

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA**

**EMBOLOGIAÇÃO COM MOLAS REVESTIDAS COM COPOLÍMERO E  
MOLAS NÃO REVESTIDAS EM MODELO EXPERIMENTAL DE  
ANEURISMA CEREBRAL EM SUÍNOS**

**GABRIEL MOSSMANN**

**ORIENTADOR: PROF. ADAMASTOR HUMBERTO PEREIRA**

Dissertação de Mestrado na Linha de  
Pesquisa de Desenvolvimento experimental  
de modelo de prótese vascular

**Porto Alegre**

**2008**

Dedico esta obra aos amores da minha vida, sem os  
quais não haveria motivação para este trabalho nem para  
as demais coisas da vida...

Patrícia, Henrique e um vindouro bebê.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha esposa e ao meu filho, Patrícia Klunck e Henrique Mossmann; a meus pais, Ronaldo e Olga Mossmann e a meus irmãos, Filipe e Thiago Mossmann, pelo carinho, união e apoio que tornam a vida mais inspiradora, a ponto de valer a pena dedicar-me a algo como a uma pós-graduação, mesmo após tantos anos de estudo somando-se colégio, medicina, residência em neurocirurgia e subespecialização em neurorradiologia intervencionista.

Agradeço também às pessoas que diretamente me ajudaram na realização deste trabalho; primeiramente, ao meu orientador, o professor Adamastor Humberto Pereira, pelo apoio, dicas e entusiasmo com o tema desde o início; aos colegas Marco Aurélio Grudtner e João Luiz Elesbão, pela ajuda cirúrgica fundamental durante a realização do experimento; à professora Roseli de Oliveira Möllerke (*in memoriam*), pelo apoio muito necessário ao andamento do experimento; ao professor Carlos Thadeu Cerski, pelas dicas e paciência durante a análise histológica; aos colegas da veterinária, Fernanda Veit e Sheila Bernardes, e da biologia, Eduardo Amaro da Silveira, pela importante ajuda na anestesia e cuidados com os animais durante os experimentos; e aos acadêmicos de medicina que ajudaram nas funções “árduas” do experimento, Rafael Mello e Pedro Piccinini.

Agradeço, ainda, aos meus dois mestres, Dr. Paulo Passos, chefe da neurorradiologia intervencionista do Hospital Beneficência Portuguesa de Porto Alegre, cuja habilidade, conhecimento e pioneirismo na técnica neuroendovascular possibilitou a formação de outros especialistas nessa nova área de atuação; e ao Dr. José Alberto Landeiro, chefe da neurocirurgia do Hospital de Força Aérea do Galeão, no Rio de Janeiro, pelos ensinamentos não só de ordem técnica, mas também em relação à dedicação e ao empenho necessários ao exercício médico.

Agradeço aos colegas de equipe, sem os quais seria impossível a realização dos créditos deste curso, especialmente ao Dr. Manoel Maia Filho, pelas sugestões

e apoio desde o início do projeto; ao Dr. Eduardo Mello; ao Dr. Isaac Bertuol; ao Dr. Vinicius Borges Soares; ao Dr. Cristiano Hubner e ao Dr. Odilamar Andrade, pelo apoio e incentivo.

Agradeço também, aos distribuidores de materiais neuroendovasculares sem cuja doação seria impossível a realização do experimento: Adriano Gonçalves de Melos (Inmed), que proporcionou os primeiros e principais materiais; Luis Fidelix (Intelimed) e Antônio Andrade (Boston Scientific do Brasil), pela doação das molas utilizadas; Patrícia Rebbelo (Inmed), pelos microcateteres e microguias e Marcus Vinicius Severgnini (Endosul), pelos introdutores, cateteres guias e fios guias.

Não poderia deixar de agradecer aos amigos de sempre, Dr. Frederico Oliveira e Dr. Guilherme Grezzana, pelos conselhos e incentivo.

“Os detalhes fazem a perfeição, e a perfeição não  
passa de um detalhe.”

