICA 2 (1)
	ICA	25 (19)	VA 1 (1)
	PCoA	20 (15)	
Aneurysmal form n (%) patients	Unique 74 (66)	Multiple (>1) 38 (34)	
Aspect ratio n (%) patients	<1.5 54 (48)	>1.5 53 (47)	ND 5(4)

MCA: Middle Cerebral Artery; ACoA: Anterior Communicating Artery; ICA: Internal Carotid Artery;

PCoA: Posterior Communicating Artery; BA: Basillary Artery; PICA: Posterior Inferior Cerebellar Artery;

VA : Vertebral Artery; sd : standard deviation; ND : not determined

Supplemental Table 2 – Indication of cerebral angiography on controls

Controls	n =121
Brain hemorrhage	57 (47%)
Suspected cerebral vasculitis	27 (22%)
Exploration of hyper-vascular intracranial mass	23 (19%)
Atypical headache associated with neurological deficits	10 (8%)
Suspicion of a cerebral venous drainage abnormality *	4 (3%)

No vascular malformation was found according to the criteria for exclusion of control group. * *Pseudo Tumor Cerebri*.

Supplemental Table 3 - Relationship between tortuosity and aneurysm characteristics

	Tortuosity			
	Any	Simple	Kink	Coil
	tortuosity			
Ruptured (n=50)	19 (38)	13 (26)	26 (52)	9 (18)
Unruptured (n=62)	20 (32)	15 (24)	24 (38)	8 (13)
OR (95% CI)	1.29 (0.59-2.81)	1.10 (0.47-2.60)	1.72 (0.81-3.65)	1.48 (0.53-4.17)
Multiple (n=38)	12 (32)	8 (21)	16 (42)	6 (16)
Single (n=74)	27 (36)	20 (27)	34 (46)	11 (15)
OR (95% CI)	0.80 (0.35-1.85)	0.72 (0.28-1.83)	0.86 (0.39-1.89)	1.07 (0.36-3.17)
Wide neck* (n=53)	18 (34)	11 (21)	22 (42)	8 (15)
Narrow neck* (n=54)	18 (33)	14 (26)	24 (44)	8 (15)
OR (95% CI)	1.03 (0.46-2.29)	0.75 (0.30-1.84)	0.89 (0.41-1.91)	1.02 (0.35-2.96)

Values are numbers (%) unless otherwise indicated.

* Aspect ratio was not available for 5 patients.

III - Article n° 2

« Vascular tissue-type plasminogen activator promotes intracranial aneurysm formation »

Dans cet article nous essayons de décrire et de caractériser une voie inédite de la formation et de la croissance des AIC, la voie de la fibrinolyse *via* l'activateur de plasminogène de type tissulaire (tPA).

Nos données révèlent que le tPA et son substrat sont massivement présents dans la MEC des AIC aussi bien sur modèle murin que sur échantillons humains. Par ailleurs, l'absence de tPA réduit la formation des anévrismes chez la souris. De plus les souris déficientes en PAI-1 (PAI-1 étant le principal inhibiteur du tPA dans la circulation) sont très sensibles à la formation et aux ruptures d'AIC. De plus les expériences de « rescue » de l'activité tPA chez les souris tPA^{-/-} montre que les souris développent IA quand le tPA est surexprimé dans la circulation sanguine. Ces données suggèrent que le tPA présent dans la circulation sanguine est suffisant pour favoriser la formation et la rupture des anévrismes. Nous avons donc proposé que le tPA vasculaire était un des responsables de la formation des AIC. Nous avons également constaté une certaine continuité dans le temps de l'influence du tPA sur le remodelage matriciel.

Différents mécanismes peuvent expliquer nos découvertes, car les MMP peuvent être activées soit directement par le tPA soit ou indirectement par la plasmine. De plus, le tPA est connu pour augmenter l'expression de MCP-1, qui stimule l'infiltration des macrophages dans la paroi anévrysmale.

En conclusion, nous proposons le tPA vasculaire comme une nouvelle cible possible pour prévenir la progression et la rupture des AIC.

Vascular Tissue-Type Plasminogen Activator Promotes Intracranial Aneurysm Formation

Paul-Emile Labeyrie, MD, MSc*; Romain Goulay, PhD*; Sara Martinez de Lizarrondo, PhD; Marie Hébert, PhD; Maxime Gauberti, PhD; Eric Maubert, PhD; Barbara Delaunay, MSc; Benjamin Gory, MD, PhD; Francesco Signorelli, MD, MSc; Francis Turjman, MD, PhD; Emmanuel Touzé, MD, PhD; Patrick Courthéoux, MD†; Denis Vivien, PhD*; Cyrille Orset, PhD*

Background and Purpose—Although the mechanisms that contribute to intracranial aneurysm (IA) formation and rupture are not totally elucidated, inflammation and matrix remodeling are incriminated. Because tPA (tissue-type plasminogen activator) controls both inflammatory and matrix remodeling processes, we hypothesized that tPA could be involved in the pathophysiology of IA.

Methods—Immunofluorescence analyses of tPA and its main substrate within the aneurysmal wall of murine and human samples were performed. We then compared the formation and rupture of IAs in wild-type, tPA-deficient and type 1 plasminogen activator inhibitor-deficient mice subjected to a model of elastase-induced IA. The specific contribution of vascular versus global tPA was investigated by performing hepatic hydrodynamic transfection of a cDNA encoding for tPA in tPA-deficient mice. The formation and rupture of IAs were monitored by magnetic resonance imaging tracking for 28 days.

Results—Immunofluorescence revealed increased expression of tPA within the aneurysmal wall. The number of aneurysms and their symptomatic ruptures were significantly lower in tPA-deficient than in wild-type mice. Conversely, they were higher in plasminogen activator inhibitor-deficient mice. The wild-type phenotype could be restored in tPA-deficient mice by selectively increasing circulating levels of tPA via hepatic hydrodynamic transfection of a cDNA encoding for tPA.

Conclusions—Altogether, this preclinical study demonstrates that the tPA present in the blood stream is a key player of the formation of IAs. Thus, tPA should be considered as a possible new target for the prevention of IAs formation and rupture. (*Stroke*. 2017;48:00-00. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.017305.)

Key Words: animals ■ intracranial aneurysm ■ mice ■ physiopathology ■ tissue plasminogen activator

Intracranial aneurysms (IAs) are brain vascular malformations, with a prevalence of 3% to 5% in the general population.¹⁻³ In most cases, IA causes no symptom and goes unnoticed. However, the rupture of an IA causes a subarachnoid hemorrhage leading to high mortality and disability rates.³ Despite recent therapeutic advances, no reliable non-invasive treatment has proved efficient to prevent aneurysm growth and rupture.⁴⁻⁶ Thus, a better understanding of the pathophysiology of IAs is mandatory to develop new preventive and therapeutic strategies.^{2,6}

Aneurysms originate from a series of events starting with the activation of endothelial cells leading to inflammatory

processes and ultimately to a progressive loss of integrity of the arterial wall.⁷⁻⁹ Some of the actors involved in this cascade of events have been identified, including macrophages, lymphocytes, and their effector molecules (like chemokines and inflammatory cytokines)^{7,10,11} and matrix metalloproteinases (MMPs).¹²

tPA (tissue-type plasminogen activator) is a serine protease expressed and released by endothelial cells, where it displays its fibrinolytic role through activation of plasminogen into plasmin.^{13,14} Interestingly, an increased expression of tPA has been observed in aortic aneurysms.¹⁵⁻¹⁸ Furthermore, the tPA-plasmin axis is well known to promote inflammatory

Received March 20, 2017; final revision received June 8, 2017; accepted July 5, 2017.

From the Department of Physiopathology and Imaging of Neurological Disorders, INSERM U1237, UNICAEN, GIP Cyceron, France (P.-E.L., R.G., S.M.d.L., M.H., M.G., E.M., B.D., E.T., P.C., D.V., C.O.); Department of Interventional Neuroradiology (P.-E.L., B.G., F.T.) and Department of Neurosurgery (F.S.), Hôpital Wertheimer, University Lyon 1, Bron, France; and Department of Neurology (E.T.), Department of Neuroradiology (P.C.), and Department of Clinical Research (D.V.), CHU Caen, University Caen Normandie, France.

Guest Editor for this article was Christoph Kleinschnitz, MD.

*Drs Labeyrie, Goulay, Vivien, and Orset contributed equally.

†Contributing author Patrick Courthéoux passed away in April 2016.

The online-only Data Supplement is available with this article at <http://stroke.ahajournals.org/lookup/suppl/doi:10.1161/STROKEAHA.117.017305/-DC1>.

Correspondence to Denis Vivien, PhD, Department of Physiopathology and Imaging of Neurological Disorders, INSERM U1237, University Caen Normandie, GIP Cyceron, Bd Becquerel, BP5229, 14074 Caen, France. E-mail vivien@cyceron.fr

© 2017 American Heart Association, Inc.

Stroke is available at <http://stroke.ahajournals.org>

DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.017305

processes^{19,20} and to enhance extracellular matrix degradation both known to contribute to IAs generation.^{15,19,20} Because IAs are strongly associated with inflammatory processes and remodeling of the extracellular matrix,^{11,12} we hypothesized that tPA could contribute to the formation or rupture of IAs.

Methods

An expanded materials and methods section is available as an [online-only Data Supplement](#).

Experiments were performed in accordance with European union directives (2010/63/UE) and French ethical laws (act no. R214; 87–137; Ministère de l'Agriculture) guidelines and approved by the local and regional ethics committees (authorization code, CENOMEXA 0113-03). All experiments were performed following the ARRIVE guidelines (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments; <http://www.nc3rs.org.uk>).

Induction of IAs

IAs were induced as described by Hashimoto et al^{11,21} in 3 different mouse strains: tPA^{-/-} (n=31), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) knockout mice (n=12), and their wild-type (WT) littermates (n=12) all on a C57BL/6J background.

Briefly, stereotaxic injection in the right basal cistern of 2.5 μ L of elastase was realized in deeply anesthetized animals. Followed by subcutaneous implantation of an osmotic pump (p1001; Alzet) filled with angiotensin II (Sigma Aldrich). The profile of systemic hypertension induced by angiotensin II was assessed by repeated blood pressure measurements using the tail-cuff method. At day 2, a magnetic resonance imaging (MRI) was performed to exclude animals presenting a brain hemorrhage caused by the stereotaxic injection. Each animal was evaluated for inclusion criterion using a semiquantitative aneurysm induction invasiveness score (Figure 1A in the [online-only Data Supplement](#)). All animals with a score >7 were excluded from the study. Animals were analyzed twice a day for detection of neurological symptoms and weight loss during a period of 28 days postinduction. Symptomatic mice were immediately scanned by MRI for the identification of intracranial hemorrhages and ruptured aneurysms. The period before symptoms occurs, mice were considered as symptom-free surviving animals, and this time was evaluated and quoted per day after aneurysm induction. At 28 days marking the term of the study, all asymptomatic mice were scanned by MRI before euthanasia because their MRI analyses were also used to estimate the number of unruptured aneurysms and the absence of bleeding. IA lesions were observed on each mouse, at the acute phase of rupture when symptomatic and at the end of the experiment (day 28) in the absence of rupture.

MRI Analysis

Experiments were performed on a Pharmascan 7T/12 cm system using surface coils (Bruker) in anesthetized mice. T2*-weighted sequence was used to detect intracranial hemorrhage as a specific hyposignal.²² 3-dimensional T1 contrast enhanced weighted sequence after intraperitoneal gadolinium injection (Gadovist 1 mg/kg; Guerbet) was performed to visualize IA defined as an abnormal sacciform outpouching of the wall of intracranial arteries of which the diameter is >150% of the parent artery diameter.²¹

Hydrodynamic Transfection of tPA

Generation of pLIVEPlasmids

The coding sequence for rat tPA was inserted into a mouse hepatocyte specific plasmid (pLIVE; Figure 1B in the [online-only Data Supplement](#)).

Hydrodynamic Transfection

Hydrodynamic transfections were performed as described previously.^{23,24} To assess the time course of gene delivery, we have previously investigated²⁴ the presence of active and free (noncomplexed)

plasmatic tPA by direct fibrin zymography following SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis), performed from plasma samples harvested before and after hepatic (hydrodynamic) transfection at days 1, 2, 3, 5, 7, and 14.²⁴ Then, PA^{-/-} mice considered for IA induction were injected 2 days before induction with 100 μ g of pLIVE vector encoding for tPA (n=11) or empty pLIVE vector (n=9; Figure 1B and 1C in the [online-only Data Supplement](#)). Then, sentinel mice induced for IAs were used to control levels of active plasmatic tPA, 24 hours after hydrodynamic transfection (Figure 1D in the [online-only Data Supplement](#); time when the highest plasmatic levels) as described previously.²⁴ Human tPA (Actilyse; Boehringer Ingelheim) and plasmin (Enzyme Research Laboratories) were used as loading controls.

Immunohistochemistry

Mouse Tissue Samples

Each mouse was anesthetized and transcardially perfused with cold heparinized saline followed by 100 mL of fixative solution. Brains were cryoprotected before freezing in Tissue-Tek (Miles Scientific).

Human Sample

Human aneurysm samples were obtained during microsurgery by resecting the aneurysm sac distal to the clip closing the neck (F.S.). Samples were obtained from a 42-year-old woman, who experienced subarachnoid hemorrhage after a rupture of a 7-mm large, middle cerebral artery IA. Tissues were immediately stored for 2 hours in fixative then cryoprotected before freezing in Tissue-Tek.

For both human and mouse tissue samples, cryomicrotome-cut transversal sections (12 μ m) were collected on polylysine slides and stored at -80°C before processing. Mouse and human tissue sections were incubated overnight with primary antibodies as described in the corresponding legend and detailed in the [Methods](#) in the [online-only Data Supplement](#). For each animal, vascular wall and aneurysm were analyzed.

Statistical Analysis

All results were expressed in the form of mean. Continuous variables were described as median and interquartile range and compared using the nonparametric Kruskal–Wallis test. Categorical variables were compared using χ^2 or Fisher exact test (unilateral test), as appropriate (SPSS 19, SPSS). The survival analyses were performed by using Kaplan–Meier and log-rank tests. The mice that did not show aneurysm formation were not excluded from the analysis. A *P* value ≤ 0.05 was considered as significant.

Results

tPA and Plasmin Are Present in the Arterial Wall of Aneurysmal Cerebral Arteries

IAs were induced and monitored as described (Figure 1A) in WT mice (n=12). This induction allowed forming sacciform aneurysms that can spontaneously rupture. Detection of symptomatic aneurysmal ruptures was addressed daily via a neurological score.^{21,25} Symptomatic animals were immediately analyzed by MRI to assess the presence of intracranial bleedings and ruptured aneurysms (Figure 1B). Ruptures of IAs were confirmed by macroscopic visualization of harvested brains (Figure 1B). MRI for IAs detection perfectly matched with macroscopic observations (Figure 1C). The presence of tPA and plasminogen/plasmin were investigated in aneurysmal arteries and compared with normal contralateral arteries by immunohistochemistry. IA walls showed luminal bloating and asymmetrical wall thickening at multiple vascular localizations, especially around the distal intracerebral bifurcations

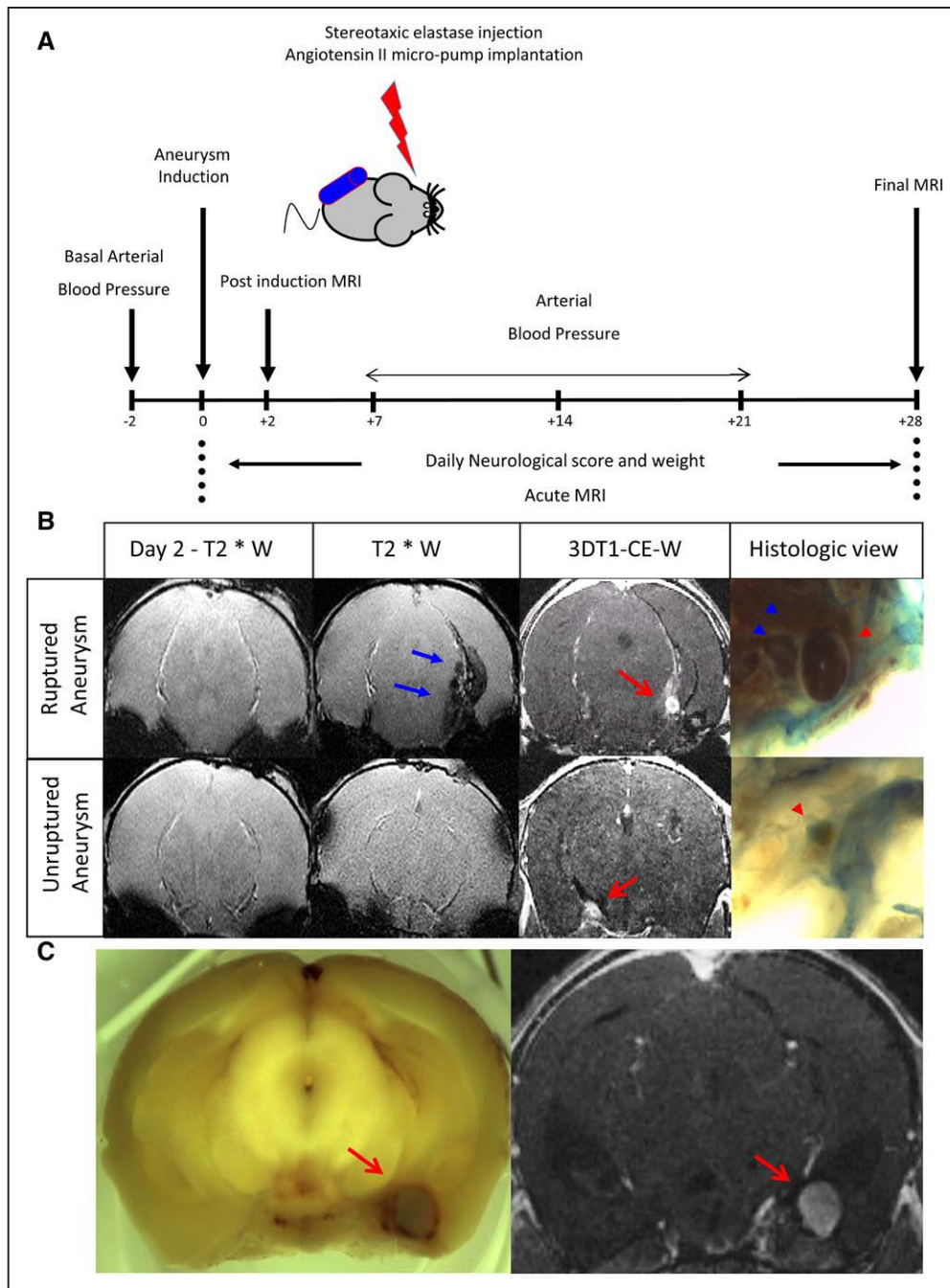


Figure 1. Experimental protocol. **A**, Six-weeks-old male mice maintained hypertensive by a chronic infusion of angiotensin II received a single stereotaxic injection of elastase to induce IAs. A clinical score and an magnetic resonance imaging (MRI) follow-up during the next 28 days allowed us to identify symptomatic and asymptomatic IA. **B**, At day 2, a T2*W (T2*-weighted) sequence was performed to exclude bleeding caused by the stereotaxic injection itself. **Top**, at day 7, symptomatic mice were subjected to MRI analyses: the T2*W sequence showed the appearance of a hyposignal (blue arrow) on the subarachnoid spaces; the 3-dimensional T1 contrast enhanced weighted (3DT1-CE-W) confirmed the presence of an IA (red arrow). The macroscopic analysis confirmed a bleeding (blue arrow head) and the presence of a ruptured aneurysm (red arrow head). **Bottom**, a MRI was performed on asymptomatic mice at day 28 showing the absence of bleeding on T2*W but the presence of an unruptured aneurysm (red arrow) confirmed by macroscopic examination (red arrow head). **C**, Higher magnification of the correlation between MRI (**left**) and the histological (**right**) identification of aneurysms.

when compared with contralateral arteries (Figure 2A). A massive tPA-positive immunostaining was revealed in the peripheral parts of the media and the adventitia for both ruptured and unruptured IAs (Figure 2B), with only a slight tPA-positive staining in the luminal part of the intima of normal arteries (Figure 2C). Immunostainings also revealed the presence of

plasminogen/plasmin in the arterial walls of both ruptured and unruptured IA with a same distribution in the media of the pathological arterial walls (Figure 2B). Interestingly, immunostainings performed from human tissue samples also revealed the presence of tPA and plasminogen/plasmin within the arterial wall of IA arteries (Figure 2D).