Leonardo da Vinci

## RESUMO

**Objetivo:** Desenvolver um modelo experimental de aneurisma cerebral em artéria de suínos. Secundariamente, avaliar o processo de organização do trombo e de formação de tecido fibrocelular dentro do aneurisma com o tratamento endovascular utilizando molas revestidas (Matrix) comparadas às sem revestimento (GDC).

**Materiais e Métodos:** Em 10 suínos saudáveis, com peso variando entre 16 e 20 kg, sendo 6 machos e 4 fêmeas, foi realizada a cirurgia de formação de aneurisma nas carótidas bilateralmente, através de arteriotomia e anastomose término-lateral com segmento de veia jugular. O diâmetro médio dos aneurismas era de 3 mm (variação de 2 a 4mm). Procedia-se então ao tratamento endovascular dos aneurismas divididos do seguinte modo: grupo I, embolização do aneurisma da carótida esquerda com mola de platina (GDC); grupo II, embolização do aneurisma da carótida direita com mola de platina revestida com copolímero - PGLA 90/10 (Matrix). Após 14 dias, eram retiradas as lesões e analisadas microscopicamente, comparando-se a formação de trombo recente ou trombo organizado no interior de cada aneurisma. Para isso, foi criada uma escala de caracterização das fases do processo de trombose (Escores de 1 a 4). O Escore 1 era definido como a presença de trombo inicial ou recente; o Escore 2 era categorizado como a presença de leucócitos em diferenciação contendo fibrina e absorção das hemácias e plaquetas, porém intercalados com zonas contendo trombo recente. No Escore 3, observava-se a presença de leucócitos em diferenciação contendo fibrina e no Escore 4, a presença de tecido fibrocelular contendo fibras de colágeno. A análise estatística foi realizada de modo pareado, através do Teste de Wilcoxon, sendo os dados processados no programa SPSS 12.0. O nível de significância mínimo adotado foi de 5%.

**Resultados:** Um animal (macho) foi excluído do estudo devido à formação de abscesso cervical, restando, portanto, 9 animais (18 aneurismas para avaliação). Na análise do processo de organização do trombo, utilizou-se a graduação por escores, obtendo-se no grupo I, 88,8% de casos de trombo recente (Escore 1) e 11,1% de casos de trombo em organização ainda contendo coágulo (Escore 2). No grupo II, obteve-se 11,1% de casos com escore 1, 11,1% com escore 2, 55,5% de casos de trombo organizado com tecido fibrocelular frouxo (Escore 3) e 22,2% de casos de tecido fibrocelular denso contendo colágeno (Escore 4). Houve diferença estatística a favor do grupo II, por meio do Teste de Wilcoxon ( $p=0,008$ ).

**Conclusão:** O modelo experimental de aneurisma de pequenas dimensões utilizado neste estudo foi adequado e permitiu a realização do tratamento endovascular testando dois tipos de molas. Por meio da análise histológica baseada em escala criada para avaliar a organização do trombo, pôde-se verificar diferença significativa a favor das molas com revestimento de copolímero.

**Palavras-Chave:** Aneurisma. Embolização. Molas. Estudo experimental.

## ABSTRACT

**Background and Objectives:** To develop an experimental model in a pig that could be used for analysis of patency of cerebral aneurysms is the goal of this study. Additionally, it aims to evaluate the degree of thrombosis after embolization with two types of coils: copolymer-coated coils (Matrix) and uncoated platinum coils (GDC).

**Method:** In a total of 10 Large-White pigs, small aneurysms (with a mean diameter of 3 mm) were created in both carotid arteries (6 males and 4 females) weighing 16 to 20 kg (mean: 18 kg). Embolization was performed with GDC platinum coils on the left side and with a coil coated with Matrix polymer on the right side. After 14 days, angiography was performed to confirm exclusion of the aneurysm. Before euthanasia with a lethal dose of potassium chloride, the carotid artery was removed in one piece, including the aneurysm. The specimens were cut into sections, including the mid portion of the aneurysm and the artery above and below the aneurysm, and stained with hematoxylin-eosin for histological analysis. A graduated scale with progressive scores ranging from 1 to 4 was used to evaluate the organization of the thrombus. Score 1 indicated clusters of platelets, white blood cells, and red blood cells; Score 2 showed the presence of differentiating white blood cells containing fibrin and absorption of red blood cells and platelets, interspersed with zones containing a recent thrombus; Score 3 corresponded to the presence of differentiating white blood cells containing fibrin, which characterized a loose fibrocellular tissue; and Score 4 indicated the presence of fibrocellular tissue containing collagen fibers, which characterized an incipient dense fibrocellular tissue. The data were described as frequency and percentage using the Wilcoxon test for findings involving thrombosis scores. The data were analyzed using the SPSS 12.0 software, and the minimum significance level was set at 5%.