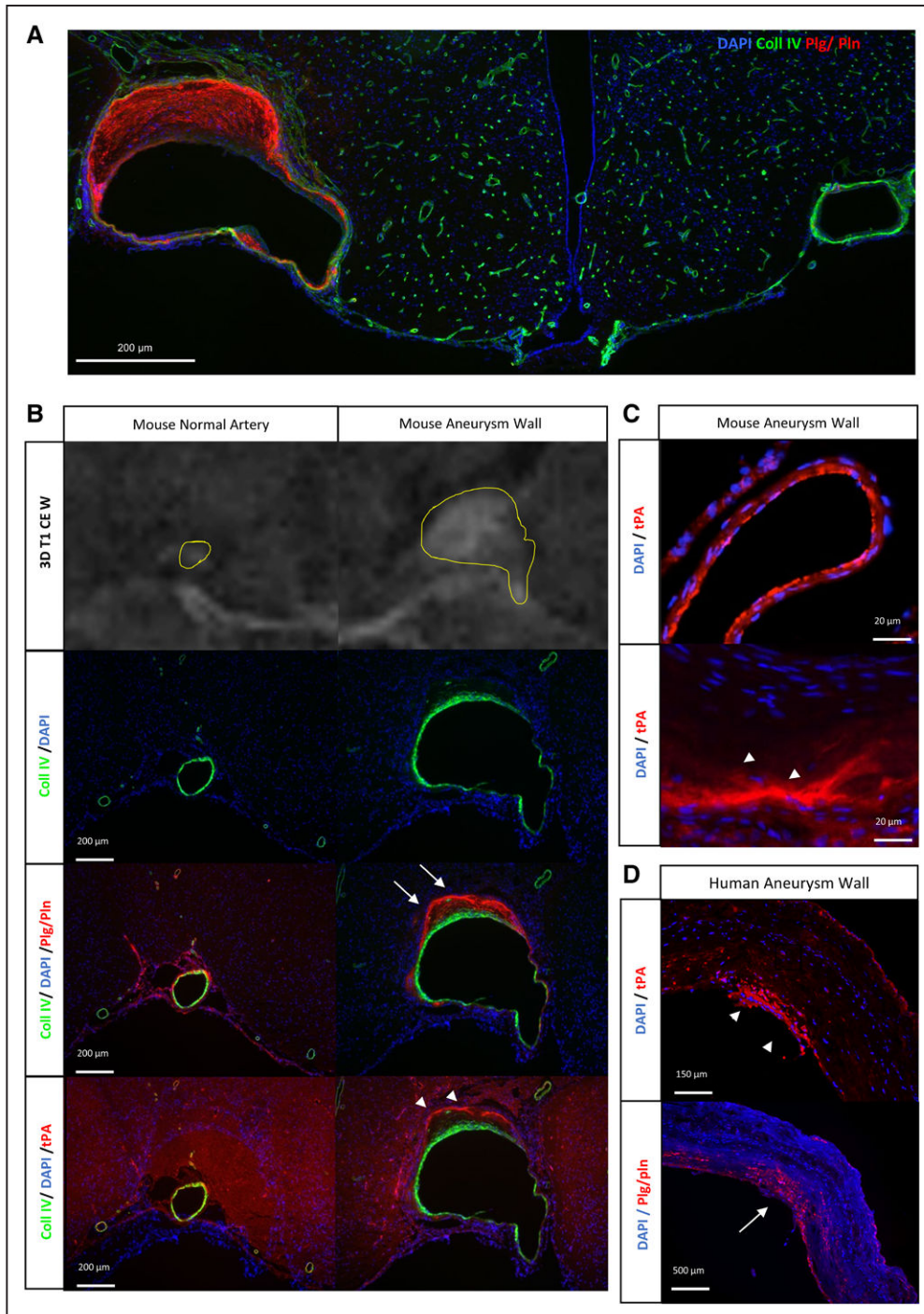


Figure 2. Overexpression of tPA (tissue-type plasminogen activator) and of plasminogen/plasmin within the aneurysmal wall. **A**, Representative immunohistochemistries performed from wild-type (WT) mice ($n=10$) displaying unruptured intracranial aneurysms (collagen-IV [Coll IV] in green, plasminogen [Plg]/plasmin [Pln] in red, and 4',6-diamidino-2-phenylindole in blue). An aneurysm can be visualized on the **left** and a healthy contralateral artery on the **right**. **B**, Representative immunohistochemistries performed from WT mice displaying unruptured intracranial aneurysms for both Pln/Plg (white arrow) and tPA (white arrow head). An aneurysmal artery can be visualized on the **right** and a healthy contralateral artery on the **left**. **C**, Immunohistochemistries with high magnification on WT mice showing the endothelial repartition of tPA in normal artery (**top**) as its parietal presence in the aneurysm (white arrow head, **bottom**). **D**, Representative immunohistochemistries performed from intracranial aneurysms harvested on human after microsurgical clipping, showing the presence of tPA (white arrow head) and Plg/Pln (white arrow). Scale bars: **A**, 200 μm ; **B**, 200 μm ; **C**, 20 μm ; and **D**, 150 μm , 500 μm .

Deletion of tPA Protects Against IAs Formation and Rupture

The influence of endogenous tPA on the formation and rupture of IAs was investigated in tPA-deficient (tPA $^{-/-}$; $n=12$),

PAI-1-deficient (PAI-1 $^{-/-}$; $n=12$), and compared with WT littermates ($n=12$). No significant difference in the mean systolic blood pressure was observed between groups (Figure IIA in the [online-only Data Supplement](#)). Similarly, aneurysm

induction invasiveness scores were not significantly different between groups (Figure IIB in the [online-only Data Supplement](#)). Patterns of aneurysms (no aneurysm, unruptured aneurysms, and ruptured aneurysms) between groups

are shown in Figure 3A. tPA^{-/-} animals were resistant to aneurysms formation ($P=0.004$) and subsequent ruptures ($P=0.017$) when compared with WT animals. Indeed, whereas only 40% of tPA^{-/-} mice ($n=10$) presented at least 1 aneurysm

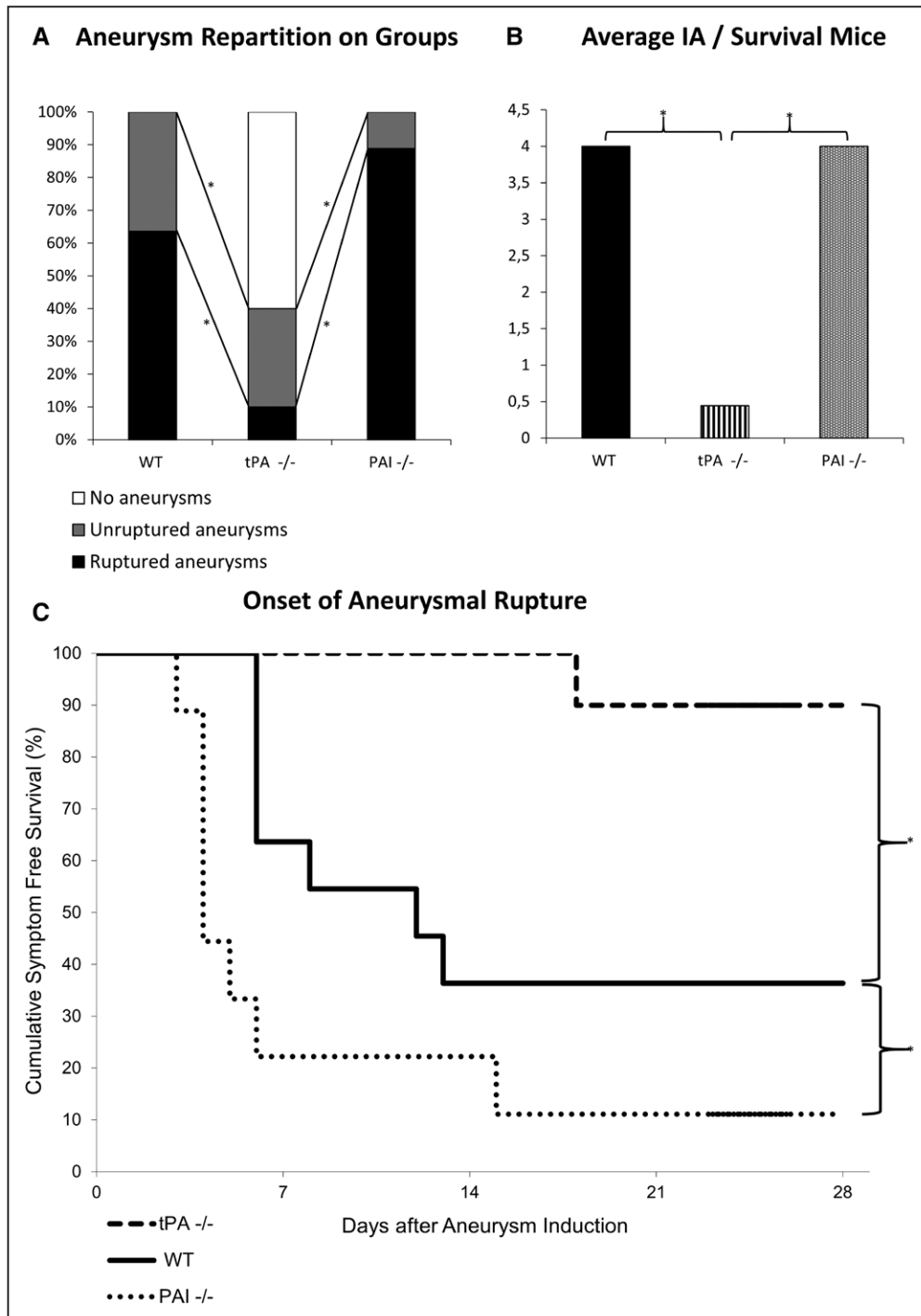


Figure 3. Lack of tPA (tissue-type plasminogen activator) protects against intracranial aneurysms formation and rupture. Intracranial aneurysms (IAs) were induced in tPA-deficient (tPA^{-/-}), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)-deficient (PAI^{-/-}), and wild-type (WT) mice. **A**, Aneurysm repartition in WT, tPA^{-/-}, and PAI^{-/-} mice shows that 100% of WT mice displayed at least 1 aneurysm and that 64% were symptomatic. tPA^{-/-} mice displayed less aneurysms formation ($P=0.004$) and rupture ($P=0.017$) with 60% of animals with no aneurysm. PAI^{-/-} mice displayed a phenotype similar than WT animals. $*P<0.05$. **B**, Kaplan–Meier analyses of asymptomatic mice at 28 days postinduction showed a better rate of survival for tPA^{-/-} mice and a worse rate of survival for PAI^{-/-} mice when compared with WT animals. **C**, Magnetic resonance imaging assessment of the number of aneurysms on surviving animals at day 28 showed that the average number of aneurysms was significantly higher in WT and PAI^{-/-} animals when compared with tPA^{-/-} mice. $*P<0.05$. The final enrolled animal number was WT ($n=11$), tPA^{-/-} ($n=10$), and PAI^{-/-} ($n=9$).

and only 10% had ruptured aneurysms, 100% of the WT animals (n=11) displayed at least 1 aneurysm and 64% had ruptured aneurysms. Accordingly, Kaplan–Meier analyses of asymptomatic mice at 28 days postsurgery revealed a higher proportion of healthy animals in the tPA^{-/-} group when

compared with the WT group (respectively 90% and 36%; $P=0.009$; Figure 3B). PAI^{-/-} mice displayed a pattern of unruptured and ruptured aneurysms similar to that of WT animals ($P=0.22$; Figure 3A). Indeed, in the PAI^{-/-} group, 100% of animals (n=9) harbored at least 1 aneurysm and 89% had

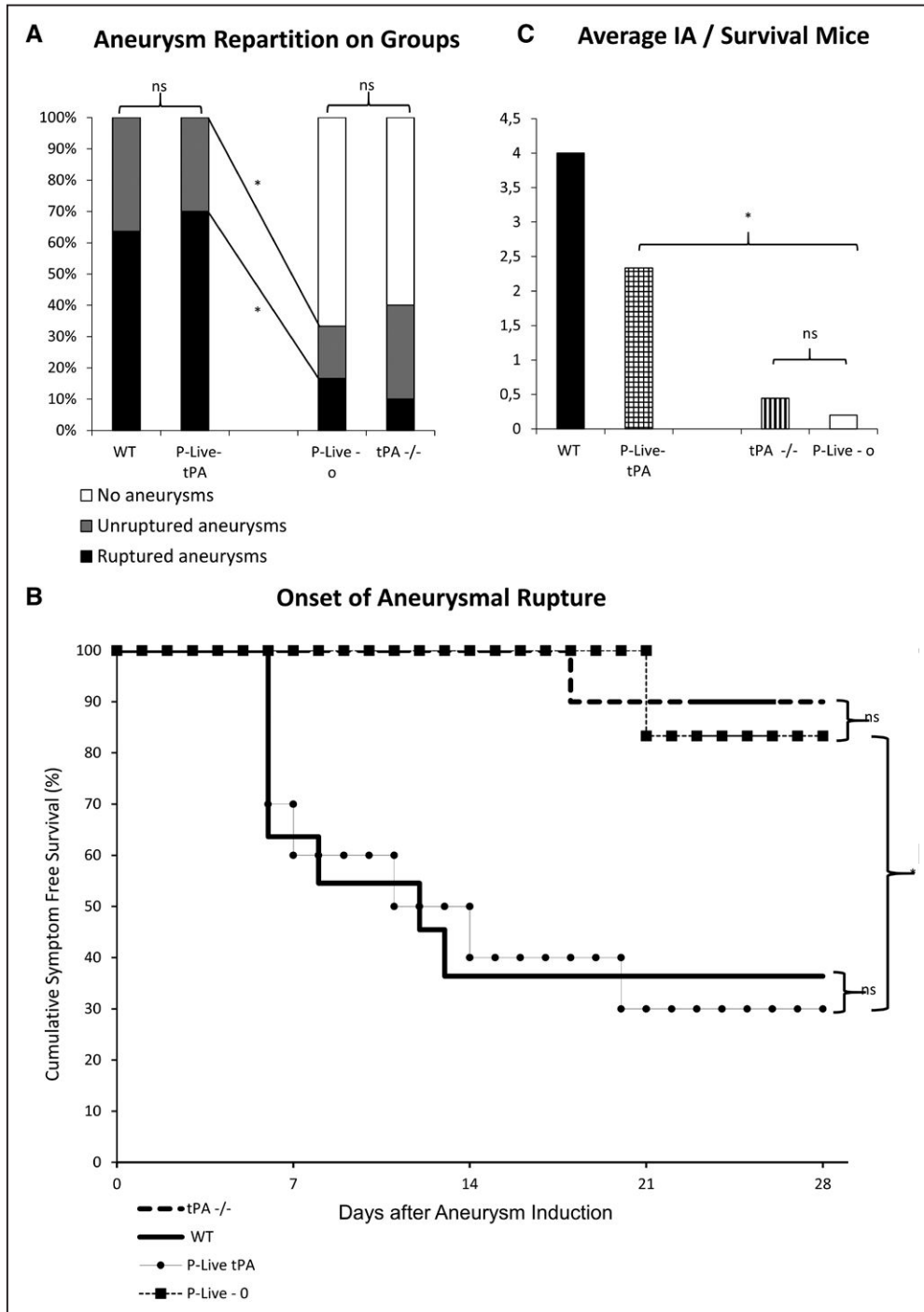


Figure 4. Vascular tPA (tissue-type plasminogen activator) contributes to aneurysms formation and rupture. Intracranial aneurysms (IAs) were induced in tPA deficient (tPA^{-/-}) 2 days after the mice were transfected (hydrodynamic transfections as described in the Methods in the [online-only Data Supplement](#)) with a plasmid encoding for tPA (P-Live-tPA) or an empty vector (P-Live-o). **A**, 100% of P-Live-tPA animals presented at least 1 ruptured aneurysm compared with P-Live-o animals at day 28. * $P<0.05$. **B**, Kaplan–Meier test revealed a better rate of survival for the P-Live-o mice when compared with P-Live-tPA animals. No significant difference was observed between wild-type (WT) and P-Live-tPA animals or between tPA^{-/-} and P-Live-o animals. **C**, Number of aneurysms on surviving mice at 28 days showed that the average number of aneurysms was significantly higher in the P-Live-tPA animals than in the P-Live-o animals. * $P<0.05$. The final enrolled animal number was P-Live-tPA group (n=10); P-Live-o group (n=6).

ruptured aneurysms. Nevertheless, the symptom-free survival Kaplan–Meier analysis revealed that PAI-/- mice displayed a significant higher rate of survival when compared with WT animals ($P=0.049$; Figure 3B). These results are explained by the fact that in PAI-/- mice, ruptures occurred earlier than in WT mice (Figure 3B). MRI analyses of the number of aneurysms in surviving mice at the end of the experiment at 28 days are shown in Figure 3C. WT ($P=0.003$) and PAI-/- ($P=0.002$) groups had more aneurysms than tPA-/- group.

Vascular tPA Contributes to IAs Formation and Subsequent Rupture

Thus, we sought to determine which tPA vascular or parenchymal, contributed to aneurysm formation and subsequent rupture in our model. Hydrodynamic transfections in tPA-/- mice with a pLIVE plasmid encoding for the rat tPA (P-Live-tPA) induced a vascular release of proteolytically active tPA in the circulation as soon as 24 hours after hepatic transfection,^{23,24} compared with the levels of tPA present in the circulation of control empty P-Live plasmid (P-Live-o; Figure ID in the [online-only Data Supplement](#)). Although in the P-Live-tPA group ($n=10$), 100% of animals displayed at least 1 aneurysm at day 28 with 70% of them ruptured (Figure 4A), in the P-Live-o group ($n=6$) only 33% of mice presented at least 1 aneurysm, and only 17% were symptomatic (Figure 4A). Therefore, P-Live-tPA animals presented significantly more aneurysms ($P=0.008$) with an increased number of ruptured aneurysms ($P=0.059$) than P-Live-o animals. Accordingly, the symptom-free survival Kaplan–Meier analysis (Figure 4B) shows a better rate of survival for P-Live-o mice than for P-Live-tPA animals ($P=0.028$). Moreover, regarding surviving mice at the end of the experiment (Figure 4C), P-Live-tPA mice presented a higher average number of aneurysms ($P=0.036$) than P-Live-o mice. It is interesting to note (Figure 4A and 4B) that the symptom-free survival rate of P-Live-tPA was not different from that of WT mice ($P=0.908$) and that the symptom-free survival rate of P-Live-o animals was similar to that of tPA-/- mice ($P=0.74$). Immunostainings for tPA performed in tPA-/- mice (Figure IIIA in the [online-only Data Supplement](#)) clearly show the absence of tPA in the endothelium, in the media, and in the adventitia of normal arteries. Interestingly, tPA-/- mice develop IAs when the tPA is overexpressed and released in the vasculature after hydrodynamic transfection of liver cells.

Immunostainings raised against CD4 revealed the presence of inflammatory cells in the thickened wall of IAs, in mice (Figure IIIB in the [online-only Data Supplement](#)). Moreover, a clear positive and specific staining for CD11 b was also observed in the wall of IAs in mice (Figure IIIC in the [online-only Data Supplement](#)). It is interesting to note that the stain was observed as well within the wall of IA than fixed at the endothelium during the diapedesis

Discussion

Our data reveal that tPA present in the circulation is a putative pharmacological target to prevent IAs formation and, thus, their subsequent ruptures. To our knowledge, we provide the first preclinical demonstration of a role of tPA in the formation of aneurysms. We show the presence of tPA and its

substrate, plasminogen, in the arterial walls of cerebral aneurysms in both rodents and humans. Our preclinical data then demonstrate that the absence of tPA reduces the incidence of aneurysms. Interestingly, this effect is merely counteracted by the rescue of active tPA in the circulation. Accordingly, PAI-1-/- mice (PAI-1 being the main inhibitor of tPA in the circulation²⁶) are highly sensitive to aneurysms formation and subsequent ruptures. The presence of tPA within the aneurysmal wall contrast with its location site in the luminal part of the endothelial cells of normal arteries (Figure 2B and 2C; Figure IIIA in the [online-only Data Supplement](#)). tPA-/- mice develop IAs only when the tPA is overexpressed in the blood stream (Figure 4A and 4B). These data suggest that the tPA present in the blood stream is enough to promote aneurysms formation and rupture. Even if we did not properly investigate the source of the tPA present in the aneurysmal wall, our hypothesis that it comes from the blood stream is in agreement with the recent publications demonstrating the capacity of tPA to cross the blood–brain barrier.^{13,14,24} Also, we can propose that the vascular tPA is responsible for aneurysms formation.

Although the involvement of tPA in aneurysms formation is similarly observed between either WT and tPA-/- mice or tPA-/- p-live-empty vector and tPA-/- Plive-tPA, differences in IAs rupture reached significance only between WT and tPA-/- mice. This could be explained by the fact that the expression of tPA is only transient after hydrodynamic transfection (from 1 to 7 days),²⁴ sufficient to induce aneurysms formation but may be too short to promote their rupture which can step afterward (38% from 7 to 14 days in our experiments, regardless of the genotype). This interesting shift suggests the continuity over time of the tPA influence on IAs because it has been reported in aortic aneurysms.¹⁸ Because the size of IAs is mainly described as a key factor for IAs rupture,^{2,5} we aimed to assess this parameter (data not shown). Probably because of important bias in the methodology, we did not evidence significant differences nor trend between groups on the size of IAs, which could have specified the mode of influence of tPA on the rupture of IAs.

Although aneurysmal formation and rupture may depend on several mechanisms,^{2,5,7,9} our data demonstrate an important contribution of tPA. Different mechanisms could explain our finding because the MMPs can be activated by tPA either directly or indirectly through plasmin.^{13,27} By their proteolytic activities, MMPs, especially MMP-2 and MMP-9, are also well known to contribute to the degradation of the internal elastic lamina, promoting IAs formation.^{7,8,10,12} Similarly, it was reported that inflammation causes an overexpression and overactivation of MMPs, not compensated by the action of their inhibitors (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases).^{27,28} Moreover, tPA is known to upregulate the expression of MCP-1 (monocyte chemoattractant protein type 1), then to stimulate diapedesis and to participate in the infiltration process of macrophages within the arterial wall²⁹ as we experimentally found-it in our model (Figure IIIB and IIIC in the [online-only Data Supplement](#)). Thus, tPA could indirectly contribute to aneurysm formation and rupture through a proinflammatory path.^{7,11,20} Our present data agree with this hypothesis, with the tPA present in the blood stream promoting the recruitment of macrophages in the IAs wall. These results are

in agreement with those reported from studies performed on aortic aneurysms that share some similarities with IAs.^{16–18,28} Thus, some studies have suggested that the LRP-1 (low density lipoprotein related protein receptor 1) protected against elastin fiber fragmentation by reducing excess of protease activity in the artery wall.²⁸ These proteases include MMP-2 and -9, some of them being direct or indirect targets of tPA.^{15,19,28} Even if abdominal aortic aneurysms and IAs present different clinical evolutions and responses to pharmacological therapies,^{17,30} there are several similarities between the 2, and some pathophysiological cross pathways may be proposed, such as the role of tPA.