**Results:** One animal (male) was excluded from the study due to abscess formation near the anastomosis. Therefore, 9 animals (18 aneurysms) were assessed. A score was used for analyzing the organization of the thrombus. In group I, 88.8% had score 1, 11.1% score 2, but no cases showed scores 3 and 4. In group II, 11.1% had score 1, 11.1% score 2, 55.5% score 3, and 22.2% score 4. The Wilcoxon test was applied, revealing a significant difference ( $p=0.008$ ) between the scores for group I and group II in the course of 14 days.

**Conclusion:** The experimental aneurysm developed in this study was suitable for assessing the patency of small aneurysms (measuring, on average, 3 mm) after coil embolization. The organization of the intra-aneurysmal thrombus after 14 days was verified using the progressive score, which indicated a significant difference between the group treated with the Matrix coil and that treated with GDC.

**Keywords:** Aneurysm. Embolization. Experimental model. Coil.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Incisão cervical anterior mediana (ILM) demonstrando os planos das carótidas comuns direita e esquerda (CCD e CCE) .....	23
Figura 2 - Realização da anastomose término-lateral da veia jugular na carótida (AN- aneurisma, CL- pinça de clampeamento, AC- carótida) .....	23
Figura 3 - Introdutor na artéria femoral (INF) para acesso endovascular .....	24
Figura 4 - Arteriografia após a realização cirúrgica do aneurisma (AN) demonstrando perviedade de ambos os lados (CCD e CCE-carótidas comuns direita e esquerda) .....	25
Figura 5 - Detalhe da carótida esquerda (CCE) com o aneurisma pérvio (AN) .....	25
Figura 6 - Controle arteriográfico após a embolização do aneurisma (ANE) da carótida esquerda com mola GDC (CCE) .....	26
Figura 7: Controle arteriográfico após a embolização do aneurisma (ANE) da carótida direita com mola Matrix (CCD) .....	26
Figura 8: Detalhes sem contraste do cateter (CAT) e da mola no aneurisma (M) ...	27
Figura 9: Controle angiográfico após 14 dias, demonstrando perviedade da carótida (AC) e exclusão do aneurisma embolizado (ANE).....	28
Figura 10 Detalhe da peça retirada após 14 dias (AN- aneurisma, AC- artéria carótida) .....	28
Figura 11: Corte pós parafina antes da preparação das lâminas demonstrando o lúmen arterial (LA) e o aneurisma embolizado (AN) .....	29
Figura 12: Trombo recente (Escore 1) (aumento de 200x, HE) .....	31
Figura 13: Trombo em organização com tecido fibrocelular incipiente ainda contendo trombo recente (Escore 2) (aumento de 100x, HE) .....	31
Figura 14: Trombo organizado com tecido fibrocelular frouxo e restos de fibrina (Escore 3) (Aumento de 200x, HE) .....	31
Figura 15: Trombo organizado com tecido fibrocelular denso atenuado, contendo fibras de colágeno (Escore 4) (Aumento de 100x, HE) .....	32
Figura 16: Corte histológico na transição entre a artéria com lúmen pérvio (LA) e o interior do aneurisma (IAN) com trombo organizado (aumento de 20x, HE).....	34