There are known direct inhibitors of tPA (such as neuroserpin and PAI-1) or indirect inhibitors (such as tranexamic acid via inhibition of plasmin) which could be used to prevent aneurysms formation and rupture.^{13,14} Our data obtained from PAI-1/– mice suggest that PAI-1 and PAI-1 mimetics²⁶ may be appropriate to prevent IAs formation and rupture. Additional studies are needed to address this important question. In conclusion, we propose the vascular tPA as a possible new target to prevent IA progression and rupture. However, because our present study was performed in a preclinical model of IAs, which does not completely fit with the pathogenesis of IAs formation and rupture in human, this conclusion should be cautioned. Further investigations are needed before translate these findings to clinic, thus, opening new avenues for the noninvasive prevention and treatment of IAs.

Acknowledgments

We thank Prof Carine Ali and Drs Anne-Laure Genevois and Gabriel Ichim for their help to edit this article.

Sources of Funding

This work was supported by grants from the French National Institute for Health and Medical Research and the Caen Normandie University, Fonds Européens de Développement Economique et Régional Normandie. This work is also part of an Agence Nationale de la Recherche program entitled PREDIC (prevent delayed ischemia), ANR16-CE19-004-01.

Disclosures

None.

References

- 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;10:626–636. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70109-0.
- Ishibashi T, Murayama Y, Urashima M, Saguchi T, Ebara M, Arakawa H, et al. Unruptured intracranial aneurysms: incidence of rupture and risk factors. *Stroke*. 2009;40:313–316. doi: 10.1161/STROKEAHA.108.521674.
- Alleyne CH Jr. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage: have outcomes really improved? *Neurology*. 2010;74:1486–1487. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181e0ef1a.
- Sandvei MS, Mathiesen EB, Vatten LJ, Müller TB, Lindeklev H, Ingebrigtsen T, et al. Incidence and mortality of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in two Norwegian cohorts, 1984–2007. *Neurology*. 2011;77:1833–1839. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182377de3.
- Bacigaluppi S, Piccinelli M, Antiga L, Veneziani A, Passerini T, Rampini P, et al. Factors affecting formation and rupture of intracranial saccular aneurysms. *Neurosurg Rev*. 2014;37:1–14. doi: 10.1007/s10143-013-0501-y.
- Steiner T, Juvola S, Unterberg A, Jung C, Forsting M, Rinkel G; European Stroke Organization. European stroke organization guidelines for the management of intracranial aneurysms and subarachnoid haemorrhage. *Cerebrovasc Dis*. 2013;35:93–112. doi: 10.1159/000346087.
- Chalouhi N, Ali MS, Jabbour PM, Tjoumakaris SI, Gonzalez LF, Rosenwasser RH, et al. Biology of intracranial aneurysms: role of inflammation. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32:1659–1676. doi: 10.1038/jcbfm.2012.84.
- Frösen J, Piippo A, Paetau A, Kangasniemi M, Niemelä M, Hernesniemi J, et al. Remodeling of saccular cerebral artery aneurysm wall is associated with rupture: histological analysis of 24 unruptured and 42 ruptured cases. *Stroke*. 2004;35:2287–2293. doi: 10.1161/01.STR.0000140636.30204.da.
- 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;21:28–32. doi: 10.1016/j.jocn.2013.07.004.
- Chu Y, Wilson K, Gu H, Wegman-Points L, Dooley SA, Pierce GL, et al. Myeloperoxidase is increased in human cerebral aneurysms and increases formation and rupture of cerebral aneurysms in mice. *Stroke*. 2015;46:1651–1656. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.008589.
- Hashimoto T, Meng H, Young WL. Intracranial aneurysms: links among inflammation, hemodynamics and vascular remodeling. *Neurol Res*. 2006;28:372–380. doi: 10.1179/016164106X14973.
- 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;38:162–169. doi: 10.1161/01.STR.0000252129.18605.c8.
- Vivien D, Gauberti M, Montagne A, Defer G, Touzé E. Impact of tissue plasminogen activator on the neurovascular unit: from clinical data to experimental evidence. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2011;31:2119–2134. doi: 10.1038/jcbfm.2011.127.
- Macrez R, Ortega MC, Bardou I, Mehra A, Fournier A, Van der Pol SM, et al. Neuroendothelial NMDA receptors as therapeutic targets in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain*. 2016;139(pt 9):2406–2419. doi: 10.1093/brain/aww172.
- Kadoglou NP, Liapis CD. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis, surveillance and treatment of abdominal aortic aneurysms. *Curr Med Res Opin*. 2004;20:419–432. doi: 10.1185/030079904125003143.
- Oszajca K, Wronski K, Janiszewska G, Bieńkiewicz M, Bartkowiak J, Szemraj J. The study of t-PA, u-PA and PAI-1 genes polymorphisms in patients with abdominal aortic aneurysm. *Mol Biol Rep*. 2014;41:2859–2864. doi: 10.1007/s11033-014-3141-6.
- Davis FM, Rateri DL, Daugherty A. Abdominal aortic aneurysm: novel mechanisms and therapies. *Curr Opin Cardiol*. 2015;30:566–573. doi: 10.1097/HCO.0000000000000216.
- Lindholt JS. Activators of plasminogen and the progression of small abdominal aortic aneurysms. *Ann NY Acad Sci*. 2006;1085:139–150. doi: 10.1196/annals.1383.023.
- Lo EH, Wang X, Cuzner ML. Extracellular proteolysis in brain injury and inflammation: role for plasminogen activators and matrix metalloproteinases. *J Neurosci Res*. 2002;69:1–9. doi: 10.1002/jnr.10270.
- Gur-Wahnon D, Mizrahi T, Maaravi-Pinto FY, Loubopoulos A, Grigoriadis N, Higazi AA, et al. The plasminogen activator system: involvement in central nervous system inflammation and a potential site for therapeutic intervention. *J Neuroinflammation*. 2013;10:124. doi: 10.1186/1742-2094-10-124.
- Tada Y, Kanematsu Y, Kanematsu M, Nuki Y, Liang EI, Wada K, et al. A mouse model of intracranial aneurysm: technical considerations. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;111:31–35. doi: 10.1007/978-3-7091-0693-8_6.
- Makino H, Hokamura K, Natsume T, Kimura T, Kamio Y, Magata Y, et al. Successful serial imaging of the mouse cerebral arteries using conventional 3-T magnetic resonance imaging. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2015;35:1523–1527. doi: 10.1038/jcbfm.2015.78.
- Ahlén G, Frelin L, Holmström F, Smetham G, Augustyn S, Sällberg M. A targeted controlled force injection of genetic material in vivo. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2016;5:16016. doi: 10.1038/mtm.2016.16.
- Marcos-Contreras OA, Martinez de Lizarrondo S, Bardou I, Orset C, Pruvost M, Anfray A, et al. Hyperfibrinolysis increases blood-brain barrier permeability by a plasmin- and bradykinin-dependent mechanism. *Blood*. 2016;128:2423–2434. doi: 10.1182/blood-2016-03-705384.
- Makino H, Tada Y, Wada K, Liang EI, Chang M, Mobashery S, et al. Pharmacological stabilization of intracranial aneurysms in

- mice: a feasibility study. *Stroke*. 2012;43:2450–2456. doi: 10.1161/STROKEAHA.112.659821.
26. Gong L, Proulle V, Fang C, Hong Z, Lin Z, Liu M, et al. A specific plasminogen activator inhibitor-1 antagonist derived from inactivated urokinase. *J Cell Mol Med*. 2016;20:1851–1860. doi: 10.1111/jcmm.12875.
 27. Kang LI, Isse K, Koral K, Bowen WC, Muratoglu S, Strickland DK, et al. Tissue-type plasminogen activator suppresses activated stellate cells through low-density lipoprotein receptor-related protein 1. *Lab Invest*. 2015;95:1117–1129. doi: 10.1038/labinvest.2015.94.
 28. Strickland DK, Au DT, Cunfer P, Muratoglu SC. Low-density lipoprotein receptor-related protein-1: role in the regulation of vascular integrity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:487–498. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.301924.
 29. Lansley SM, Cheah HM, Varano Della Vergiliana JF, Chakera A, Lee YC. Tissue plasminogen activator potently stimulates pleural effusion via a monocyte chemotactic protein-1-dependent mechanism. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2015;53:105–112. doi: 10.1165/rcmb.2014-0017OC.
 30. Zhou X, Ji WJ, Tu Y, Yao M, Li YM. Abdominal aortic aneurysm and cerebral aneurysm present different pathological evolutions and responses to pharmacological therapy. *Med Hypotheses*. 2007;68:601–606. doi: 10.1016/j.mehy.2006.06.062.



Stroke

Stroke

JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION



Vascular Tissue-Type Plasminogen Activator Promotes Intracranial Aneurysm Formation

Paul-Emile Labeyrie, Romain Goulay, Sara Martinez de Lizarrondo, Marie Hébert, Maxime Gauberti, Eric Maubert, Barbara Delaunay, Benjamin Gory, Francesco Signorelli, Francis Turjman, Emmanuel Touzé, Patrick Courthéoux, Denis Vivien and Cyrille Orset

Stroke. published online July 28, 2017;

Stroke is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231

Copyright © 2017 American Heart Association, Inc. All rights reserved.

Print ISSN: 0039-2499. Online ISSN: 1524-4628

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:

<http://stroke.ahajournals.org/content/early/2017/07/28/STROKEAHA.117.017305>

Data Supplement (unedited) at:

<http://stroke.ahajournals.org/content/suppl/2017/07/28/STROKEAHA.117.017305.DC1>

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Stroke* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the [Permissions and Rights Question and Answer](#) document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:
<http://www.lww.com/reprints>

Subscriptions: Information about subscribing to *Stroke* is online at:
<http://stroke.ahajournals.org/subscriptions/>

**VASCULAR TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR (tPA) PROMOTES
INTRACRANIAL ANEURYSM FORMATION**

ONLINE SUPPLEMENT

SUPPLEMENTAL METHODS

Mice

Male mice (20-25g /2 months, CURB) were housed (2 to 3 mice per cage) on a 12h light/dark cycle, with *ad libitum* access to food and water. Three different mouse strains were used: tissue-type plasminogen activator knockout mice (tPA^{-/-}, n=31), Plasminogen Activator Inhibitor-1 knockout mice (PAI^{-/-}, n=12) and their wild type littermates (WT, n=12) all on a C57BL/6J background. Animals were randomly assigned to the different experimental groups.

Induction of intracranial aneurysms

IAs were induced as described by Hashimoto et al.^{1,2}. Briefly, animals were deeply anesthetized using isoflurane 5% in a gas mixture of 70% NO₂/30% O₂ and maintained in 2% isoflurane (70% NO₂/30% O₂) during surgery. Mice were placed in a stereotaxic device and a craniotomy was performed using a cooled drill at the following coordinate from the Bregma - 2.5 posterior, +2.5 lateral and +5.5 deep. Using a thermoformed glass micropipette, 2.5 μL of elastase (35 mU diluted in saline solution; Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau, France) were injected over 10 minutes in the right basal cistern. The stereotaxic injection was immediately followed by subcutaneous implantation of an osmotic pump (p1001, Alzet®, Durect Corporation, Cupertino, USA) filled with angiotensin-II (800μg in 90μl saline solution, Sigma Aldrich, L'isle d'Abeau, France) allowing a diffusion rate of 37ng/ min over 14 days. An analgesic coverage was performed by subcutaneous injection of 100 μL of buprenorphine solution at 0.02mg/mL, 0.1 mg/kg body weight per animal (Buprenorphine Arrow, Laboratoire Arrow, Lyon, France). To ascertain the induction and check the profile of systemic hypertension induced by angiotensin II, repeated blood pressure measurements were blindly made within experimental groups. In all the three groups of mice (WT, tPA^{-/-} and PAI^{-/-}), systolic blood pressure measurement by the tail-cuff method was used in conscious mice as recommended in previous studies^{2,3}. At day 2, a MRI was performed to exclude animals presenting a brain hemorrhage caused by the stereotaxic injection. Each animal was evaluated for inclusion criterion using a semi-quantitative Aneurysm Induction Invasiveness Score (AIIS) composed of 4 items (A: craniotomy, B: elastase injection, C: waking up, and D: MRI control) each quoted from 1 to 4 (Supplemental figure 1.A). All animals with a score over 7 were excluded from the study.

Neurological evaluation

All animals were analyzed twice a day for detection of neurological symptoms and weight loss over a period of 28 days post-induction. Weight loss was considered significant for a body weight loss of 10% or more per 24 hours. Neurological symptoms^{2,3} were quantified as follows: inflexion of the torso and forelimbs on lifting of the whole animal by the tail; circling to one side with a normal posture at rest; leaning to one side at rest; no spontaneous activity. Symptomatic mice were immediately scanned by 7T MRI for the identification of intracranial hemorrhages and of ruptured aneurysms. The period before symptoms occurs, mice were considered as symptom free surviving animals and this time was evaluated and quoted per day after aneurysm induction. At 28 days marking the term of the study, all asymptomatic mice were scanned by 7T MRI prior to euthanasia as their MRI analyses were also used to estimate the number of unruptured aneurysms as well as the absence of bleeding. IAs lesion were

observed on each mouse, at the acute phase of rupture when symptomatic and at the end of the experiment (day 28) in the absence of rupture.

Magnetic Resonance Imaging analysis

Experiments were carried out on a Pharmascan 7T/12 cm system using surface coils (Bruker, Germany). During acquisitions, anesthesia was maintained using isoflurane 1.5% (70%/30% mixture of NO₂/O₂). T2*-weighted sequence (T2*W) were acquired using a FLASH (fast low angle shot) sequence and used to detect intracranial hemorrhage as a specific hyposignal⁴. 3D T1 Contrast Enhanced Weighted (3DT1-CE-W) sequence after intra peritoneal gadolinium injection (Gadovist® 1mg/kg, Guerbet, Villepinte, France) was performed to visualize IA defined as an abnormal sacciform outpouching of the wall of intracranial arteries of which the diameter is >150% of the parent artery diameter⁴.

Two observers including a 5 year-experienced neuroradiologist specialist on aneurysm disease reviewed the images.

Hydrodynamic transfection of tPA

Generation of pLIVE plasmids: the coding sequence for rat tPA was inserted into a mouse hepatocyte specific plasmid (pLIVE) (Supplemental Figure 1.B).

Hydrodynamic transfection: Hydrodynamic transfections were performed as previously described^{5,6}. To assess the time course of efficiency of gene delivery, we have previously investigated⁶ the presence of active and free (non-complexed) plasmatic tPA (and other possible plasminogen activators) by direct fibrin zymography following sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), performed from plasma samples harvested before and after hepatic (hydrodynamic) transfection at day 1, 2, 3, 5, 7 and 14⁶. Then, PA-/- mice considered for IA induction, were injected two days before induction with 100µg of pLIVE vector encoding for tPA (n=11) or empty pLIVE vector (n=9). A large volume, 10% of body weight, of plasmid-containing saline buffer was injected in the tail vein in less than 5 seconds (Supplemental Figure 1.C)⁵. Then, sentinel mice induced for IA were used to control levels of active plasmatic tPA, 24 hours after hydrodynamic transfection (Supplemental Figure 1.D) (time when the highest plasmatic levels of active tPA are reached), as previously described⁶. Human tPA (Actilyse®, Boehringer Ingelheim Paris, France) and plasmin (Enzyme Research Laboratoires, South Bend, USA) were used as loading controls⁶.

Immunohistochemistry

Mouse tissue samples: each mouse was anesthetized and transcardially perfused with cold heparinized saline (50ml) followed by 100ml of fixative solution (PBS 0.1M: pH 7.4 containing 2% paraformaldehyde and 0.2% picric acid). Brains were cryoprotected (sucrose 20% in veronal buffer; 48h; 4°C) before freezing in Tissue-Tek (Miles Scientific, Naperville, USA). Cryomicrotome-cut transversal sections (12 µm) were collected on poly-lysine slides and stored at -80°C before processing.

Human samples: Human aneurysm samples were obtained during microsurgery by resecting the aneurysm sac distal to the clip closing the neck (F.S; Department of Vascular Neurosurgery, Hôpital Pierre Wertheimer; University of Lyon, France). Samples were obtained

from a 42-year-old woman, who suffered from SAH after a rupture of a 7mm large, middle cerebral artery IA. Tissues were immediately stored for two hours in fixative (PBS 0.1M: pH 7.4 containing 2% paraformaldehyde and 0.2% picric acid) then cryoprotected (sucrose 20% in veronal buffer; 48h; 4°C) before freezing in Tissue-Tek. Then, cryomicrotome-cut transversal sections (12µm) were collected on poly-lysine slides and stored at -80°C before processing.

Immunohistochemistry: Mouse and Human tissue sections were incubated overnight with the following primary antibodies as described in the corresponding legend, including a goat anti-collagen IV (1/1500, Southern Biotech, Birmingham, USA), a sheep anti-plasmin/plasminogen (Pln/Plg) polyclonal antibody (1/5000, kindly provided by HR Lijnen, University of Leuven, Belgium), a rabbit anti-tPA monoclonal (1/3000, provided by HR Lijnen, University of Leuven, Belgium), a rabbit anti-CD 11b monoclonal antibody (1/600, eBioscience, Paris, France) and a mouse anti-CD 4 monoclonal antibody (1/250, eBioscience, Paris, France) in veronal buffer (pH: 7.4). Primary antibodies were revealed with the appropriate secondary antibodies (FITC, Cy3 or Cy5, 1/500, Jackson Immunoresearch Suffolk, UK). Washed sections were cover slipped with antifade medium containing DAPI and images were digitally captured using a Leica DM6000 microscope-coupled coolsnap camera, analyzed with Metamorph® (Molecular Devices, Sunnyvale, USA) and Image J 1.46r (NIH, USA) softwares. For each animal, vascular wall and aneurysm were analyzed.

Statistical analysis

All results were expressed in the form of mean. Continuous variables were described as median and interquartile range (IQR), and compared using the nonparametric Kruskal Wallis test. Categorical variables were compared using Chi-2 or Fisher's exact test (unilateral test), as appropriate (SPSS 19, SPSS inc, Chicago USA). The survival analyses were performed by using Kaplan-Meier and log rank tests. The mice that did not show aneurysm formation were not excluded from the analysis. A p-value ≤ 0.05 was considered as significant.

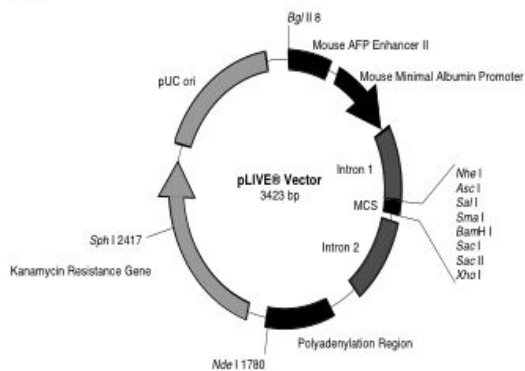
SUPPLEMENTAL FIGURES AND FIGURE LEGENDS

Supplemental Figure I

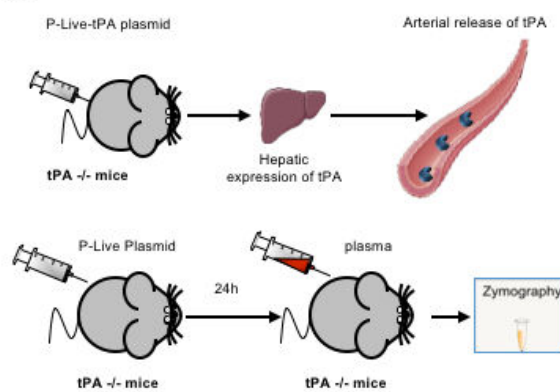
A Itemized Aneurysm Induction Invasiveness Score on mice

	I	II	III	IV
Craniotomy (= A)	no bleed	small bleeding yield spontaneously	small bleeding with local hemostasis needed	important bleeding extended local hemostasis
Technical success before awake (= B)	full technical success general anesthesia < 30 min	small technical failure general anesthesia < 40 min	serious technical failure	peri-operative death
Post operative clinical state (= C)	rapid awakening without altering the general condition	delayed awakening > 10 min without altering the general condition	delayed awakening > 20 min with alteration of the general condition < 60 min.	neurological deficit ; delayed awakening > 40 min; alteration of general condition > 2 hour.
MRI aspect at Day 2 on T2*W (= D)	no bleed	micro bleed micro needle path bleed	significant sub-arachnoid hemorrhage or localized bleeding without mass effect	intra-parenchymal bleeding with mass effect; massive sub-arachnoid bleeding
A + B + C + D =	4 ≤ AIIS CLINICAL SCORE ≤ 16			
All mice with any item > 3, all mice with AIIS Score > 7 are withdraw from the study				