Figura 17: Corte na região do ponto de anastomose entre a veia e a artéria (LA- lúmen arterial, PS- ponto de sutura, CAN- aneurisma com algumas fibras de colágeno (aumento de 40x, HE) .....	34
Figura 18: Transição entre artéria e aneurisma (LA- lúmen arterial, PA- parede da artéria, IAN- interior do aneurisma), com trombo organizado (aumento de 40x, HE).....	35
Figura 19: Histologia de trombo organizado com tecido frouxo (TFO) ainda com presença de fibrina (FIB) em grande quantidade (aumento de 100x, HE).....	35
Figura 20: Detalhe do tecido fibrocelular frouxo (TFO) e fibrina intra-aneurismáticos (aumento de 400x, HE).....	35
Figura 21: Corte do interior de um aneurisma (IAN) com trombo recente (TR) (aumento de 20x, HE).....	36
Figura 22: Detalhe da região do fundo de um aneurisma com trombo recente (TR) em seu interior (END- endotélio, ADV- adventícia) (aumento de 200x, HE) .....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Graduação do processo de organização do trombo..... 30

Tabela 2 - Achados histológicos intra-aneurismáticos após 14 dias de embolização ..... 34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% - percentagem

cm - centímetro

et al. - e outros

GDC - mola (*Coil*) Destacável de Guglielmi

Mm - milímetro

Kg - quilograma

MG - miligrama

UI - unidades internacionais

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
<b>3 OBJETIVO</b> .....	18
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	18
4.1 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....	19
4.2 DESENVOLVIMENTO DO MODELO EXPERIMENTAL .....	20
4.3 MÉTODOS .....	20
4.3.1. Grupos Experimentais .....	20
4.3.2 Procedimento Anestésico .....	21
4.3.3 Procedimento Cirúrgico .....	22
4.3.4 Procedimento Endovascular.....	24
4.3.5 Análise Histológica .....	29
4.3.6 Sistema de Graduação Histológica .....	30
4.3.7 Análise Estatística .....	32
<b>5 RESULTADOS</b> .....	33
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	37
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	48
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	49
<b>BIBLIOGRAFIA CONSULTADA</b> .....	56

## 1 INTRODUÇÃO

O aneurisma cerebral é uma dilatação circunscrita da parede das artérias cerebrais resultante de uma fragilidade local, pela ausência da lâmina elástica externa e presença de delgada túnica média, em contraste com as artérias extracranianas. As zonas de bifurcação destes vasos são as áreas mais atingidas e, o fluxo de sangue exercendo pressão, produz o aneurisma sacular que é o tipo mais freqüente encontrado no cérebro. O fluxo anormal no interior deste compartimento provoca ondas de pressão e tensão aumentada na parede, podendo levar à ruptura com conseqüente hemorragia <sup>1</sup>.

Estima-se que 2% a 5% da população mundial sejam portadores de um aneurisma cerebral e destes, cerca de 20% apresentam múltiplas lesões. A manifestação clínica aparece geralmente na idade adulta, com pico entre 55 e 60 anos, sendo raros na infância. A fraqueza da parede arterial na grande maioria é congênita, mas o acometimento de membros de uma mesma família é pouco freqüente. O risco de hemorragia cerebral é de 1% a 2% ao ano, porém com taxas de mortalidade de até 50% <sup>2</sup>.

Os sintomas mais comuns são os decorrentes da hemorragia cerebral subaracnoidéia causada pela ruptura do aneurisma. Apresenta-se de maneira repentina com forte dor de cabeça, vômitos e rigidez de nuca, podendo diminuir o nível de consciência até o coma e levar à morte. Já o aneurisma que não se rompe, na maioria dos casos, é assintomático, exceto os gigantes (maiores ou iguais a

2,5cm) que pelo seu tamanho, exercem compressão sobre estruturas cerebrais vizinhas<sup>3, 4, 5</sup>.

A hemorragia cerebral é fatal para 10% a 15% dos pacientes antes que recebam qualquer atenção médica em ambiente hospitalar. Em torno de 10% dos pacientes morrem na primeira semana, e 50% a 60% morrerão nos 30 dias seguintes ao quadro. Outros 30% a 50% correm o risco de ter novo sangramento nos próximos seis meses, se não tratados. Em geral, o sangramento envolve as artérias da base do cérebro e provoca sua constricção (vasoespasma), reduzindo o fluxo de sangue para os tecidos, induzindo à isquemia e à morte celular<sup>1, 2, 6, 7</sup>.