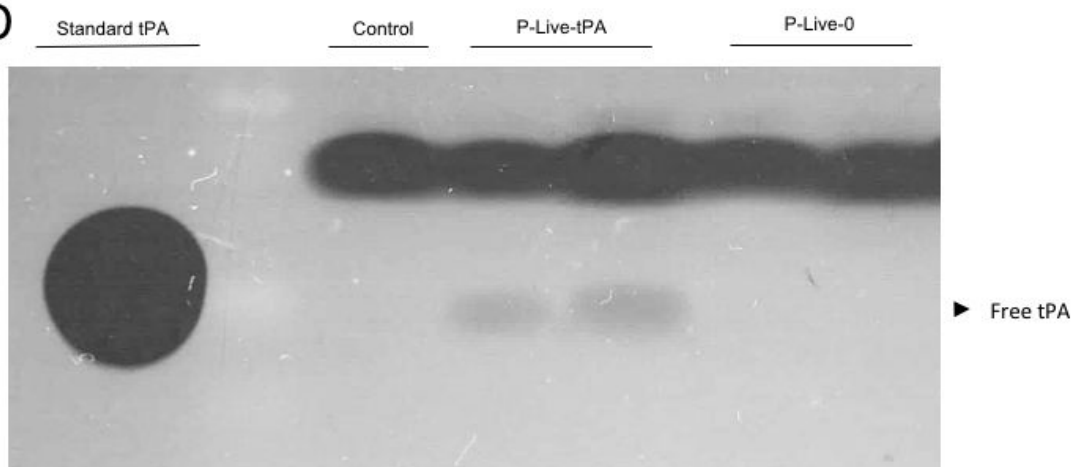
B



C

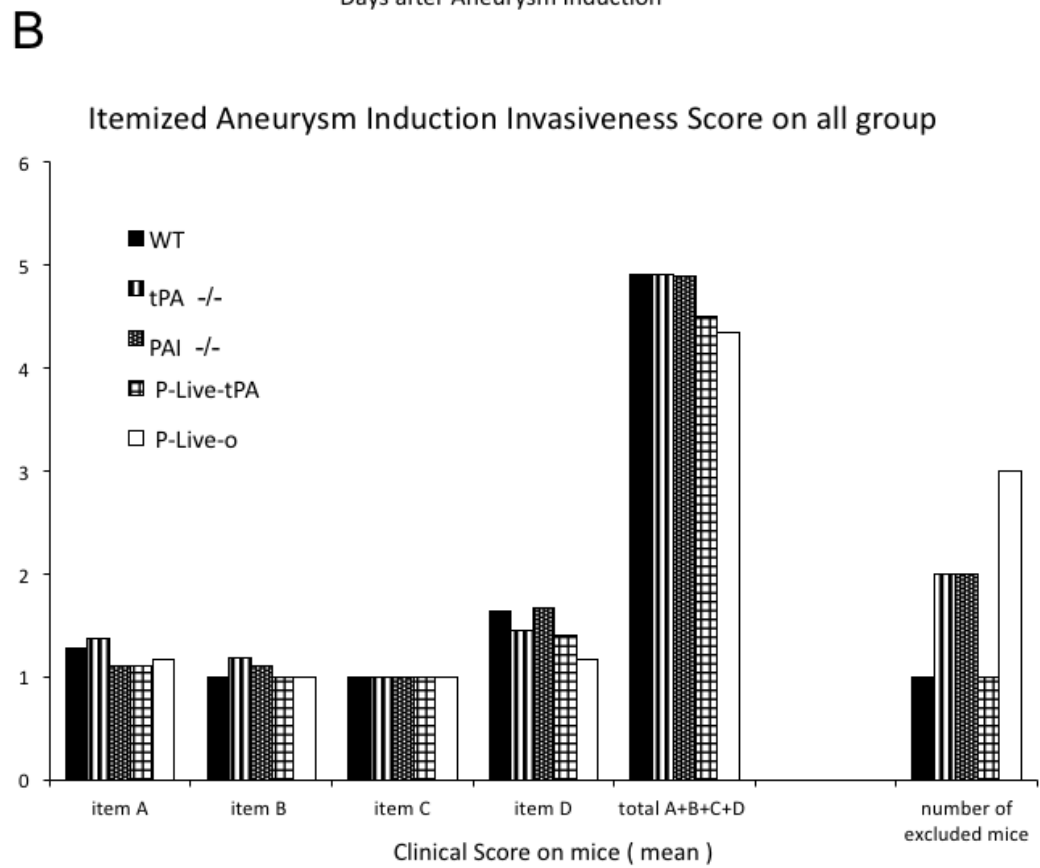
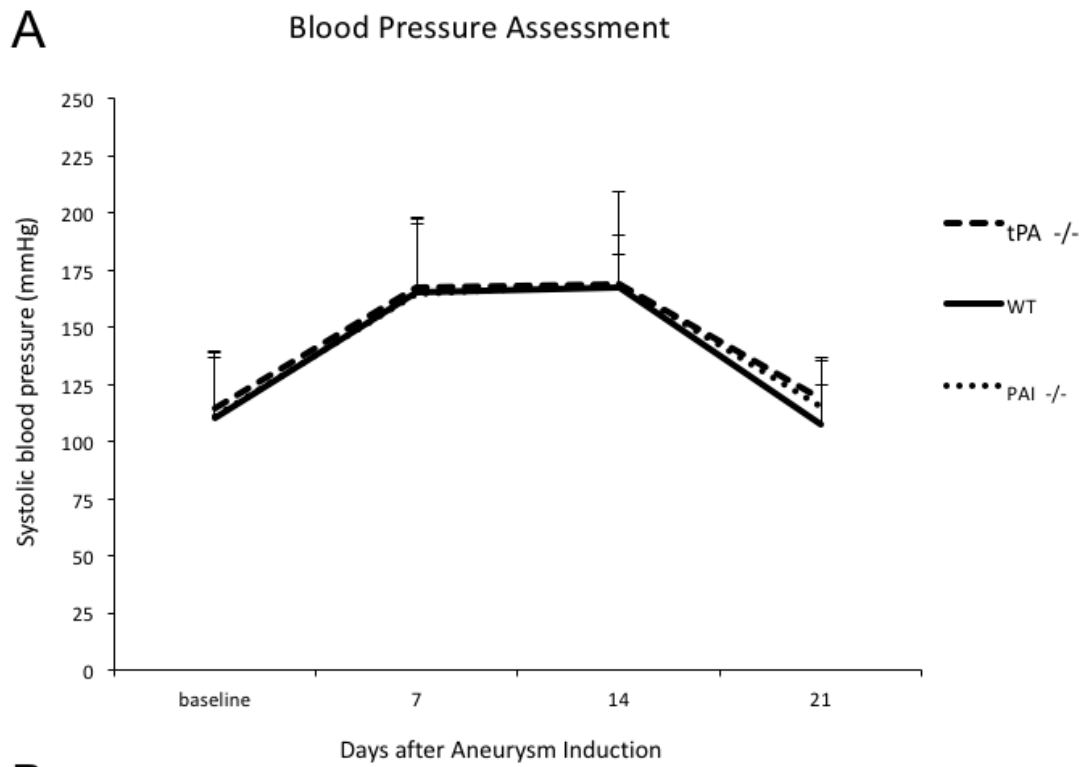


D



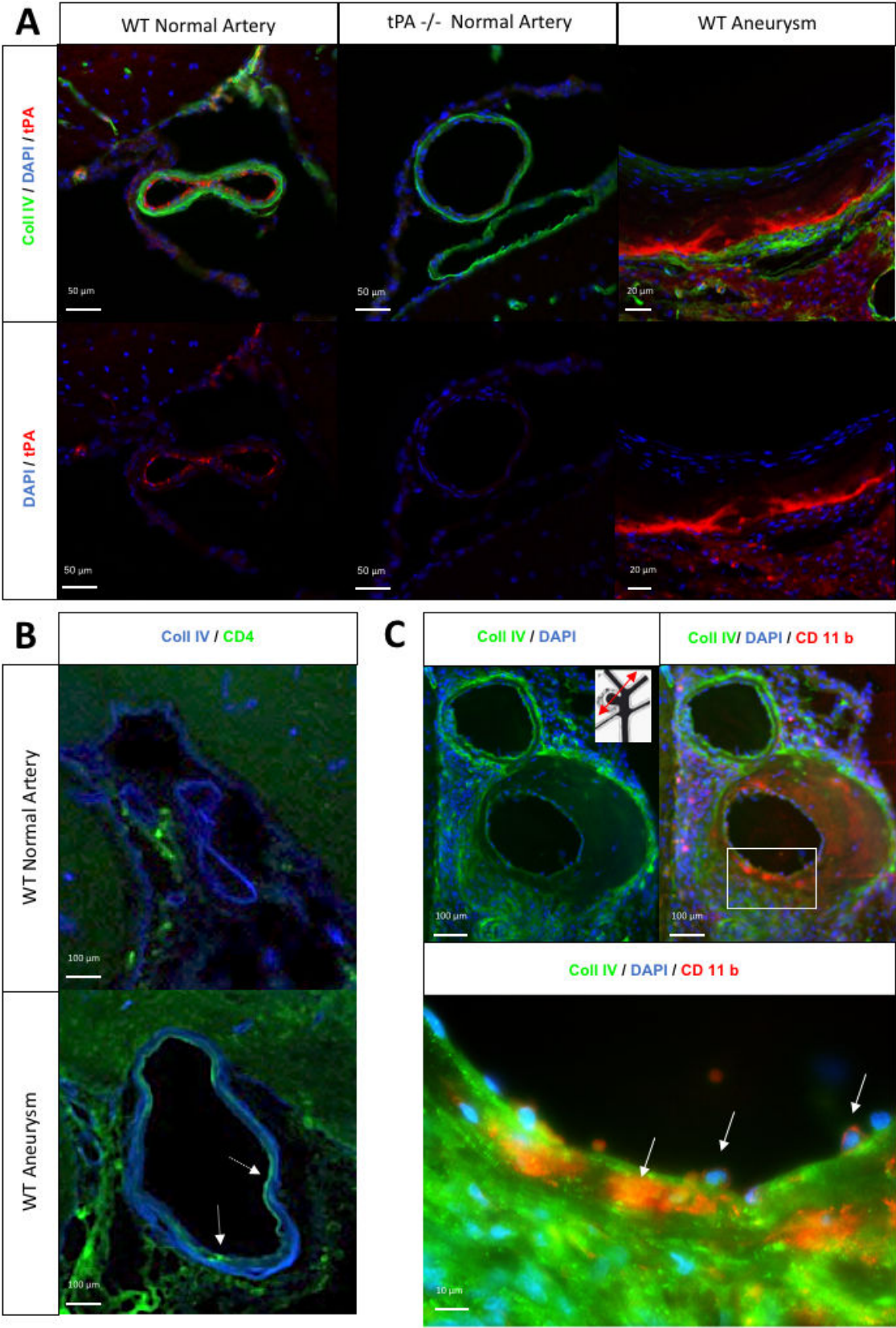
Supplemental Figure I. **A)** Detailed Aneurysm Induction Invasiveness Score **B)** Plasmid constructs used for hydrodynamic transfections with the cDNA encoding for tPA was placed under the control of a hepatocyte specific promoter. Two plasmids were generated, both with the same hepatocyte specific promoter: the first one is an empty plasmid (P-Live-o) and the second one containing a plasmid encoding for tPA (P-Live-tPA). **C)** Design of the procedure for hydrodynamic transfection. **D)** Fibrin-agar zymography assay performed in transfected mice (n =2 in P-Live-o group and n =2 in P-Live-tPA group) one day after hydrodynamic transfections revealed a strong expression and release of tPA in the blood stream in P-Live-tPA treated mice compared to control and P-Live-o mice.

Supplemental Figure II



Supplemental Figure II. **A)** Assessment of the systolic blood pressure using the tail cuff method showed that Angiotensin II treatment led to a significant increase of the systemic blood pressure. No difference was observed between groups **B)** No difference was found between Aneurysm Induction Invasiveness Score on groups. Excluded mice for each group: for tPA -/- n= 2 (one died during aneurysm induction and one was excluded at Day 2 because of an Aneurysm Induction Invasiveness score > 7); for WT, n=1 (excluded at Day 2 because of an Aneurysm Induction Invasiveness score > 7); for PAI -/-, n= 2 (one mouse was excluded at Day 2 because of an Aneurysm Induction Invasiveness score > 7 and one mouse died at day one post induction before examination); for -P-Live-tPA, n=1 (one mouse was excluded at Day 3 after dying from complication of stereotaxic injection procedure); for P-Live-o, n=3 (one mouse was excluded at Day because of an Aneurysm Induction Invasiveness score > 7, and two animals died at day 3 and day 4 without any documented relation with aneurysmal ruptures).

Supplemental Figure III



Supplemental Figure III. A) Representative immunohistochemistries performed from WT and tPA $-/-$ mice, on normal (right) and aneurysmal artery (left) (collagen-IV in green, tPA in red and DAPI in blue). This result permit in WT mice to compare the repartition of tPA in normal artery as in aneurysm. And also to demonstrate the lack of tPA positive stain in the artery of tPA $-/-$ mice. **B)** Representative immunohistochemistries exploring inflammatory process, performed from WT mice displaying unruptured intracranial aneurysms (collagen-IV in blue, tPA in red and CD 4 in green). Showing a specific stain of CD 4 (glycoprotein expressed on inflammatory celles) in the wall of the aneurysm on mice (white dotted arrow, lower panel) compared to his absence in the normal artery (upper panel). **C)** Immunohistochemistries exposing normal and aneurysmal artery on the same section (see section plan on left upper panel) of a WT mouse displaying ruptured intracranial aneurysms (collagen-IV in green, CD 11-b in red and DAPI in blue). This immunostaining highlighted a specific stain of the monocyte integrin implies in the diapedesis within the wall of the aneurysm as well as macrophage (white arrow, close-up on lower panel) during the diapedesis. This image show the inflammatory infiltration of the wall of IA induced in this model. Scale bars: A), 100 μm , 20 μm ; B), 100 μm ; C) 100 μm , 10 μm .

SUPPLEMENTAL REFERENCES

1. Hashimoto T, Meng H, Young WL. Intracranial aneurysms: links among inflammation, hemodynamics and vascular remodeling. *Neurol. Res.* 2006;28:372–380.
2. Tada Y, Kanematsu Y, Kanematsu M, Nuki Y, Liang EI, Wada K, et al. A mouse model of intracranial aneurysm: technical considerations. *Acta Neurochirurgica Suppl.* 2011;111:31-35
3. Makino H, Tada Y, Wada K, Liang EI, Chang M, Mobashery S, et al. Pharmacological Stabilization of Intracranial Aneurysms in Mice. *Stroke.* 2012;43:2450–2456.
4. Makino H, Hokamura K, Natsume T, Kimura T, Kamio Y, Magata Y, et al. Successful Serial Imaging of the Mouse Cerebral Arteries Using Conventional 3-T Magnetic Resonance Imaging. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2015;35:1523–1527.
5. Ahlén G, Frelin L, Hölmström F, Smetham G, Augustyn S, Sällberg M. A targeted controlled force injection of genetic material in vivo. *Mol. Ther. - Methods Clin. Dev.* 2016;3:16016.
6. Marcos-Contreras O, Martinez de Lizarrondo S, Bardou I, Orset C, Pruvost M, Anfray A. et al. Hyperfibrinolysis increases blood–brain barrier permeability by a plasmin- and bradykinin-dependent mechanism. *Blood.* 2016;128:2423–2434

Stroke Online Supplement

Table I. Checklist of Methodological and Reporting Aspects for Articles Submitted to *Stroke* Involving Preclinical Experimentation

Methodological and Reporting Aspects	Description of Procedures
Experimental groups and study timeline	<ul style="list-style-type: none"> ✓ The experimental group(s) have been clearly defined in the article, including number of animals in each experimental arm of the study. ✓ An account of the control group is provided, and number of animals in the control group has been reported. If no controls were used, the rationale has been stated. ✓ An overall study timeline is provided.
Inclusion and exclusion criteria	<ul style="list-style-type: none"> ✓ A priori inclusion and exclusion criteria for tested animals were defined and have been reported in the article.
Randomization	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Animals were randomly assigned to the experimental groups. If the work being submitted does not contain multiple experimental groups, or if random assignment was not used, adequate explanations have been provided. ✓ Type and methods of randomization have been described. ✓ Methods used for allocation concealment have been reported.
Blinding	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Blinding procedures have been described with regard to masking of group/treatment assignment from the experimenter. The rationale for nonblinding of the experimenter has been provided, if such was not feasible. ✓ Blinding procedures have been described with regard to masking of group assignment during outcome assessment.
Sample size and power calculations	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Formal sample size and power calculations were conducted based on a priori determined outcome(s) and treatment effect, and the data have been reported. A formal size assessment was not conducted and a rationale has been provided.
Data reporting and statistical methods	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Number of animals in each group: randomized, tested, lost to follow-up, or died have been reported. If the experimentation involves repeated measurements, the number of animals assessed at each time point is provided, for all experimental groups. ✓ Baseline data on assessed outcome(s) for all experimental groups have been reported. ✓ Details on important adverse events and death of animals during the course of experimentation have been provided, for all experimental arms. ✓ Statistical methods used have been reported. ✓ Numeric data on outcomes have been provided in text, or in a tabular format with the main article or as supplementary tables, in addition to the figures.
Experimental details, ethics, and funding statements	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Details on experimentation including stroke model, formulation and dosage of therapeutic agent, site and route of administration, use of anesthesia and analgesia, temperature control during experimentation, and postprocedural monitoring have been described. ✓ Different sex animals have been used. If not, the reason/justification is provided. ✓ Statements on approval by ethics boards and ethical conduct of studies have been provided. ✓ Statements on funding and conflicts of interests have been provided.

IV - Projet en cours

1 - Inhibition de l'axe tPA

Comme je l'ai déjà décrit, le principal aspect de mon travail de thèse était de prouver l'hypothèse selon laquelle le tPA était fortement impliqué dans la pathologie anévrysmale intracrânienne. Pour renforcer la preuve scientifique de ce concept, mais également pour trouver une applications pré-cliniques à nos découvertes nous voulions inhiber par voie pharmacologique l'effet du tPA chez les souris. Le tPA devenait donc une nouvelle cible thérapeutique pour prévenir la progression et la rupture des AIC.

Pour ce faire, nous avons essayé d'administrer des inhibiteurs spécifiques du tPA à des souris WT chez lesquelles des AIC avait été induits.

Il existait de nombreux inhibiteurs directs connus de tPA (tels que Neuroserpin et PAI-1) ou des inhibiteurs indirects (tels que l'acide tranexamique par inhibition de la plasmine) (Figure 8.-8.B) qui pourraient être utilisés pour prévenir la formation et la rupture des anévrysmes. Il existait également des thérapeutiques originales développées dans notre laboratoire et déjà disponibles.

1.1 - Inhibition centrale du tPA par immunothérapie

Dans une étude antérieure réalisée par l'équipes SP2U et collaborateurs, il a été montré que le blocage du site de fixation du tPA sur le récepteur NMDA-R diminuait les complications du tPA dans un modèle animal d'AVC ischémique. De manière simplifiée, l'effet associé était précisément une diminution de destruction de la barrière hémato-encéphalique par inhibition de la fonction endothéliale du NMDAR et de l'effet pro-inflammatoire associé au tPA ¹⁶⁰. Nous

avons donc induit des AIC toujours selon le même modèle chez des souris WT puis à J2 après l'induction les souris ont bénéficié d'une unique injection (100 mg) dans la veine caudale avec un anticorps monoclonal anti-NMDA-R (15A4B2E5: Glunomab) qui se fixe sur le récepteur NMDA-R sans l'activer à l'endroit où le tPA se fixe.

Les résultats de cette expérience de pharmacostabilisation par immunothérapie sont exposés dans la (Figure 10).

L'inhibition de l'axe tPA / NMDAR n'a pas conduit à une diminution de la formation des AIC dans le modèle comparativement aux témoins. Par ailleurs il n'y a pas eu de diminution de la rupture des AIC comme en atteste la survie sans symptômes qui est superposable à celle des animaux WT. Nous n'avons pas mis en évidence d'effet protecteur du Glunomab dans la pathologie anévrysmale intracrânienne.

1.2 - Inhibition indirecte du tPA via inhibition de la plasmine.

L'axe tPA/Plasmine/ MMP était suspecté comme étant promoteur du remodelage matriciel dans la paroi des AIC. D'ailleurs les premières analyses immunohistochimiques que nous avons réalisées retrouvaient un marquage massif de plasmine et de tPA dans la paroi des AIC. Nous avons donc cherché à inhiber l'action de la plasmine par un de ses inhibiteurs connu déjà utilisé chez l'Homme : L'acide tranexamique.

Malheureusement, les conditions pratiques de l'administration (injection d'acide tranexamique) de ce traitement ont été très difficiles à réaliser. Les souris ont très mal toléré, et nous avons dû interrompre l'étude en raison d'un fort taux de mortalité (données non présentées). Nous réfléchissons toujours à optimiser ces conditions pour réitérer l'expérience.

Figure 10 Echec de la pharmaco-stabilisation des AIC grâce au Glunomab®.

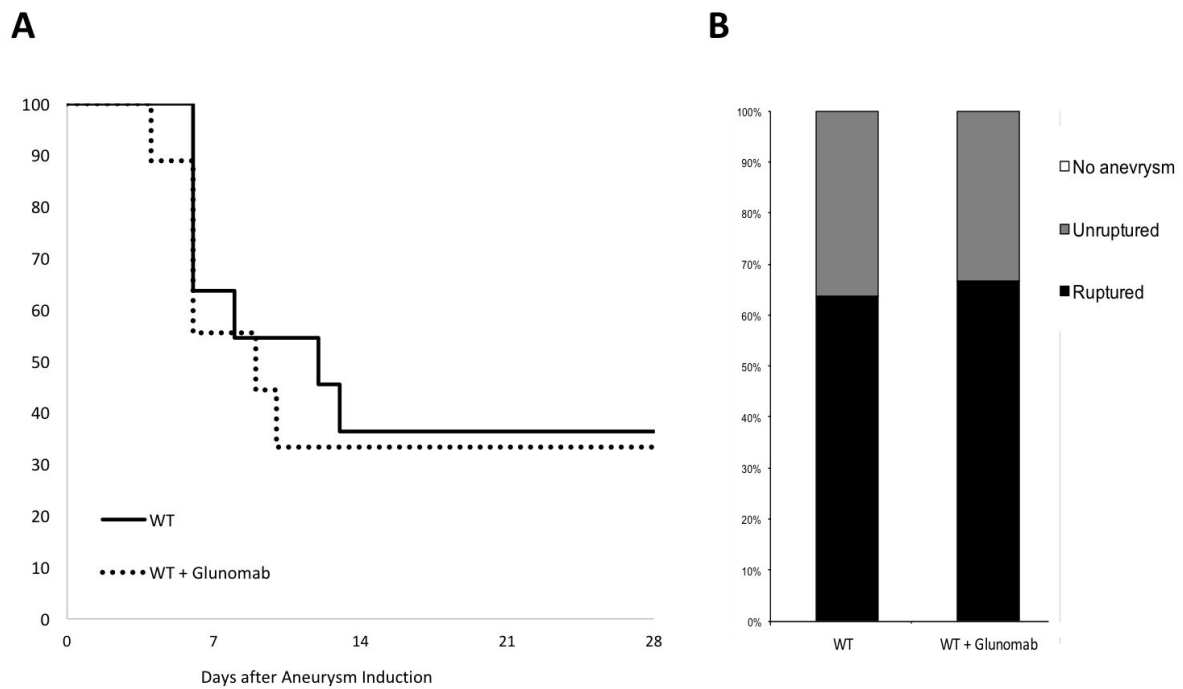


Figure 10 Résultats de l'expérience de pharmaco-stabilisation par immunothérapie. Les AIC ont été induits chez des souris WT et des souris WT traitées par Glunomab®. **A**) Les analyses Kaplan-Meier de souris asymptomatiques à 28 jours après l'induction ont montré un taux de survie identique entre les groupes **B**) La répartition des anévrismes entre les souris WT et WT + Glunomab® montre que 100% des souris ont développé au moins un anévrisme et que 60 à 70 % d'entre elles étaient symptomatiques. Les souris ont présenté le même taux de formation d'anévrismes et de rupture. Le nombre final d'animaux inclus dans l'expérience était WT (n = 11) ; WT + glunomab (n = 9).