A morbidade global da ruptura de um aneurisma intracraniano pode chegar a 70%, tratando-se, portanto, de uma urgência médica<sup>8, 9</sup>.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Para orientar o tratamento e estabelecer o prognóstico, o estado neurológico, bem como a quantidade e a localização do sangramento são fatores determinantes. O tratamento do aneurisma e suas complicações deverá ser instituído o mais rapidamente possível, para evitar o risco de novo sangramento, que ocorre em até 30% nos primeiros 3 dias e o vasoespasma, que reflete na piora neurológica. Para o

combate do vasoespasma a terapia hipertensiva é utilizada e, por esta razão, o aneurisma deverá estar ocluído<sup>8,9</sup>.

Existem duas formas de tratamento: a cirurgia convencional que consiste na abertura do crânio com a colocação de clipe metálico na base do aneurisma, e a embolização endovascular, que não necessita da abertura do crânio e pode ser realizada sob sedação. Esta técnica consiste na oclusão do saco aneurismático com molas (*coils*) de platina conduzidas através de micro-cateteres introduzidos por uma punção da artéria femoral<sup>10, 11, 12, 13</sup>.

A cirurgia convencional na fase aguda provoca piora neurológica em aproximadamente 20% dos pacientes em razão da oclusão temporária das artérias e pela retração do cérebro durante o ato operatório. Nos casos neurológicos mais graves, o fracasso é maior. A cirurgia realizada tardiamente, após a 14ª semana, põe em risco o sucesso do tratamento em virtude da possibilidade de novo sangramento e das conseqüências isquêmicas do vasoespasma que ocorre entre o 3º e 15º dia do início do quadro<sup>14, 15, 16, 17</sup>.

A embolização endovascular pode ser realizada em qualquer período após a hemorragia, pois não interfere na fisiologia cerebral e não manipula estruturas cerebrais. É um procedimento minimamente invasivo em que o médico utiliza a fluoroscopia para visualizar o sistema vascular do paciente e tratar a lesão no vaso, em tempo real. O tratamento pode ser realizado logo após o diagnóstico angiográfico ou mesmo durante o exame, e com qualquer grau de gravidade neurológica. Tem indicação formal para pacientes acima de 65 anos e que apresentem algum outro comprometimento clínico (cardíacos, renais crônicos, diabéticos, etc.) ou ainda em pacientes comatosos no período precoce do

sangramento e em aneurismas da circulação posterior do cérebro, de difícil acesso cirúrgico (sistema vértebro-basilar) <sup>18, 19, 20, 21, 22</sup>.

A maioria dos aneurismas intracranianos é tratável por via endovascular e somente os dados fornecidos pela angiografia poderão contra-indicar a utilização deste procedimento. Hoje, são oferecidos os mais variados e sofisticados materiais para a intervenção endovascular que permitem tratar aproximadamente 95% dos aneurismas. O tratamento endovascular baseia-se na oclusão do saco aneurismático, mantendo-se pérvia a artéria portadora, isto é, a artéria que lhe dá origem. É de fundamental importância durante o tratamento que se observe a relação entre o colo (abertura da artéria que dá origem ao aneurisma) e o lúmen da artéria portadora, tendo importância secundária a morfologia, o tamanho e a localização deste, sob ponto de vista técnico. Nos aneurismas de colo largo, isto é, com sua entrada igual ou maior que o saco aneurismático, podemos utilizar pequenos balões para cobrir provisoriamente o colo, impedindo que as molas invadam a artéria portadora no momento em que elas estão sendo introduzidas. Em outros aneurismas, como nos fusiformes, o colo não existe, sendo necessária uma técnica combinada com a colocação de um *stent* no segmento arterial de onde se origina a lesão. Através de suas malhas, introduz-se então um microcateter para a deposição das molas. O *stent* impede que as molas invadam o leito arterial e reconstrói o segmento arterial adjacente <sup>23, 24, 25, 26, 27, 28</sup>.