2 - Thérapie matricielle

2.1 - Expérience pilote

Les nouvelles approches de thérapies matricielles sont très intéressantes conceptuellement. J'ai donc eu l'intuition de les tester sur le modèle animal d'AIC. Nous avons donc passé un accord de transfert de matériel (MTA) avec le laboratoire qui produit une molécule supposée régénérer la MEC après les lésions, le RGTA. Des AIC ont été induits toujours selon le même modèle chez des souris WT, puis les souris ont bénéficié d'un protocole d'injection sous cutané à J2, J4 et J7 post induction.

Les résultats de cette expérience de pharmacostabilisations par thérapie matricielle sont exposés dans la (Figure 11).

Cette approche innovante a conduit à une diminution de la formation des AIC dans le groupe RGTA (62,5% de souris ayant présenté au moins un AIC) comparativement aux témoins (100% des souris ayant présenté au moins un AIC). Cette diminution n'était pas statistiquement significative. De plus on retrouve une diminution de la rupture des AIC avec une amélioration significative de la survie sans symptôme dans le groupe RGTA (Seulement 25% d'animaux ont présenté une rupture d'AIC) comparativement au groupe témoin (63,63% d'animaux ont présenté une rupture d'AIC). Il existe une diminution significative mais modérée de l'incidence des anévrysmes intracrâniens dans le groupe RGTA. En somme il semble que le RGTA soit modérément efficace pour empêcher la formation des AIC. Par contre la diminution très significative de l'incidence de la rupture anévrysmale dans le groupe RGTA suggère que la thérapie matricielle pourrait être efficace pour prévenir la rupture des AIC.

Ces résultats sont très encourageants, et nous espérons poursuivre dans cette voie.

Figure 11. Résultats de la pharmaco-stabilisation des AIC grâce au RGTA

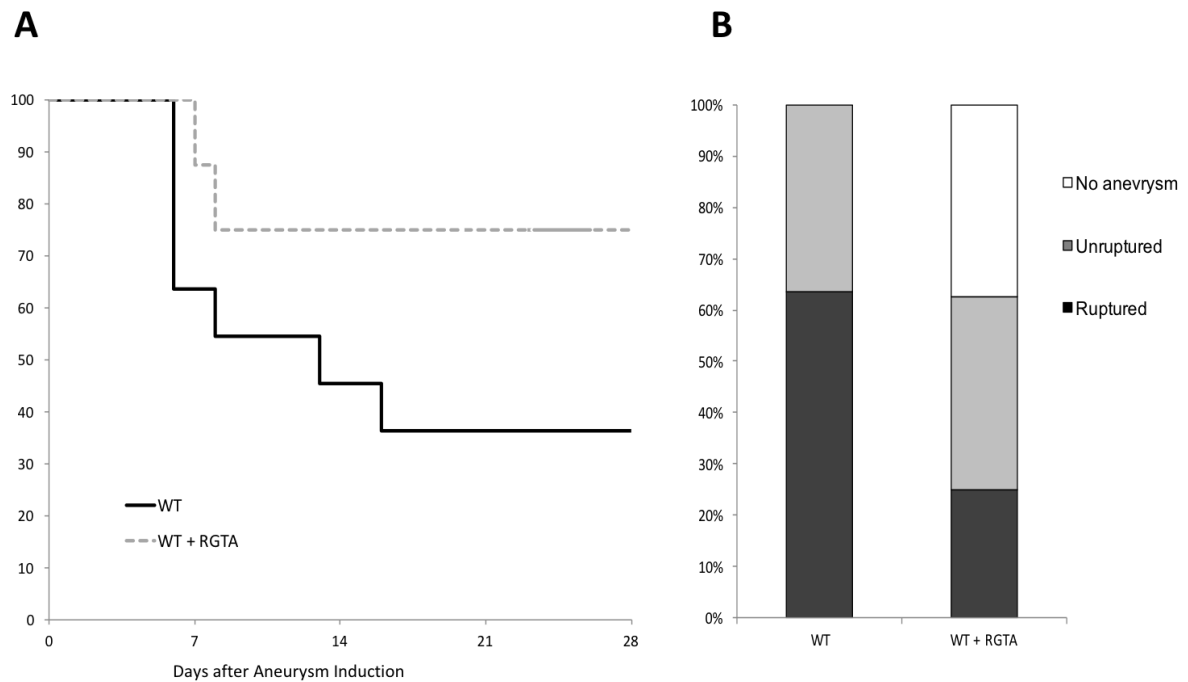


Figure 11 Résultats préliminaires de l'expérience de pharmaco-stabilisation par thérapie matricielle. Les AIC ont été induits chez des souris WT et des souris WT traitées par RGTA. **A)** Les analyses Kaplan Meier de souris asymptomatiques à 28 jours après l'induction ont montré un meilleur taux de survie chez les souris RGTA. **B)** La répartition des anévrismes dans les souris WT et WT + RGTA montre une tendance à un effet protecteur du RGTA sur la formation des AIC, même si cet effet n'est pas statistiquement significatif. Le nombre final d'animaux inclus était WT (n = 11) ; WT + RGTA (n = 6).

DISCUSSION

I - L'AIC est-il le symptôme d'une maladie vasculaire plus vaste ?

1 - Les anomalies morphologiques des ACE sont associées à la formation des AIC

1.1 - Une association forte avec la présence des AIC.

Dans le premier travail que j'ai effectué et dont les données principales ont été publiées dans l'article exposé plus haut, nous avons démontré qu'il existe une association forte et significative entre la présence d'un AIC et des anomalies morphologiques des ACE.

Le fait d'avoir réalisé une étude cas-témoin comparativement avec des patients non porteurs d'anévrismes, nous a permis d'extrapoler nos résultats à la formation des AIC. En effet, nous voulions savoir si ces anomalies étaient un facteur de risque de présence d'AIC et donc si elles étaient associées à la formation des AIC. Selon les résultats de cette étude cette association est significativement forte. Par exemple les IEL (OR =7,9 (IC 95% : 3,5-18,0) (Figure 12). Cette association est loin d'être fortuite.

Nos résultats sont en accord avec ceux d'études plus anciennes ^{167,168}. Ces deux études rapportent une fréquence élevée d'anomalies des artères cervicales mais portent uniquement sur des patients porteurs d'AIC rompus de la circulation antérieure et une seule (n=76 cas) est comparée à un groupe témoin ¹⁶⁷. Comme dans notre étude, elles rapportent une prévalence élevée des plicatures et des boucles chez les patients porteurs d'AIC. Une autre étude a montré une association significative entre l'importance de la variation du calibre de l'artère carotide interne cervicale et la présence d'un AIC ¹⁶⁹. Cette étude ne distingue pas les anévrismes rompus et non rompus, et ne porte que sur 33 patients porteurs d'AIC. Notre étude a comporté

Figure 12 Prévalence des anomalies morphologiques des ACE et formation des AIC

Anomalie N (%)	CAS n=112	TEMOINS n=121	P Value	OR (IC 95%)	OR ajustés* (IC 95%)
IEL grade ≥2	43 (38,4%)	8 (6,6%)	<0,0001	8,8 (3,9-19,8)	7,9 (3,5-18,0)
Tortuosité grade ≥2	28 (25,0%)	20 (16,5%)	0,11	1,7 (0,9-3,2)	1,5 (0,8-3,0)
Plicature grade ≥2	21 (18,7%)	6 (5,0%)	0,001	4,4 (1,7-11,4)	4,0 (1,5-10,7)
Boucle grade ≥1n	17 (15,2%)	9 (7,4%)	0,06	2,2 (0,9-5,2)	2,3 (1,0-5,6)
Dilatation grade ≥2	8 (7,1%)	1 (0,8%)	0,013	9,2 (1,1-75,0)	8,1 (1,0-67,2)
Sténose grade ≥2	6 (4,5%)	0 (0%)	0,011	NE	NE

Figure 12 Prévalence des anomalies morphologiques des ACE de grade significatif (>1) et leur association avec la formation des AIC. On note qu'il existe une association significative entre AIC et présence sur une des artères cervicales d'IEL, de plicature, de dilatation, et de sténose. Il existe une association non significative entre AIC et présence sur une des artères cervicales d'une tortuosité et de boucle. * Après ajustement sur le sexe (OR ajustés, compte tenu du nombre plus élevé de femmes dans le groupe cas et de la plus forte prévalence de ces anomalies artérielles cervicales chez les femmes), les résultats sont inchangés avec une association devenant statistiquement significative avec les boucles.

une analyse exhaustive de l'ensemble des anomalies angiographiques des vaisseaux cervicaux, en utilisant des critères diagnostiques aussi précis que possible.

1.2 - Quelle signification donner à ces anomalies des ACE ?

Ces anomalies artérielles sont très vraisemblablement le reflet d'une artériopathie sous-jacente qui favorise la formation d'AIC. Il a par exemple été montré une association entre les tortuosités artérielles et le syndrome de Marfan ou le syndrome d'Ehlers Danlos de type IV ¹¹². Pourtant cela est très difficile à prouver. Il est très important de noter que toutes ces anomalies peuvent être décrites, seules ou combinées, comme étant des manifestations des maladies du tissu de soutien ¹¹². En dehors des anomalies spécifiques de la DFM, l'étiologie des anomalies angiographiques analysées dans notre étude est très difficile à établir. En effet, aucune de ces anomalies n'est à elle seule suffisamment spécifique d'une maladie. Cette difficulté contraste avec la facilité de leur détection angiographique et leur fréquence dans notre étude. En fait, l'origine (congénitale ou acquise) de ces anomalies est débattue depuis longtemps. Certains auteurs suggèrent que la tortuosité et les boucles sont les conséquences de conditions particulières du développement embryonnaire et qu'elles sont aggravées avec le vieillissement artériel ¹⁷⁰⁻¹⁷³. A l'inverse, les plicatures seraient, pour certains auteurs, des anomalies acquises apparaissant avec l'âge sur des artères déjà porteuses d'anomalies comme les boucles ou les dilatations ¹⁷⁰⁻¹⁷³. Dans notre étude, la fréquence élevée (non rapportée) de plicatures parfaitement isolées, c'est-à-dire sans boucle ou dilatation, ne semble pas conforter cette hypothèse.

1.3 - Comment expliquer l'association avec la formation des AIC ?

Comme nous l'avons vu, de nombreux auteurs partagent l'idée que les artères cérébrales seraient particulièrement vulnérables à la formation d'anévrismes du fait de particularités structurelles. Ces particularités comme l'absence de LEE sont constitutionnelles. Pourtant les ACE ne partagent pas les mêmes particularités structurelles (elles possèdent une LEE) mais elles peuvent être atteintes simultanément par des anomalies morphologiques. Cela peut notamment être expliqué par deux hypothèses développées ci-après.

1.3.1 - Influence des facteurs hémodynamiques systémiques

Une première explication impliquerait les facteurs hémodynamiques locaux. Une relation de causalité directe entre le stress hémodynamique et la formation des anévrismes est même défendue par de nombreux auteurs et appuyé par des données expérimentales et cliniques^{5,6,104}. Ces études cherchent à incriminer les modifications de l'écoulement du flux sanguin dans la formation des AIC *via* un mécanisme de dysfonction endothéliale^{105,108,129}. On pourrait penser que les modifications de l'écoulement du flux sanguin provoquent à la fois la formation des AIC mais également en amont des anomalies artérielles des vaisseaux cervicaux. Les anomalies artérielles seraient donc elles aussi des déformations artérielles produite par les mêmes phénomènes systémiques. Cette hypothèse expliquerait qu'on les retrouve plus souvent chez les patients porteurs d'AIC.

Mais les anomalies des vaisseaux cervicaux ne sont pas nécessairement associées à des conditions de stress hémodynamiques systémique. De plus on les retrouve souvent chez des sujets jeunes. Si ces anomalies étaient liées à un stress vasculaire systémique elles devraient

être plus marquées chez les patients plus âgés (exposés plus longtemps au stress hémodynamique) ce qui n'était pas le cas dans notre étude. Cela nous amène également à discuter de la causalité directe du stress hémodynamique global dans la genèse des AIC ou du moins de sa causalité exclusive.

1.3.2 - Importance de la vulnérabilité du tissu de soutien artériel

Une deuxième explication suppose que les anomalies artérielles des vaisseaux cervicaux soient la conséquence d'une fragilité de la paroi de toutes les artères mais se manifestant spécifiquement au niveau intracrânien par des AIC. Les AIC et ces anomalies seraient donc des « symptômes » différents d'une même maladie artérielle ce qui expliquerait qu'on les retrouve associés.

Cette hypothèse est appuyée par le fait que de nombreuses maladies constitutionnelles des tissus de soutien affectant la paroi artérielle sont associées aux AIC^{59,112,1268}. De mêmes les liens les plus forts entre le polymorphisme génétique et les AIC, qu'ils soient familiaux ou sporadiques, portent généralement sur des gènes codant pour des constituants de la MEC et notamment des collagènes¹¹⁶. Même si d'autres données sont contradictoires^{111,118}.

Dans le cadre de notre étude, nous pensons que l'association entre les anomalies des ACE et les AIC semble mieux être expliquée par l'hypothèse de la vulnérabilité du tissu de soutien pariétal. Car à nos yeux cette association, loin d'être fortuite se veut le témoin d'une condition pathologique particulière de la paroi artérielle à l'origine de la formation des AIC. Cette condition pathologique, affecterait de manière diffuse la vascularisation cérébrale et les artères cervicales. Les AIC seraient ainsi des manifestations cliniquement « bruyantes » de pathologies vasculaires plus silencieuses affectant la paroi de l'ensemble des vaisseaux. La forte fréquence

de la DFM en particulier dans la population des patients porteurs d'AIC corrobore cette hypothèse. On peut envisager que des formes mineures de maladies du tissu conjonctif soient plus fréquentes et qu'elles se manifestent de manière diffuse par des anomalies artérielles *a minima* avec peu de manifestations cliniques systémiques. Je pense que ces maladies de paroi sont prépondérantes dans la genèse des AIC et que chez ces patients leur fréquence établie dans la littérature est largement sous-estimée car difficile à caractériser. Les anomalies des ACE témoignent de façon sensible mais très peu spécifique de l'association des pathologies du tissu de soutien avec la présence d'AIC.

2 - De la non association des anomalies des ACE et de la croissance et la rupture des AIC

2.1 - Absence d'association avec l'évolutivité des AIC

En revanche, il n'a pas été observé d'association entre ces anomalies et l'évolution de la maladie anévrysmale. A savoir la survenue d'une rupture et la taille des AIC. Cette absence complète de lien avec les autres phases de l'histoire naturelle peut paraître surprenante tant les anomalies des ACE semblent associées à la formation des AIC. Il est très difficile d'interpréter ces résultats au vu de la littérature scientifique car à notre connaissance aucune étude n'a cherché à étudier spécifiquement ces anomalies comme éventuels facteurs de risque de rupture anévrysmale. Aucune revue majeure sur les facteurs de risque de rupture des AIC ne mentionne même les ACE ^{16,28,43,55,142}.

2.2 - Les phases de l'histoires naturelles des AIC pourraient être indépendantes

Cette absence d'association renforce l'hypothèse selon laquelle les phénomènes pathologiques à l'origine de la genèse des AIC possèdent un certain degré d'indépendance vis à vis des phénomènes pathologiques à l'origine de la croissance et de la rupture de ces mêmes AIC ^{1,16}. Ainsi, la formation des AIC dépendrait plus de pathologies et de fragilité de la paroi artérielle alors que leur croissance et leur rupture seraient plus liées à des facteurs systémiques (HTA, tabac, ...), anatomiques (variantes anatomiques, inclinaisons des artères, ...) et surtout tissulaires (induction du remodelage matriciel, inflammation, ...). Cette indépendance relative des phénomènes pathologiques à l'origine des différentes phases de l'histoire naturelle des AIC, est un résultat très important, car toutes ne répondent pas forcément aux mêmes mécanismes et facteurs de risques.

3 - Intérêt de l'étude et perspective

L'ensemble de ces résultats renforce l'hypothèse déjà largement relayée d'une origine structurelle à la genèse des AIC et souligne l'importance des maladies du tissu de soutien. Ce travail permet d'envisager que les anomalies des vaisseaux cervicaux soient désormais intégrées aux hypothèses physiopathologiques essayant d'expliquer la formation des AIC. De plus cette étude rend compte de la nécessité tant en clinique qu'en science fondamentale de distinguer les différentes phases de l'histoire des AIC.

II - La voie de la fibrinolyse impliquée dans de l'histoire naturelle des AIC.

1 - Implication du tPA dans la pathologie anévrysmale intracrânienne

1.1 - Une forte association du tPA avec les AIC

Les données de l'article n° 2 révèlent que la voie de la fibrinolyse est impliquée dans la formation d'AIC et leur rupture. Nous avons clairement démontré la présence de tPA et son substrat, la plasmine, dans les parois artérielles des anévrysmes cérébraux chez les rongeurs et les humains. L'attention est portée sur le fait que cette mise en présence est massive au niveau de la paroi des AIC comme en atteste les immunohistochimies que nous avons réalisées. Nos données précliniques démontrent par ailleurs que l'absence de tPA réduit l'incidence des AIC et leur éventuelle rupture. De plus le déficit du principal inhibiteur du tPA, PAI-1, semble conduire à une forme plus grave de la maladie. Il est important de préciser que l'implication du tPA touche aussi bien la formation que la rupture comme nous le montrons dans l'article.

A notre connaissance nous sommes les premiers à mettre en évidence l'implication de la voie de la fibrinolyse dans la pathologie anévrysmale intracrânienne. Une seule autre étude suppose une éventuelle implication de la plasmine dans la pathologie mais aucune démonstration n'est proposée¹³. Par contre ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par des études effectuées sur des anévrysmes de l'aorte qui partagent certaines similitudes avec les AIC^{7,132,174}.

1.1.1 - Les caractéristiques de cette implication

L'implication du tPA dans la pathologie anévrysmale intracrânienne semble posséder un effet « temps dépendant ». En effet nous avons remarqué que l'expression transitoire de tPA après une transfection hydrodynamique (de 1 à 7 jours)¹⁷⁵, est suffisante pour induire une formation d'anévrisme ; mais semble être trop courte pour favoriser leur rupture qui intervient plus tardivement (De 7 à 14 jours dans nos expériences pour 38 % des animaux, quel que soit le génotype). Ce résultat intéressant a suggéré une forme de continuité dans le temps de l'influence du tPA sur les AIC comme cela a été rapporté dans l'anévrisme aortique¹⁷⁶.

1.1.2 - D'où provient le tPA présent dans la paroi de l'AIC ?

Même si nous n'avons pas spécifiquement étudié l'origine du tPA présent dans le mur anévrysmal, à savoir s'il pouvait être produit directement par les cellules présentes dans la paroi (CML, cellules endothéliales, fibroblastes et cellules inflammatoires). Notre hypothèse selon laquelle il provient de la circulation sanguine est en accord avec les publications récentes démontrant la capacité de tPA à traverser la paroi artérielle et la BHE^{158,160,175}. Ainsi chez les souris tPA -/- incapables de produire du tPA dans la paroi artérielle, des AIC se développent lorsque le tPA est exprimé dans la circulation sanguine sans différence significative avec les souris WT. Ceci suggère que le tPA présent dans la circulation sanguine est suffisant pour favoriser la formation et la rupture des AIC.

Nous pensons donc que le tPA et le plasminogène proviennent de la circulation sanguine et traversent l'endothélium pour initier et amplifier le remodelage matriciel de la paroi. Ce phénomène s'amplifierait lui-même car la BHE deviendrait de plus en plus perméable^{175,177}.

Nous avons été étonnés de voir que sur les analyses en immunohistochimie, le marquage du tPA et celui de la Plasmine ne sont pas exactement superposables, comme rapporté dans l'article. En effet le tPA est souvent retrouvé plus en périphérie de la paroi anévrysmale (au plus loin de la lumière artérielle), alors que la plasmine est retrouvée dans la totalité de la paroi anormale. Il semble exister une sorte de « front de progression » centripète du tPA qui pourrait correspondre avec la disposition des *vasa vasorum* qui se situent dans l'adventice artérielle. Une explication convergente à la translocation du tPA depuis la lumière du vaisseau sanguin serait un apport de tPA directement dans la paroi par l'intermédiaire des *vasa vasorum*. Cette hypothèse ne contredit pas les nôtres, à savoir que le tPA qui induit le remodelage matriciel provient de la circulation.

2 - L'axe tPA/ plasmine fortement impliqué dans le remodelage matriciel

2.1 - Induction du remodelage matriciel

2.1.1 - Les MMP sont les outils du remodelage matriciel

Le remodelage matriciel associe une protéolyse et une dégradation de la MEC de l'artère ainsi qu'une inflammation de la paroi. Les outils propres de ce remodelage ont été également identifiés, il s'agit des MMP. Les immunohistochimies que nous avons réalisés sur les AIC de souris confirment ces données rapportées par de nombreux auteurs : la présence de MMP actives dans la paroi des anévrysmes comparativement aux artères normales ou elles sont indétectables (données non publiées). Mais quel est lien entre la voie de la fibrinolyse et l'activation des MMP ?

2.1.2 - Activation des MMP par le tPA et la plasmine

Cette activation peut se faire différemment. Soit directement, le tPA en tant que protéase peut lui-même dégrader les constituants de la MEC et les rendre plus accessibles à la protéolyse des MMP^{132,134,139,157}. Egalement *via* la fixation du tPA sur les récepteurs aux lipoprotéines de type 1 (LRP-1) endothéliaux (protéine de liaison du tPA exprimée par les cellules endothéliales des artères), provoquant l'activation du facteur pro-inflammatoire NFκB^{162,178}. NFκB stimule directement la transcription des MMP^{42,130,136}. Une autre voie de signalisation *via* l'activation du précurseur facteur de croissance dérivé des plaquettes de type C (PDGF-C) en PDGF-CC actif, par le complexe tPA/LRP conduit elle aussi à une sur activation des MMP. Soit

indirectement, *via* la plasmine qui clive directement les zymogènes pro-MMP en MMP actives. Les différents isotypes des MMP sont alors capables de s'activer entre eux toujours par clivage
158,163,178

2.1.3 - Effet pro-inflammatoire du tPA

Le tPA est aussi connu pour réguler l'expression de MCP-1, puis stimuler la diapédèse et participer au processus d'infiltration des macrophages dans la paroi artérielle ^{42,160}. Comme nous l'avons constaté également dans notre modèle *via* un marquage CD11b spécifique dans la paroi d'AIC. Ainsi, le tPA pourrait indirectement contribuer à la formation d'AIC et à leur croissance par un chemin pro-inflammatoire.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés sur l'influence du tPA sur la formation des anévrismes aortiques ^{7,132,176}. Bien que les anévrisme de l'aorte soient très différents des AIC, ils partagent certaines similitudes ^{174,179}. De plus, des auteurs ont rapporté que LRP-1, à un rôle protecteur contre le développement d'anévrismes aortiques ¹⁷⁸. LRP-1 protégerait contre la fragmentation des fibres d'élastine, et fixation du tPA sur celui-ci inhiberait cette fonction protectrice. Mais on ne sait pas encore le rôle exact du tPA dans cette voie de signalisation.

On voit que plusieurs voies de signalisation synergiques relient donc intimement le tPA à l'activation des MMP.

2.2 - L'inflammation comme seule cause de la croissance des AIC ?

L'inflammation est souvent impliquée comme responsable de la croissance mais également de la formation des AIC ^{88,104,119,129}. Mais l'inflammation est-elle la cause principale ou un des phénomènes associés à la pathologie anévrysmale intracrânienne ? En effet, l'inflammation est une réaction de défense du système immunitaire à un dysfonctionnement ou une transformation morphologique de l'environnement comme l'est par exemple l'AIC. L'inflammation est un processus universel en réponse à la plupart des maladies et notamment les maladies vasculaires. Il est clair que l'inflammation amplifie la plupart des phénomènes pathologiques et participe à la croissance des AIC mais en est-elle responsable ? Autrement dit, la pathologie anévrysmale intracrânienne pourrait-elle être une maladie inflammatoire due à une réaction anormale du système immunitaire ? De nombreuses maladies ont d'abord été considérées à tort comme inflammatoires ou auto-immunes avant de mettre en évidence un agent causal responsable de cette inflammation. Prenons l'exemple du cancer de l'estomac et de l'infection à *Helicobacter pylori*.

Le tPA possède à la fois des fonctions pro-inflammatoires et protéolytiques. Il pourrait être un agent causal responsable de l'inflammation de la paroi anévrysmale. Il est donc assez intéressant de voir que la voie de la fibrinolyse permettrait d'expliquer à elle seule l'ensemble des phénomènes liés au remodelage matriciel. Cette voie peut représenter une alternative à l'inflammation comme seul phénomène moléculaire identifié dans l'évolution des AIC.

3 - Intérêt de l'étude et perspectives

L'intérêt principal de cette étude de proposer la fibrinolyse comme une nouvelle voie potentielle dans les mécanismes de la pathologie anévrysmale intracrânienne. Cette voie originale se situe au croisement de nombreux phénomènes déjà identifiés dans cette pathologie comme le stress endothélial, le remodelage matriciel et l'inflammation de la paroi. Une vaste étude mécanistique est nécessaire pour déterminer précisément tous les effecteurs impliqués. Un autre intérêt de cette étude nous permet de proposer le tPA vasculaire comme une nouvelle cible thérapeutique pour prévenir la formation, la progression et la rupture des AIC.

Jusqu'à présent je n'ai pas réussi à établir un lien entre le tPA et les anomalies des artères cervicales aspécifiques ou même spécifiques comme la DFM. Aucune publication à ma connaissance ne discute ou même ne recherche une association entre les deux. Mais si le tPA est désormais impliqué dans les maladies de la paroi vasculaires il devrait être recherché dans ce type d'atteintes. Cela pourrait faire l'objet d'un prochain travail.

III - Amélioration des stratégies thérapeutiques

1 - Etat des lieux sur le terrain clinique.

On peut estimer que 150 millions de personnes sur terre vivent avec un AIC non rompu la grande majorité d'entre eux sans le savoir. La prise en charge de ces patients, avant que ne survienne une éventuelle rupture, est donc un enjeu important.

1.1 - Pas de réelles améliorations des traitement invasifs

Des nouvelles techniques de chirurgies externe et de nouveaux dispositifs endo-vasculaiure ont vu le jour. Ces nouveaux dispositifs utilisés dans le traitement préventif permettent de répondre à des problématiques opératoires différentes (anévrismes à collet larges, re-canalisation, temps de procédure.)^{93,151,152} Mais, ils ne sont pas moins dangereux pour le patient, bien au contraire. L'idée de « l'outil-miracle » n'est qu'un argument marketing et n'anime que les laboratoires qui commercialisent ces dispositifs. Le nombre très important de publications alloué au test d'efficacité de ces différents dispositifs n'est à mon sens que le « cache misère » de ce qu'est la recherche sur l'AIC. L'abondance de données cliniques, la fréquence des AIC, et la nécessité de proposer une prise en charge adaptée aux patients sont possiblement des facteurs qui émoussent la précision des études scientifiques.

1.2 - L'absence de traitement non invasif

La maladie anévrysmale est un phénomène tissulaire complexe qui implique de nombreux mécanismes moléculaires. Pourtant la seule réponse thérapeutique efficace que nous lui apportons est purement mécanique par l'exclusion de la circulation cérébrale. Aucune stratégie thérapeutique biologique à la pathologie anévrysmale n'est prouvée. Par conséquent, la stabilisation pharmacologique des AIC comme moyen de prévention de la rupture devrait être un axe important de recherche de tous ceux qui traitent de ces problématiques. D'abord parce que ce traitement serait plus près des réalités biologiques mais aussi parce qu'un vaccin ou médicament serait moins brutal qu'une opération même si celle-ci est micro-invasive.

2 - La création d'un traitement biologique des AIC *via* l'inhibition du tPA

2.1 - Des résultats négatifs pour l'instant mais...

Notre expérience de l'inhibition l'influence du tPA s'est pour l'instant soldée par un échec. Mais cet échec est relatif, car nous sommes en train de gagner en maturité dans notre projet. La principale raison de cet échec est le manque de données mécanistiques précises sur l'influence du tPA vasculaire. Ces données nous auraient permis de cibler un effecteur ou une sous-voie de signalisation. Nous avons peut-être voulu tester trop rapidement des inhibiteurs du tPA.

De plus il reste encore de très nombreux inhibiteurs du tPA à tester, des inhibiteurs directs (comme Neuroserpin, PAI-1,...) ou indirects (comme Imatimib par inhibition de LRP-1) pour prévenir la formation d'anévrismes ; ouvrant peut être un jour l'opportunité d'une étude clinique.

3 - La création d'un traitement biologique des AIC *via* la Thérapie Matricielle

3.1 - Des résultats positifs pour l'instant mais

Les résultats de l'expérience de pharmaco-stabilisation par des AIC par le RGTA ont conduit à une diminution modérée de la formation mais importante la rupture des AIC. Suggérant que le RGTA pourrait être efficace pour prévenir la rupture des AIC. De nombreuses vérifications et expériences pré-cliniques seront nécessaires pour confirmer cette découverte préalable. Ces expériences sont très onéreuses et pour l'instant nous restons en discussion avec le laboratoire partenaire qui produit la molécule. Quelque part la réalité économique rattrape la réalité scientifique et tous ceux qui doivent administrer des unités de recherche doivent vivre avec ces contraintes.

Pourtant ces résultats sont très encourageant, et j'ai hâte de pouvoir poursuivre dans cette voie. J'espère que nos publications récentes nous permettront d'attirer la crédibilité sur notre expertise dans la recherche fondamentale sur les anévrismes pour pouvoir obtenir plus de soutien dans cette aventure.

CONCLUSION

Au cours de ma thèse, j'ai pu mener et participer à des projets variés mais complémentaires. Ainsi, j'ai pu aborder des aspects fondamentaux de mon sujet de recherche, comme l'implication de la voie de la fibrinolyse dans la pathologie anévrysmale intracrânienne, la caractérisation de cette implication et la compréhension des mécanismes associés ; mais j'ai également pu initier un aspect plus thérapeutique et appliqué dans la recherche d'agents inhibiteurs de du tPA, et dans la tentative de stabiliser des AIC induits chez la souris.

J'ai également pu vérifier une hypothèse plus clinique et faite « par hasard » sur l'association entre anomalies des artères cervicales et les AIC.

Ces deux études publiées sont assez originales. Elles convergent sur plusieurs points que je trouve intéressants. La première montre que la formation des AIC serait dû à des anomalies systémiques et acquises de la paroi des artères et touchant toutes les artères. Elle a également montré que les mécanismes à l'origine de la formation des AIC étaient indépendants de ceux à l'origine de la rupture. La deuxième étude a identifié un nouvel acteur clef de la pathologie qui est lui-même systémique et inductible, le tPA vasculaire. De même des différences ont été retrouvées entre l'influence du tPA sur la formation et celle sur la rupture des AIC. Cela ouvre de nouveaux champs d'investigation pour cette voie de signalisation.

L'inhibition de la voie du tPA est une nouvelle perspective de thérapie pour les patients porteur d'AIC. Nous devons d'autant plus travailler à l'identification d'un agent thérapeutique efficace, spécifique, et dépourvu d'effets secondaires. Restera ensuite à concevoir une étude préclinique permettant de tester cet agent dans une population de patient porteur d'AIC non rompus et pour qui le consensus une intervention invasive n'est pas souhaitable. L'absence de rupture d'AIC chez des patients diagnostiqués fortuitement serait le bénéfice direct de ces thérapies. L'idée

d'une thérapie non invasive est prometteuse, d'autant plus que plusieurs agents thérapeutiques capables d'inhiber le tPA vasculaire sont déjà en essais cliniques et pour certains déjà disponible chez l'Homme.

Les résultats balbutiants mais intéressants de la thérapie matricielle ouvrent eux aussi la voie à une stratégie thérapeutique non invasive inédite. On peut aussi imaginer que ces différentes approches puissent être combinées entre elles et avec des agents matriciels ciblant directement l'activité du tPA dans la paroi des AIC.

L'amélioration des stratégies thérapeutiques dans la pathologie anévrysmale intracrânienne est définitivement un axe de recherche dont les possibilités sont immenses et les résultats nécessaires et attendus.

BIBLIOGRAPHIE

1. Etminan N, Rinkel GJ. Unruptured intracranial aneurysms: development, rupture and preventive management. *Nat. Rev. Neurol.* 2016;12:699–713.
2. Wiebers DO. Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. *The Lancet.* 2003;362:103–110.
3. Weir B. Unruptured intracranial aneurysms: a review. *J Neurosurg.* 2002;3–42.
4. Valencia A, Morales H, Rivera R, Bravo E, Galvez M. Blood flow dynamics in patient-specific cerebral aneurysm models: The relationship between wall shear stress and aneurysm area index. *Med. Eng. Phys.* 2008;30:329–340.
5. Pereira VM, Brina O, Gonzalez AM, Narata AP, Ouared R, Karl-Olof L. Biology and hemodynamics of aneurismal vasculopathies. *Eur. J. Radiol.* 2013;82:1606–1617.
6. Longo M, Granata F, Racchiusa S, Mormina E, Grasso G, Longo GM, et al. Role of Hemodynamic Forces in Unruptured Intracranial Aneurysms: An Overview of a Complex Scenario. *World Neurosurg.* 2017;105:632–642.
7. Davis FM, Rateri DL, Daugherty A. Abdominal aortic aneurysm: novel mechanisms and therapies. *Curr. Opin. Cardiol.* 2015;30:566–573.
8. Del Brutto VJ, Ortiz JG, Biller J. Intracranial Arterial Dolichoectasia. *Front. Neurol.* 2017;80:03-44
9. Ohkuma H, Suzuki S, Ogane K, others. Dissecting aneurysms of intracranial carotid circulation. *Stroke.* 2002;33:941–947.
10. Hashimoto H, Iida J, Shin Y, Hironaka Y, Sakaki T. Subarachnoid Hemorrhage from Intracranial Dissecting Aneurysms of the Anterior Circulation—Two Case Reports—. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo).* 1999;39:442–446.
11. Krishnakumar K, Menon G, Kesavadas C, Nair S, Rao BRM, Easwer HV. Dissecting intracranial aneurysms presenting as subarachnoid haemorrhage: report of two cases and review of literature. *Br. J. Neurosurg.* 2008;22:801–804.
12. Frosen J. Remodeling of Saccular Cerebral Artery Aneurysm Wall Is Associated With Rupture: Histological Analysis of 24 Unruptured and 42 Ruptured Cases. *Stroke.*

2004;35:2287–2293.

13. Bruno G, Todor R, Lewis I, Chyatte D. Vascular extracellular matrix remodeling in cerebral aneurysms. *J. Neurosurg.* 1998;89:431–440.
14. Penn DL, Witte SR, Komotar RJ, Sander Connolly E. The role of vascular remodeling and inflammation in the pathogenesis of intracranial aneurysms. *J. Clin. Neurosci.* 2014;21:28–32.
15. Barritault D, Garcia-Filipe S, Zakine G. Les bases de la thérapie matricielle en médecine régénérative par les RGTA® : du fondamental à la chirurgie plastique. *Ann. Chir. Plast. Esthét.* 2010;55:413–420.
16. Chalouhi N, Hoh BL, Hasan D. Review of Cerebral Aneurysm Formation, Growth, and Rupture. *Stroke.* 2013;44:3613–3622.
17. Chalouhi N, Starke RM, Correa T, Jabbour PM, Zanaty M, Brown Jr RD, et al. Cerebral Aneurysm. *Hypertension* . 2016
18. Satoh T, Omi M, Ohsako C, Katsumata A, Yoshimoto Y, Tsuchimoto S, et al. Influence of perianeurysmal environment on the deformation and bleb formation of the unruptured cerebral aneurysm: assessment with fusion imaging of 3D MR cisternography and 3D MR angiography. *Am. J. Neuroradiol.* 2005;26:2010–2018.
19. Brisman JL, Song JK, Newell DW. Cerebral aneurysms. *N. Engl. J. Med.* 2006;355:928–939.
20. Wiebers D, Whisnant J, Forbes G, Meissner I, Brown R, Piepgras D, et al. Unruptured intracranial aneurysms-risk of rupture and risks of surgical intervention. *N. Engl. J. Med.* 1998;339:1725–1733.
21. Brown RD, Broderick JP. Unruptured intracranial aneurysms: epidemiology, natural history, management options, and familial screening. *Lancet Neurol.* 2014;13:393–404.
22. Lonjon M, Pennes F, Sedat J, Bataille B. Epidemiology, genetic, natural history and clinical presentation of giant cerebral aneurysms. *Neurochirurgie.* 2015;61:361–365.
23. Schievink WI, Puumala MR, Meyer FB, Raffel C, Katzmann JA, Parisi JE. Giant intracranial aneurysm and fibromuscular dysplasia in an adolescent with α 1-antitrypsin

deficiency: Case report. *J. Neurosurg.* 1996;85:503–506.

24. Shojima M, Oshima M, Takagi K, Torii R, Nagata K, Shirouzu I, et al. Role of the Bloodstream Impacting Force and the Local Pressure Elevation in the Rupture of Cerebral Aneurysms. *Stroke.* 2005;36:1933–1938.
25. Lauric A, Baharoglu MI, Malek AM. Ruptured Status Discrimination Performance of Aspect Ratio, Height/Width, and Bottleneck Factor Is Highly Dependent on Aneurysm Sizing Methodology. *Neurosurgery.* 2012;71:38–46.
26. Brinjikji W, Zhu Y-Q, Lanzino G, Cloft HJ, Murad MH, Wang Z, et al. Risk Factors for Growth of Intracranial Aneurysms: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am. J. Neuroradiol.* 2016;37:615–620.
27. Cebal JR, Sheridan M, Putman CM. Hemodynamics and Bleb Formation in Intracranial Aneurysms. *Am. J. Neuroradiol.* 2010;31:304–310.
28. Raghavan ML, Ma B, Harbaugh RE. Quantified aneurysm shape and rupture risk. *J. Neurosurg.* 2005;102:355–362.
29. Alleyne CH. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage Have outcomes really improved? *Neurology.* 2010;74:1486–1487.
30. Sandvei MS, Mathiesen EB, Vatten LJ, Müller TB, Lindekleiv H, Ingebrigtsen T, et al. Incidence and mortality of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in two Norwegian cohorts, 1984–2007. *Neurology.* 2011;77:1833–1839.
31. Lawton MT, Vates GE. Subarachnoid Hemorrhage. *N. Engl. J. Med.* 2017;377:257–266.
32. Juvela S, Porras M, Heiskanen O. Natural history of unruptured intracranial aneurysms: a long-term follow-up study. *J. Neurosurg.* 1993;79:174–182.
33. Etminan N, Dreier R, Buchholz BA, Beseoglu K, Bruckner P, Matzenauer C, et al. Age of Collagen in Intracranial Saccular Aneurysms. *Stroke.* 2014;45:1757–1763.
34. 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;5:347–356.

35. Krings T, Lasjaunias PL, Geibprasert S, Pereira V, Hans FJ. The Aneurysmal Wall: The Key to a Subclassification of Intracranial Arterial Aneurysm Vasculopathies? *Interv. Neuroradiol.* 2008;14:39–47.
36. Ferns SP, Sprengers MES, van Rooij WJJ, van den Berg R, Velthuis BK, de Kort GAP, et al. De Novo Aneurysm Formation and Growth of Untreated Aneurysms: A 5-Year MRA Follow-Up in a Large Cohort of Patients With Coiled Aneurysms and Review of the Literature. *Stroke.* 2011;42:313–318.
37. Ruigrok YM, Rinkel GJ, Wijmenga C. Genetics of intracranial aneurysms. *Lancet Neurol.* 2005;4:179–189.
38. Krings T, Geibprasert S, terBrugge KG. Pathomechanisms and treatment of pediatric aneurysms. *Childs Nerv. Syst.* 2010;26:1309–1318.
39. Gemmete JJ, Toma AK, Davagnanam I, Robertson F, Brew S. Pediatric Cerebral Aneurysms. *Neuroimaging Clin. N. Am.* 2013;23:771–779.
40. Teasdale GM. The familial risk of subarachnoid haemorrhage. *Brain.* 2005;128:1677–1685.
41. Fukuda S, Hashimoto N, Naritomi H, Nagata I, Nozaki K, Kondo S, et al. Prevention of Rat Cerebral Aneurysm Formation by Inhibition of Nitric Oxide Synthase. *Circulation.* 2000;101:2532–2538.
42. 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;40:942–951.
43. Bacigaluppi S, Piccinelli M, Antiga L, Veneziani A, Passerini T, Rampini P, et al. Factors affecting formation and rupture of intracranial saccular aneurysms. *Neurosurg. Rev.* 2014;37:1–14.
44. Malhotra A, Wu X, Forman HP, Grossetta Nardini HK, Matouk CC, Gandhi D, et al. Growth and Rupture Risk of Small Unruptured Intracranial Aneurysms: A Systematic Review. *Ann. Intern. Med.* 2017;167:26.
45. So TY, Dowling R, Mitchell PJ, Laidlaw J, Yan B. Risk of growth in unruptured intracranial aneurysms: A retrospective analysis. *J. Clin. Neurosci.* 2010;17:29–33.

46. Mocco J, Brown RD, Torner JC, Capuano AW, Fargen KM, Raghavan ML, et al. Aneurysm Morphology and Prediction of Rupture: An International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms Analysis. *Neurosurgery*. 2017
47. Koffijberg H, Buskens E, Algra A, Wermer MJ, Rinkel GJ. Growth rates of intracranial aneurysms: exploring constancy. *J Neurosurg* 2008;109:
48. Etminan N, Dreier R, Buchholz BA, Bruckner P, Steiger H-J, Hanggi D, et al. Exploring the Age of Intracranial Aneurysms Using Carbon Birth Dating: Preliminary Results. *Stroke*. 2013;44:799–802.
49. Weir B. Headaches from aneurysms. *Cephalalgia*. 1994;14:79–87.
50. Linn FH, Wijdicks EF, van Gijn J, Weerdesteyn-van Vliet FA, van der Graaf Y, Bartelds AIM. Prospective study of sentinel headache in aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *The Lancet*. 1994;344:590–593.
51. Ducros A, Boussier M-G. Thunderclap headache. *BMJ*. 2013;346:e8557–e8557.
52. Feigin VL, Rinkel GJE, Lawes CMM, Algra A, Bennett DA, van Gijn J, et al. Risk Factors for Subarachnoid Hemorrhage: An Updated Systematic Review of Epidemiological Studies. *Stroke*. 2005;36:2773–2780.
53. Clarke M. Systematic review of reviews of risk factors for intracranial aneurysms. *Neuroradiology*. 2008;50:653–664.
54. Algra AM, Klijn CJ, Helmerhorst FM, Algra A, Rinkel GJ. Female risk factors for subarachnoid hemorrhage A systematic review. *Neurology*. 2012;79:1230–1236.
55. Greving JP, Wermer MJ, Brown RD, 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;13:59–66.
56. The UCAS Japan Investigators*. The Natural Course of Unruptured Cerebral Aneurysms in a Japanese Cohort. *N Engl J Med*. 2012; 843–862
57. Investigators IS of UIA, others. Unruptured intracranial aneurysms—risk of rupture and risks of surgical intervention. *N Engl J Med*. 1998;1998:1725–1733.
58. 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;35:93–112.

59. Naunheim MR, Walcott BP, Nahed BV, MacRae CA, Levinson JR, Ogilvy CS. Arterial tortuosity syndrome with multiple intracranial aneurysms: a case report. *Arch. Neurol.* 2011;68:369–371.

60. Ishibashi T, Murayama Y, Urashima M, Saguchi T, Ebara M, Arakawa H, et al. Unruptured Intracranial Aneurysms: Incidence of Rupture and Risk Factors. *Stroke.* 2009;40:313–316.

61. 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;10:626–636.

62. Rodriguez-Régent C, Edjlali-Goujon M, Trystram D, Boulouis G, Ben Hassen W, Godon-Hardy S, et al. Non-invasive diagnosis of intracranial aneurysms. *Diagn. Interv. Imaging.* 2014;95:1163–1174.

63. Vernooij MW, Ikram MA, Tanghe HL, Vincent AJ, Hofman A, Krestin GP, et al. Incidental findings on brain MRI in the general population. *N. Engl. J. Med.* 2007;357:1821–1828.

64. Cianfoni A, Pravata E, De Blasi R, Tschuor CS, Bonaldi G. Clinical presentation of cerebral aneurysms. *Eur. J. Radiol.* 2013;82:1618–1622.

65. Perry JJ, Stiell IG, Sivilotti MLA, Bullard MJ, Hohl CM, Sutherland J, et al. Clinical Decision Rules to Rule Out Subarachnoid Hemorrhage for Acute Headache. *JAMA.* 2013;310:1248.

66. Micieli JA, Newman NJ, Barrow DL, Biousse V. Intracranial Aneurysms of Neuro-Ophthalmologic Relevance: *J. Neuroophthalmol.* 2017;35:93–112

67. Yi J, Zielinski D, Chen M. Cerebral Aneurysm Size before and after Rupture: Case Series and Literature Review. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2016;25:1244–1248.

68. Edjlali M, Rodriguez-Régent C, Hodel J, Aboukais R, Trystram D, Pruvo J-P, et al. Subarachnoid hemorrhage in ten questions. *Diagn. Interv. Imaging.* 2015;96:657–666.

69. Sawyer DM, Pace LA, Pascale CL, Kutchin AC, O'Neill BE, Starke RM, et al. Lymphocytes influence intracranial aneurysm formation and rupture: role of extracellular matrix remodeling and phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells. *J. Neuroinflammation*. 2016;25: 244–248
70. Green DM, Burns JD, DeFusco CM. ICU Management of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *J. Intensive Care Med*. 2013;28:341–354.
71. van Lieshout JH, Pumplün I, Fischer I, Kamp MA, Cornelius JF, Steiger HJ, et al. Volume of cerebrospinal fluid drainage as a predictor for pretreatment aneurysmal rebleeding. *J. Neurosurg*. 2017;1–7.
72. Macdonald RL, Schweizer TA. Spontaneous subarachnoid haemorrhage. *The Lancet*. 2017;389:655–666.
73. Fung C, Inglin F, Murek M, Balmer M, Abu-Isa J, Z'Graggen WJ, et al. Reconsidering the logic of World Federation of Neurosurgical Societies grading in patients with severe subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg*. 2016;124:299–304.
74. Koerbel A, Ernemann U, Freudenstein D. Acute subdural haematoma without subarachnoid haemorrhage caused by rupture of an internal carotid artery bifurcation aneurysm: case report and review of literature. *Br. J. Radiol*. 2005;78:646–650.
75. Backes D, Rinkel GJE, Algra A, Vaartjes I, Donker GA, Vergouwen MDI. Increased incidence of subarachnoid hemorrhage during cold temperatures and influenza epidemics. *J. Neurosurg*. 2016;125:737–745.
76. Korja M, Kaprio J. Controversies in epidemiology of intracranial aneurysms and SAH. *Nat. Rev. Neurol*. 2016;12:50.
77. Nieuwkamp DJ, Setz LE, Algra A, Linn FH, de Rooij NK, Rinkel GJ. Changes in case fatality of aneurysmal subarachnoid haemorrhage over time, according to age, sex, and region: a meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2009;8:635–642.
78. Passier PECA, Visser-Meily JMA, Rinkel GJE, Lindeman E, Post MWM. Determinants of health-related quality of life after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *Qual. Life Res*. 2013;22:1027–1043.
79. Grasso G, Alafaci C, Macdonald RL. Management of aneurysmal subarachnoid

hemorrhage: State of the art and future perspectives. *Surg. Neurol. Int.* 2017;8:11.

80. Thompson BG, Brown RD, Amin-Hanjani S, Broderick JP, Cockroft KM, Connolly ES, et al. Guidelines for the management of patients with unruptured intracranial aneurysms. *Stroke.* 2015;46:2368–2400.

81. Danière F, Gascou G, Menjot de Champfleury N, Machi P, Leboucq N, Riquelme C, et al. Complications and follow up of subarachnoid hemorrhages. *Diagn. Interv. Imaging.* 2015;96:677–686.

82. Molyneux A, Group ISAT (ISAT) C, others. International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised trial. *The Lancet.* 2002;360:1267–1274.

83. Hammer A, Steiner A, Kerry G, Ranaie G, Baer I, Hammer CM, et al. Treatment of ruptured intracranial aneurysms yesterday and now. *PLOS ONE.* 2017;12:e0172837.

84. Chua MH, Griessenauer CJ, Stapleton CJ, He L, Thomas AJ, Ogilvy CS. Documentation of Improved Outcomes for Intracranial Aneurysm Management Over a 15-Year Interval. *Stroke.* 2016;115: 637–646

85. Zheng Y, Liu Y, Leng B, Xu F, Tian Y. Periprocedural complications associated with endovascular treatment of intracranial aneurysms in 1764 cases. *J. NeuroInterventional Surg.* 2016;8:152–157.

86. Hasan DM, Mahaney KB, Brown RD, Meissner I, Piepgras DG, Huston J, et al. Aspirin as a Promising Agent for Decreasing Incidence of Cerebral Aneurysm Rupture. *Stroke.* 2011;42:3156–3162.

87. Phan K, Moore JM, Griessenauer CJ, Ogilvy CS, Thomas AJ. Aspirin and Risk of Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke.* 2017;48:1210–1217.

88. Hasan DM, Chalouhi N, Jabbour P, Dumont AS, Kung DK, Magnotta VA, et al. Evidence That Acetylsalicylic Acid Attenuates Inflammation in the Walls of Human Cerebral Aneurysms: Preliminary Results. *J. Am. Heart Assoc.* 2013;2

89. Aoki T, Kataoka H, Ishibashi R, Nozaki K, Hashimoto N. Simvastatin Suppresses the Progression of Experimentally Induced Cerebral Aneurysms in Rats. *Stroke.* 2008;39:1276–1285.

90. Wermer MJH, Greebe P, Algra A, Rinkel GJE. Incidence of Recurrent Subarachnoid Hemorrhage After Clipping for Ruptured Intracranial Aneurysms. *Stroke*. 2005;36:2394–2399.
91. 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;34:1398–1403.
92. Bodily KD, Cloft HJ, Lanzino G, Fiorella DJ, White PM, Kallmes DF. Stent-Assisted Coiling in Acutely Ruptured Intracranial Aneurysms: A Qualitative, Systematic Review of the Literature. *Am. J. Neuroradiol*. 2011;32:1232–1236.
93. Labeyrie PE, Gory B, Aguilar-Perez M, Pomeroy E, Biondi A, Riva R, et al. The pCONus Device for Treatment of Complex Wide-Neck Anterior Communicating Artery Aneurysms. *World Neurosurg*. 2017;101:498–505.
94. Raymond J, Darsaut TE, Molyneux AJ. A trial on unruptured intracranial aneurysms (the TEAM trial): results, lessons from a failure and the necessity for clinical care trials. *Trials*. 2011;12:64.
95. Naggara O, Darsaut T, Trystram D, Tselikas L, Raymond J. Unruptured intracranial aneurysms: why we must not perpetuate the impasse for another 25 years. *Lancet Neurol*. 2014;13:537–538.
96. Backes D, Rinkel GJE, Greving JP, Velthuis BK, Murayama Y, Takao H, et al. ELAPSS score for prediction of risk of growth of unruptured intracranial aneurysms. *Neurology*. 2017;88:1600–1606.
97. 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;43:3258–3265.
98. Chu Y, Wilson K, Gu H, Wegman-Points L, Dooley SA, Pierce GL, et al. Myeloperoxidase is increased in human cerebral aneurysms and increases formation and rupture of cerebral aneurysms in mice. *Stroke*. 2015;46:1651–1656.
99. Edjlali M, Gentric J-C, Régent-Rodriguez C, Trystram D, Hassen WB, Lion S, et al. Does Aneurysmal Wall Enhancement on Vessel Wall MRI Help to Distinguish Stable From Unstable Intracranial Aneurysms? *Stroke*. 2014;45:3704–3706.

100. Li Y, Dai W, Zhang J. Anxiety, depression and quality of life in patients with a treated or untreated unruptured intracranial aneurysm. *J. Clin. Neurosci.* 2017
101. Solheim O, Eloqayli H, Muller TB, Unsgaard G. Quality of life after treatment for incidental, unruptured intracranial aneurysms. *Acta Neurochir. (Wien)*. 2006;148:821–830.
102. Buijs JE, Greebe P, Rinkel GJE. Quality of Life, Anxiety, and Depression in Patients With an Unruptured Intracranial Aneurysm With or Without Aneurysm Occlusion: *Neurosurgery*. 2012;70:868–872.
103. Labeyrie P-E, Gory B, Huguet N, Grenier C, Ditac G, Sadeh-Gonik U, et al. Carotid siphon morphology: Is it associated with posterior communicating aneurysms? *Interv. Neuroradiol.* 2016;22:378–382.
104. Turjman AS, Turjman F, Edelman ER. Role of Fluid Dynamics and Inflammation in Intracranial Aneurysm Formation. *Circulation*. 2014;129:373–382.
105. Lee S, Kim I-K, Ahn JS, Woo D-C, Kim S-T, Song S, et al. Deficiency of Endothelium-Specific Transcription Factor Sox17 Induces Intracranial Aneurysm. *Circulation*. 2015;131:995–1005.
106. Mohan D, Munteanu V, Coman T, Ciurea AV. Genetic factors involves in intracranial aneurysms–actualities. *J. Med. Life*. 2015;8:336.
107. Cebal JR, Raschi M. Suggested Connections Between Risk Factors of Intracranial Aneurysms: A Review. *Ann. Biomed. Eng.* 2013;41:1366–1383.
108. Jamous MA, Nagahiro S, Kitazato KT, Tamura T, Aziz HA, Shono M, et al. Endothelial injury and inflammatory response induced by hemodynamic changes preceding intracranial aneurysm formation: experimental study in rats. *J Neurosurg* .2001;107:405–411
109. Rooij NK, Velthuis BK, Algra A, Rinkel GJE. Configuration of the circle of Willis, direction of flow, and shape of the aneurysm as risk factors for rupture of intracranial aneurysms. *J. Neurol.* 2009;256:45–50.
110. Bor ASE, Rinkel GJ, van Norden J, Wermer MJ. Long-term, serial screening for intracranial aneurysms in individuals with a family history of aneurysmal subarachnoid haemorrhage: a cohort study. *Lancet Neurol.* 2014;13:385–392.

111. Bourcier R, Redon R, Desal H. Genetic investigations on intracranial aneurysm: Update and perspectives. *J. Neuroradiol.* 2015;42:67–71.
112. Southerland AM, Meschia JF, Worrall BB. Shared associations of nonatherosclerotic, large-vessel, cerebrovascular arteriopathies: considering intracranial aneurysms, cervical artery dissection, moyamoya disease and fibromuscular dysplasia. *Curr. Opin. Neurol.* 2013;26:13–28.
113. Cagnazzo F, Gambacciani C, Morganti R, Perrini P. Intracranial aneurysms in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease: prevalence, risk of rupture, and management. A systematic review. *Acta Neurochir. (Wien).* 2017;159:811–821.
114. Woo D, Khoury J, Haverbusch MM, Sekar P, Flaherty ML, Kleindorfer DO, et al. Smoking and family history and risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurology.* 2009;72:69–72.
115. Zhang J, Clatterbuck RE. Molecular genetics of human intracranial aneurysms. *Int. J. Stroke.* 2008;3:272–287.
116. Ruigrok YM, Rinkel GJE, van't Slot R, Wolfs M, Tang S, Wijmenga C. Evidence in favor of the contribution of genes involved in the maintenance of the extracellular matrix of the arterial wall to the development of intracranial aneurysms. *Hum. Mol. Genet.* 2006;15:3361–3368.
117. Bilguvar K, Yasuno K, Niemelä M, Ruigrok YM, von und zu Fraunberg M, van Duijn CM, et al. Susceptibility loci for intracranial aneurysm in European and Japanese populations. *Nat. Genet.* 2008;40:1472–1477.
118. Biros E, Golledge J. Meta-analysis of whole-genome linkage scans for intracranial aneurysm. *Neurosci. Lett.* 2008;431:31–35.
119. Chalouhi N, Ali MS, Jabbour PM, Tjoumakaris SI, Gonzalez LF, Rosenwasser RH, et al. Biology of intracranial aneurysms: role of inflammation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012;32:1659–1676.
120. Baharoglu MI, Schirmer CM, Hoit DA, Gao B-L, Malek AM. Aneurysm Inflow-Angle as a Discriminant for Rupture in Sidewall Cerebral Aneurysms: Morphometric and Computational Fluid Dynamic Analysis. *Stroke.* 2010;41:1423–1430.

121. Ford MD, Lee S-W, Lownie SP, Holdsworth DW, Steinman DA. On the effect of parent–aneurysm angle on flow patterns in basilar tip aneurysms: Towards a surrogate geometric marker of intra-aneurysmal hemodynamics. *J. Biomech.* 2008;41:241–248.
122. Plouin P-F, Perdu J, La Batide-Alanore A, Boutouyrie P, Gimenez-Roqueplo A-P, Jeunemaitre X. Fibromuscular dysplasia. *Orphanet J. Rare Dis.* 2007;2:28.
123. Olin JW. Recognizing and managing fibromuscular dysplasia. *Cleve. Clin. J. Med.* 2007;74:273–274.
124. Slovut DP, Olin JW. Fibromuscular dysplasia. *N. Engl. J. Med.* 2004;350:1862–1871.
125. Steiger HJ, Turowski B. Fibromuscular dysplasia. *N Engl J Med.* 2004;351;5:509.
126. Cloft HJ, Kallmes DF, Kallmes MH, Goldstein JH, Jensen ME, Dion JE. Prevalence of cerebral aneurysms in patients with fibromuscular dysplasia: a reassessment. *J. Neurosurg.* 1998;88:436–440.
127. Hassan T, Timofeev EV, Saito T, Shimizu H, Ezura M, Matsumoto Y, et al. A proposed parent vessel geometry-based categorization of saccular intracranial aneurysms: computational flow dynamics analysis of the risk factors for lesion rupture. *J. Neurosurg.* 2005;103:662–680.
128. Nishimura. Role of angiotensin II type 1 receptor in cerebral aneurysm formation in rats. *Int. J. Mol. Med.* 2009
129. Hashimoto T, Meng H, Young WL. Intracranial aneurysms: links among inflammation, hemodynamics and vascular remodeling. *Neurol. Res.* 2006;28:372–380.
130. Aoki T, Kataoka H, Ishibashi R, Nozaki K, Morishita R, Hashimoto N. Reduced Collagen Biosynthesis Is the Hallmark of Cerebral Aneurysm: Contribution of Interleukin-1 and Nuclear Factor- κ B. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009;29:1080–1086.
131. 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;38:162–169.
132. Kadoglou NP, Liapis CD. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis, surveillance and treatment of abdominal aortic aneurysms. *Curr. Med. Res. Opin.* 2004;20:419–432.

133. Kanematsu Y, Kanematsu M, Kurihara C, Tada Y, Tsou T-L, van Rooijen N, et al. Critical Roles of Macrophages in the Formation of Intracranial Aneurysm. *Stroke*. 2011;42:173–178.
134. Monea S, Lehti K, Keski-Oja J, Mignatti P. Plasmin activates pro-matrix metalloproteinase-2 with a membrane-type 1 matrix metalloproteinase-dependent mechanism. *J. Cell. Physiol.* 2002;192:160–170.
135. 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;38:2337–2345.
136. Moriwaki T, Takagi Y, Sadamasa N, Aoki T, Nozaki K, Hashimoto N. Impaired Progression of Cerebral Aneurysms in Interleukin-1 -Deficient Mice. *Stroke*. 2006;37:900–905.
137. Kleinloog R, Verweij BH, van der Vlies P, Deelen P, Swertz MA, de Muynck L, et al. RNA Sequencing Analysis of Intracranial Aneurysm Walls Reveals Involvement of Lysosomes and Immunoglobulins in Rupture. *Stroke*. 2016;47:1286–1293.
138. Function of the Plasminogen/Plasmin and Matrix Metalloproteinase Systems After Vascular Injury in Mice With Targeted Inactivation of Fibrinolytic System Genes.
139. Lo EH, Wang X, Cuzner ML. Extracellular proteolysis in brain injury and inflammation: Role for plasminogen activators and matrix metalloproteinases. *J. Neurosci. Res.* 2002;69:1–9.
140. Gur-Wahnon D, Mizrachi T, Maaravi-Pinto F-Y, Lourbopoulos A, Grigoriadis N, Brenner T, et al. The plasminogen activator system: involvement in central nervous system inflammation and a potential site for therapeutic intervention. *J. Neuroinflammation*. 2013;10:891.
141. Etminan N, Rinkel GJE. Cerebral aneurysms: Cerebral aneurysm guidelines—more guidance needed. *Nat. Rev. Neurol.* 2015;11:490–491.
142. Wermer MJH, van der Schaaf IC, Algra A, Rinkel GJE. Risk of Rupture of Unruptured Intracranial Aneurysms in Relation to Patient and Aneurysm Characteristics: An Updated Meta-Analysis. *Stroke*. 2007;38:1404–1410.
143. Bijlenga P, Ebeling C, Jaegersberg M, Summers P, Rogers A, Waterworth A, et al. Risk of Rupture of Small Anterior Communicating Artery Aneurysms Is Similar to Posterior

Circulation Aneurysms. *Stroke*. 2013;44:3018–3026.

144. Vlak MH, Rinkel GJ, Greebe P, van der Bom JG, Algra A. Trigger factors and their attributable risk for rupture of intracranial aneurysms. *Stroke*. 2011;42:1878–1882.

145. Turi E, Conley Y, Stanfill AG. A Literature Review of Psychosocial Comorbidities Related to Working Capacity After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: *J. Neurosci. Nurs*. 2017;49:179–184.

146. Lovelock CE, Rinkel GJE, Rothwell PM. Time trends in outcome of subarachnoid hemorrhage population-based study and systematic review. *Neurology*. 2010;74:1494–1501.

147. Olin JW, Sealove BA. Diagnosis, management, and future developments of fibromuscular dysplasia. *J. Vasc. Surg*. 2011;53:826–836.e1.

148. Sethi SS, Lau JF, Godbold J, Gustavson S, Olin JW. The S curve: A novel morphological finding in the internal carotid artery in patients with fibromuscular dysplasia. *Vasc. Med*. 2014;19:356–362.

149. Bartolini B, Blanc R, Pistocchi S, Redjem H, Piotin M. “Y” and “X” Stent-Assisted Coiling of Complex and Wide-Neck Intracranial Bifurcation Aneurysms. *Am. J. Neuroradiol*. 2014;35:2153–2158.

150. Gory B, Spiotta AM, Mangiafico S, Consoli A, Biondi A, Pomero E, et al. PulseRider Stent-Assisted Coiling of Wide-Neck Bifurcation Aneurysms: Periprocedural Results in an International Series. *Am. J. Neuroradiol*. 2016;37:130–135.

151. Armoiry X, Turjman F, Hartmann DJ, Sivan-Hoffmann R, Riva R, Labeyrie PE, et al. Endovascular Treatment of Intracranial Aneurysms with the WEB Device: A Systematic Review of Clinical Outcomes. *Am. J. Neuroradiol*. 2016;37:868–872.

152. Murthy SB, Shah S, Shastri A, Venkatasubba Rao CP, Bershad EM, Suarez JI. The SILK flow diverter in the treatment of intracranial aneurysms. *J. Clin. Neurosci*. 2014;21:203–206.

153. Nuki Y, Tsou T-L, Kurihara C, Kanematsu M, Kanematsu Y, Hashimoto T. Elastase-Induced Intracranial Aneurysms in Hypertensive Mice. *Hypertension*. 2009;54:1337–1344.

154. Tada Y, Kanematsu Y, Kanematsu M, Nuki Y, Liang EI, Wada K, et al. A Mouse Model

of Intracranial Aneurysm: Technical Considerations *Intracerebral Hemorrhage Research*:2011; Zhang J, Colohan A, editors. 31–35

155. Bouzeghrane F, Naggara O, Kallmes DF, Berenstein A, Raymond J, The International Consortium of Neuroendovascular Centres. In Vivo Experimental Intracranial Aneurysm Models: A Systematic Review. *Am. J. Neuroradiol.* 2010;31:418–423.

156. Makino H, Tada Y, Wada K, Liang EI, Chang M, Mobashery S, et al. Pharmacological Stabilization of Intracranial Aneurysms in Mice. *Stroke.* 2012;43:2450–2456.

157. Chevilly A, Lesept F, Lenoir S, Ali C, Parcq J, Vivien D. Impacts of tissue-type plasminogen activator (tPA) on neuronal survival. *Front. Cell. Neurosci.* 2015

158. Vivien D, Gauberti M, Montagne A, Defer G, Touzé E. Impact of tissue plasminogen activator on the neurovascular unit: from clinical data to experimental evidence. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2011;31:2119–2134.

159. The national institute of neurological disorders and stroke rt-pa stroke study group. Tissue Plasminogen Activator for Acute Ischemic Stroke. *N Engl J Med.* 1995;333:25–35

160. Macrez R, Ali C, Toutirais O, Le Mauff B, Defer G, Dirnagl U, et al. Stroke and the immune system: from pathophysiology to new therapeutic strategies. *Lancet Neurol.* 2011;10:471–480.

161. Macrez R, Ortega MC, Bardou I, Mehra A, Fournier A, Van der Pol SMA, et al. Neuroendothelial NMDA receptors as therapeutic targets in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain.* 2016;139:2406–2419.

162. Lansley SM, Cheah HM, Varano della Vergiliana JF, Chakera A, Lee YCG. Tissue Plasminogen Activator Potently Stimulates Pleural Effusion via a Monocyte Chemotactic Protein-1–Dependent Mechanism. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2015;53:105–112.

163. Kang L-I, Isse K, Koral K, Bowen WC, Muratoglu S, Strickland DK, et al. Tissue-type plasminogen activator suppresses activated stellate cells through low-density lipoprotein receptor-related protein 1. *Lab. Invest.* 2015;95:1117–1129.

164. Zehtabchi S, Abdel Baki SG, Falzon L, Nishijima DK. Tranexamic acid for traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Emerg. Med.* 2014;32:1503–1509.

165. Aifa A, Gueudry J, Portmann A, Delcampe A, Muraine M. Topical Treatment with a New Matrix Therapy Agent (RGTA) for the Treatment of Corneal Neurotrophic Ulcers. *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* 2012;53:8181.
166. Barritault D, Gilbert-Sirieix M, Rice KL, Siñeriz F, Papy-Garcia D, Baudouin C, et al. RGTA® or ReGeneraTing Agents mimic heparan sulfate in regenerative medicine: from concept to curing patients. *Glycoconj. J.* 2017;34:325–338.
167. Spallone A. The role of extracranial carotid abnormalities in the genesis of cerebral aneurysms. *J Neurosurg.* 1981;693–700.
168. George B, Mourier L, Raggueneau JL. Vascular abnormalities in the neck associated with Intracranial Aneurysms. *Neurosurgery.* 1989;95:117–129
169. Schimansky S, Patel S, Rahal J, Lauric A, Malek AM. Extradural Internal Carotid Artery Caliber Dysregulation Is Associated With Cerebral Aneurysms. *Stroke.* 2013;44:3561–3564.
170. Weibel J. Tortuosity, coiling, and kinking of the internal carotid artery. *Neurology.* 1961;
171. Togay-Isikay C, Kim J, Betterman K, Andrews C, Meads D, Tesh P, et al. Carotid artery tortuosity, kinking, coiling: stroke risk factor, marker, or curiosity? *Acta Neurol. Belg.* 2005;105:68.
172. Metz H. Kinking of the ICA in relation to cerebrovascular disease. *The Lancet.* 1961;424–26.
173. Leipzig T. The Tortuous or Kinked Carotid Artery: Pathogenesis and Clinical Considerations. *Surg Neurol.* 1986;478–86.
174. Ruigrok YM, Elias R, Wijmenga C, Rinkel GJE. A comparison of genetic chromosomal loci for intracranial, thoracic aortic, and abdominal aortic aneurysms in search of common genetic risk factors. *Cardiovasc. Pathol.* 2008;17:40–47.
175. Marcos-Contreras OA, de Lizarrondo SM, Bardou I, Orset C, Pruvost M, Anfray A, et al. Hyperfibrinolysis increases blood–brain barrier permeability by a plasmin-and bradykinin-dependent mechanism. *Blood.* 2016;128:2423–2434.

176. Lindholt JS. Activators of Plasminogen and the Progression of Small Abdominal Aortic Aneurysms. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006;1085:139–150.
177. Yao Y, Tsirka SE. Truncation of monocyte chemoattractant protein 1 by plasmin promotes blood-brain barrier disruption. *J. Cell Sci.* 2011;124:1486–1495.
178. Strickland DK, Au DT, Cunfer P, Muratoglu SC. Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein-1: Role in the Regulation of Vascular Integrity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014;34:487–498.
179. Zhou X, Ji W-J, Tu Y, Yao M, Li Y-M. Abdominal aortic aneurysm and cerebral aneurysm present different pathological evolutions and responses to pharmacological therapy. *Med. Hypotheses.* 2007;68:601–606.

ANNEXES

Annexe 1 : Les formes limites et les formes frontières d'anévrysmes intracrâniens

D'autres types d'anévrysmes intracrâniens existent et bien que moins fréquents ils peuvent parfois être assimilés aux AIC. Cependant leur morphologie, le contexte clinique ou leurs histoires naturelles sont bien différentes^{8,9}. Ils ne touchent pas forcément la même population de patients et n'ont pas les mêmes facteurs de risque. Ils sont importants à connaître pour pouvoir bien les distinguer des AIC.

a) Les anévrysmes intracrâniens mycotiques.

Ils sont consécutifs à la lésion focale d'une artère intracrânienne par des bactéries anormalement présentes dans le lit artériel. Ils compliquent souvent les infections des valves cardiaques. Ils sont plus distaux et touchent des plus petites artères et ont généralement une paroi très fragile. Ils peuvent toucher tout type de patient et le contexte infectieux est généralement au premier plan.

b) Les dolichoectasie artérielles intracrâniennes.

Ce sont des dilatations fusiformes et tortueuses d'une ou plusieurs artères cérébrales. Ils ne sont pas sacciformes et leur évolution clinique est très différente de celles des AIC. Ils touchent généralement d'autres types de patient, et exposent à des complications autres que le saignement intracrânien comme par exemple les complications thromboemboliques.

c) Les Anévrysmes pédiculaires associées aux malformations artério-veineuses.

Ils sont des anévrysmes artériels intracrâniens situés sur des pédicules artériels alimentant des malformations artério-veineuse cérébrale. Ils sont plus rares et situés sur des artères plus petites, inhabituellement porteuses d'anévrysmes, et ils ne sont pas situés sur des bifurcations artérielles.

d) Les anévrysmes intracrâniens disséquant

Sont plus fréquents sur la circulation postérieure (80%) que sur la circulation antérieure (20%) contrairement aux AIC. Ces anévrysmes apparaissent dans la troisième et la quatrième décennie. Une prédominance masculine est discutée. Ils ont des caractéristiques morphologiques propres comme l'alternance d'un amincissement de l'artère associée à une dilatation irrégulière en amont, une irrégularité des angles de raccordement de l'anévrysmes à son artère porteuse et surtout la présence d'une stagnation de produit de contraste dans la paroi témoignant de la présence de plusieurs chenaux ou dissection

e) Les anévrysmes intracrâniens de l'enfant.

Les anévrysmes pédiatriques sont des atteintes rares et classiquement distinctes de celle des adultes. Ces différences sont franches quant on compare l'épidémiologie, les manifestations cliniques, les étiologies et la physiopathologie de ces anévrysmes pédiatriques, à celles de la population adulte. Les anévrysmes intracrâniens chez les enfants représentent moins de 5% du nombre total de patients atteints d'anévrysmes. L'absence de découverte accidentelle de ces anévrysmes chez les enfants indique que la grande majorité sont symptomatiques. Ils sont souvent de type disséquant.

Annexe 2 : Présentation clinique, gravité et détection de l'HSA

a) Présentation clinique

La première description d'une HSA d'origine anévrysmale a été rapportée en 1765 par Biumi de Milan sur une description autopsique. Désormais, la détection des HSA est très fiable et bien codifiée, en se basant en premier lieu sur les conséquences cliniques pour les patients.

La rupture d'un AIC est un événement brutal, considéré comme « bruyant », c'est-à-dire que le patient est toujours très symptomatique ; il est très rare qu'elle passe inaperçue. La présentation clinique est dominée par la céphalée : en effet l'irruption de sang dans les espaces sous-arachnoïdiens entraîne une douleur très importante. Il s'agit d'une céphalée soudaine, explosive, d'emblée maximale, qui domine la présentation clinique. Elle est parfois qualifiée de « céphalée sentinelle ». L'incidence de cette céphalée sentinelle dans les HSA anévrysmales n'est pas précisément connue mais estimée par certains auteurs à 40/100.000 habitant par an bien que seulement un quart de ces patients (10/100.000) soient réellement victimes d'une HSA.

Cette céphalée est parfois d'intensité modérée, mais elle est toujours d'apparition brutale et peut s'accompagner d'une perte de connaissance initiale avec récupération rapide. La présence de sang dans les espaces sous arachnoïdiens les met en tension, et le contact du sang sur les feuillets meninges provoque une activation des fibres sensibles responsable de la douleur. Cette céphalée est souvent accompagnée de troubles de la conscience décrits comme des malaises ou des pertes de connaissances. En effet, au cours du saignement, la pression intracrânienne augmente jusqu'à atteindre la pression artérielle moyenne. La résistance à la distribution de sang dans le cerveau augmente, ce qui fait chuter la pression de perfusion cérébrale et provoque une diminution ou une perte complète de la conscience du patient. On pense que c'est durant cette chute de la pression de perfusion cérébrale que la paroi de l'AIC se colmate et que le saignement s'interrompt, comme évoqué plus haut. Car c'est à ce moment que la pression exercée depuis le compartiment sanguin sur la brèche anévrysmale est inférieure à la pression intracrânienne exercée sur l'extérieur de la paroi de l'anévrysme.

Hormis les troubles de la conscience, d'autres signes associés inconstants et non spécifiques peuvent s'observer : des vomissements « en jet » ou des nausées, une photophobie et une phonophobie, un syndrome confusionnel d'installation aiguë, ou une crise épileptique généralisée.

Des troubles de la vigilance d'importance variable peuvent être également retrouvés. Ces troubles sont variables, de l'obnubilation dans les formes les moins prononcées au coma profond et brutal. Une mort subite par inondation massive des espaces sous-arachnoïdiens peut également survenir.

b) Critères de gravité initial

L'HSA est une affection grave à moyen et long terme avec 60 % de mortalité à un an en l'absence de traitement et de 10 à 15 % de mortalité malgré un traitement adapté. Elle est

également reponsable de handicaps majeurs, et d'une diminution très significative de la qualité de vie. Cependant la gravité initiale de l'HSA peut être très variable. En effet le spectre de la présentation clinique des patients est très vaste, de la simple céphalée brutale isolée au patient en coma profond ou présentant des déficits neurologiques comme une paralysie ou un arrêt cardio-circulatoire. Bien sur la gravité de la présentation initiale est corrélée au pronostic futur mais pas uniquement. En effet la gravité de l'HSA doit s'apprécier selon de nombreux critères, dont l'âge et la fragilité du patient, l'importance du saignement initial, la présence ou non d'un re-saignement, ainsi que de nombreux autres facteurs. La gravité d'une HSA est difficile à évaluer de façon prospective. L'état clinique à l'admission est un facteur important dans le pronostic. Plusieurs échelles ont été utilisées pour mesurer et évaluer l'état à l'admission après l'HSA. Ainsi, la classification de la Fédération Mondiale des Neurochirurgiens (World Federation of Neurologic Surgeon) est la plus utilisée. Cependant, étant donné la multiplicité de facteurs qui déterminent le pronostic chez les patients atteints d'HSA, il faut relativiser la réelle utilité de toutes ces échelles de classement. En effet, ces échelles sont utiles en termes de communication entre praticiens et pour communiquer dans la littérature scientifique, mais elles ne sont pas déterminante dans le choix des différents types d'interventions thérapeutiques et la prise en charge des patients

c) Détection paraclinique

Le diagnostic positif d'HSA est aujourd'hui réalisé par le scanner cérébral effectué sans injection de produit de contraste. C'est l'examen clé du diagnostic positif, à réaliser de toute urgence. Il détecte l'augmentation de densité scanographique liée à la présence de sang dans les espaces sous-arachnoïdiens. Il précise la localisation prédominante et la répartition de l'HSA, et permet d'en quantifier l'étendue. Il existe une classification de l'étendue de cette hémorragie initiale : la classification de Fisher qui est également utilisée pour quantifier de manière indirecte la gravité initiale de l'HSA. Ainsi, l'hémorragie peut être localisée, collectée, limitée à certaines citernes arachnoïdiennes ou, à l'inverse, être diffuse. Comme nous l'avons vu elle peut aussi être associée à un hématome intra-parenchymateux. La sensibilité de détection du sang extravasculaire au scanner est très bonne aux premiers temps de l'hémorragie, mais elle diminue rapidement avec le temps : de près de 98% à J1, elle n'est plus que de 75% à J3.. En effet l'hyperdensité scanographique du sang diminue avec l'hémolyse, c'est-à-dire la destruction des globules rouges et de leur contenu, et la circulation du LCR qui dilue le saignement. Le scanner révèle aussi la présence de complications immédiates comme un hématome compressif, une hémorragie intraventriculaire cérébrale, ou une hydrocéphalie aiguë, qui vont diminuer progressivement avec la résorption du sang extravasé lié à la circulation du liquide cébrospinal. Par ailleurs à partir du moment où l'AIC se rompt, le sang diffuse aux citernes arachnoïdiennes intracrâniennes mais également intra-rachidienne. Il se répand ainsi, jusqu'au niveau du canal lombaire où il peut être détecté par une ponction lombaire diagnostique. L'examen du LCR recueilli par ponction lombaire ne doit être proposé que si l'examen TDM est normal ou qu'il n'a pu être pratiqué dans les tous premiers jours après le début de l'HSA. L'imagerie par résonance magnétique ou IRM est moins utilisée en routine que le TDM dans le diagnostic des HSA. Cependant des études rapportent une sensibilité comparable au scanner en période aiguë. Cette donnée est importante car elle permet de justifier

l'utilisation de l'IRM dans les études expérimentales chez le petit animal ou celle-ci est couramment utilisée.

d) Mise en évidence de l'anévrisme rompu

Comme nous l'avons vu 85 % des HSA sont d'origine anévrysmale ce qui implique que la découverte d'une HSA sur un examen paraclinique (TDM, IRM ou PL) doit impérativement faire rechercher, trouver ou alors éliminer avec certitude la présence d'un AIC. Il s'agit d'une urgence diagnostique. La détection d'un anévrisme est la plupart du temps réalisée sur un angio-scanner artériel cérébral. Celui-ci permet de détecter avec une excellente précision les anomalies morphologiques des artères du cerveau dont les anévrysmes.. Cet examen permet de certifier de l'origine anévrysmale d'une HSA. Cependant si l'examen ne retrouve pas d'anévrisme malgré la présence d'une HSA, il n'est pas suffisamment sensible pour pouvoir éliminer formellement sa présence. Il est alors nécessaire de réaliser une angiographie cérébrale qui reste l'examen le plus sensible pour confirmer ou infirmer la présence d'un anévrisme. Également, l'angiographie cérébrale permet une meilleure caractérisation de la morphologie de l'AIC, de son orientation et est un élément déterminant du processus thérapeutique. L'IRM peut également être utilisée pour affirmer la présence d'un anévrisme, mais celle-ci est moins précise que le TDM et l'angiographie.

Annexe 3 : Complications de l'HSA anévrysmale

a) Complications aiguës

Parmi les complications aiguës, le re-saignement anévrysmal est la complication la plus grave. Comme nous l'avons vu plus haut le point de rupture de la paroi de l'AIC se colmate tout seul au cours de phénomène d'équilibration de pression assez complexe. Mais ce rétablissement apparent de l'intégrité de la paroi anévrysmale est fragile et instable et expose au risque de re-saignement. Celui-ci se produit généralement dans les premières 72 h après le saignement initial, avec un risque modéré (9 à 17%) dans les premières heures et un pic statistique maximum dans les 48h. Il est souvent associé à un moins bon pronostic. C'est à cause de cette récurrence hémorragique précoce que l'occlusion des AIC rompus est une urgence. L'abondance initiale de l'HSA classée en Fisher 4 selon la classification de Fisher est un facteur de risque de récurrence, de même que la mise en place d'un drainage important de LCR augmente ce risque.

L'hydrocéphalie aiguë est définie comme une dilatation aiguë du système ventriculaire en raison de l'obstruction du flux de LCR causée par le sang lui-même (caillottage ventriculaire) ou par les produits de dégradation du sang, qui empêche la résorption du LCR. Cette complication aiguë intervient chez 20% des patients. Le risque est proportionnel à l'abondance du saignement initial, bien qu'une HSA de faible abondance peut également se compliquer d'hydrocéphalie aiguë. Cette hydrocéphalie provoque une augmentation de la pression intracrânienne en plus de celle provoquée par l'HSA elle-même, et aggrave à la fois l'état clinique et le pronostic des patients. Il est donc important de mettre en évidence la dilatation ventriculaire dès la phase initiale de la prise en charge, car elle peut nécessiter la mise en place d'une dérivation ventriculaire externe (DVE) insérée en urgence par les neurochirurgiens.

L'œdème cérébral massif est une complication plus rare de l'HSA dont la pathophysiologie n'est pas bien élucidée mais qui peut entraîner des lésions ischémiques du cerveau, entraînant la mort en quelques heures après l'hémorragie sous-arachnoïdienne. Il affecte classiquement des patients plus jeunes et cela indépendamment de la gravité de l'hémorragie initiale. Des mesures de réanimation pour lutter contre l'œdème cérébral sont fondamentales à ce stade.

Certaines complications non neurologiques peuvent apparaître dans les premiers jours d'une HSA anévrysmale. En particulier les troubles cardiaques, avec parfois d'authentiques cardiopathies de stress ou un syndrome de Tako-Tsubo. De même des atteintes respiratoires aiguës comme l'œdème pulmonaire aigu sont visibles. Un syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS) survient également en phase aiguë après une HSA. L'apparition de SIRS aggrave le pronostic des patients et augmente le risque de survenue de complications différées tels que le vasospasme et l'hydrocéphalie chronique.

b) Complications sub-aiguës

Le vasospasme est la complication sub-aiguë la plus fréquente suite à une hémorragie sous-arachnoïdienne. Il survient généralement entre les 4^{ème} et 21^{ème} jours après le saignement initial avec un pic de fréquence aux alentours de J7. Des cas de vasospasmes plus tardifs ont également été signalés. Le risque de survenue du vasospasme est corrélé avec l'abondance du saignement initial et la classification de Fisher. Il affecte de préférence les jeunes femmes. Il existe de très nombreuses hypothèses entourant la physiopathologie du vasospasme, mais à ce stade aucune certitude scientifique. Le vasospasme est un phénomène quasi exclusivement

associé aux HSA d'origine anévrysmale alors qu'il est beaucoup plus rare dans les HSA d'autres origines. Il semble que la dégradation et la lyse du sang d'origine artérielle dans le LCR conduit à la libération de médiateurs vaso-actifs, ce qui entraîne une vaso-constriction cérébrale conduisant à une chute de la perfusion cérébrale. Cette diminution de la perfusion cérébrale peut entraîner un déficit neurologique mais les symptômes cliniques sont parfois plus silencieux, par exemple une agitation ou une confusion. C'est une urgence diagnostique également qui doit être confirmée rapidement. L'échographie Doppler Trans cranien est utilisée en première ligne et montre une augmentation de la vitesse systolique circulatoire artérielle et des vitesses moyennes dans l'artère spasmée. La prise en charge du vasospasme à la phase aigue est très controversée et de très nombreuses stratégies existent sans qu'aucune n'ait démontré son efficacité avec un niveau de preuve satisfaisant.

Souvent associée au vasospasme, l'ischémie cérébrale retardée (ICR) est une des causes les plus importantes de mortalité et de mauvaise évolution clinique des patients. De nouveaux concepts apparus au cours de la dernière décennie ont conduit à un changement de paradigme important dans la compréhension de la pathogenèse de l'ICR alors qu'elle était classiquement décrite comme la conséquence seule du vasospasme artériel. De nouvelles hypothèses impliquent désormais des lésions cérébrales précoces et un dysfonctionnement micro-circulatoire. Malgré ces nouveaux concepts aucune nouvelle thérapie n'a été prouvée.

c) Complications chroniques et à distance

L'hydrocéphalie chronique est une complication commune survenant au décours d'une HSA. Son incidence dans des études récentes est rapportée aux alentours de 10 à 20 % des patients après 2 semaines. Cette hydrocéphalie chronique altère la fonction neurologique des patients et conduit à la détérioration des résultats fonctionnels et de la récupération neurologique. Il ne semble pas exister de traitements préventifs satisfaisants ou prouvés. Certaines études ont rapporté une fibrose et une oblitération des granulations de l'arachnoïde, chez les patients atteints d'hydrocéphalie chronique. Plusieurs méthodes chirurgicales permettent d'implanter des drains à demeure et de lutter contre cette hydrocéphalie.

Bien sur les handicaps neurologiques (déficits moteurs, sensitifs ou neurosensoriels) sont des complications à distance très fréquentes chez les patients victimes d'HSA anévrysmale. Malgré les progrès thérapeutiques la proportion de patients qui restent dépendants après une HSA est de l'ordre de 15%. Le coût social pour ces patients plutôt jeunes (souvent moins de 50 ans) est très important. Il existe également beaucoup d'autres complications chroniques de l'HSA qui sont plus difficiles à dépister que les handicaps moteurs. En effet, l'HSA anévrysmale peut avoir des effets dévastateurs sur le bien-être cognitif et émotionnel des victimes. De nombreux patients présentent des difficultés psychosociales tels que la dépression, des ralentissements cognitifs, de l'anxiété et des états de stress post-traumatique qui pourraient influencer leur réinsertion sociale. Des auteurs rapportent qu'environ 30% des patients ont des troubles cognitifs et un ESPT, et 20 % souffriraient de dépression. Pourtant ces conséquences sont parfois négligées et mal prises en charge. Un dépistage structuré des troubles cognitifs et émotionnels au début de la convalescence pourrait aider ces patients et leur entourage.

« L'automne déjà !

- Mais pourquoi regretter un éternel soleil, si nous sommes engagés à la découverte de la clarté divine, loin des gens qui meurent sur les saisons. »

Une saison en Enfer
Arthur Rimbaud