Para aneurismas gigantes pode-se utilizar a mesma técnica dos aneurismas fusiformes ou realizar a oclusão do aneurisma e da artéria portadora de maneira simultânea, caso haja circulação colateral contralateral comprovada. Alguns

aneurismas podem se recanalizar parcialmente e uma nova sessão de tratamento deverá ser realizada para obter-se a oclusão total<sup>29, 30</sup>.

Atualmente, a questão de optar entre o tratamento cirúrgico e o endovascular segue as normas sugeridas no ISAT (International Subarachnoid Aneurysm Trial). Este é o único estudo multicêntrico prospectivo, em que pacientes eram alocados para ambas as opções de tratamento aleatoriamente, sendo encontrados melhores resultados no grupo submetido à embolização, quanto à sobrevida livre de incapacidade no primeiro ano do evento. O risco relativo de morte ou de grande incapacidade foi 22,6% mais baixo que nos pacientes tratados com cirurgia<sup>9</sup>.

A Guglielmi Detachable Coil (GDC™, Boston Scientific Corporation) foi o primeiro tipo de mola, introduzida em 1991. Composta de platina, tem sido utilizada em diversos países para tratar mais de 125.000 pacientes<sup>31, 32</sup>. As molas promovem a trombose e o desenvolvimento de tecido conectivo cicatricial dentro do aneurisma. Esse tecido exclui o aneurisma do fluxo de sangue arterial, diminuindo em muito o risco de ruptura<sup>33, 34, 35, 36, 37</sup>.

A mola Matrix™ (Boston Scientific Corporation), parece se constituir em avanço sobre as tradicionais de platina (GDC) no que se refere ao preenchimento de aneurismas, segundo evidências de trabalhos pré-clínicos em experimentos animais. Ela aceleraria a formação do tecido conectivo intra-aneurismático, promovendo um processo de cicatrização precoce. Trata-se de uma mola híbrida de platina com copolímeros compostos de Ácido Poliglicólico/ Polilático (PGLA 90/10). Matrix consiste de 70% copolímero e 30% platina. O polímero é bioabsorvível, sendo substituído por matriz de tecido conectivo maduro<sup>38, 39, 40</sup>.

### **3 OBJETIVO**

O objetivo deste estudo, primeiramente, é desenvolver um modelo experimental de aneurisma cerebral pequeno em artéria de suínos.

Secundariamente, pretende-se avaliar o processo de organização do trombo e de formação de tecido fibrocelular dentro do aneurisma com as molas revestidas (Matrix) comparadas às sem revestimento (GDC).

### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado no Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) - Unidade de Experimentação Animal (UEA), aprovado pelo Comitê de Ética do Programa de Pós-Graduação do HCPA e da UEA.

A análise histológica foi realizada no Serviço de Patologia do HCPA.

O estudo experimental foi feito com 10 suínos da raça Large-White com idade de 8 semanas e peso médio de 18 kg (variação entre 16 e 20 kg), provenientes da

Granja Santa Clara, devidamente credenciada para este fim. Foram 6 animais do sexo masculino e 4 animais do sexo feminino. Após o procedimento cirúrgico, os animais eram alojados na Chácara do Lami, supervisionados por uma equipe de médicos veterinários, até o seu retorno ao Centro de Pesquisas, após 14 dias, para eutanásia.

#### 4.1 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Antes da realização do experimento, foram definidos como critérios de exclusão:

- a) falha na execução do modelo de aneurisma ou na colocação da mola;
- b) reintervenção devido à hemorragias e/ou infecção;
- c) óbito do animal antes do prazo da coleta da amostra;
- d) falhas técnicas no preparo ou processamento dos tecidos para análise histológica.

## 4.2 DESENVOLVIMENTO DO MODELO EXPERIMENTAL

Inicialmente, no estudo piloto com 2 suínos, o desenvolvimento do modelo experimental de aneurisma cerebral consistia na arteriotomia carotídea e anastomose látero-lateral com a veia jugular interna do suíno. Procedia-se então à ligadura dos cotos proximal e distal da veia, soltando as pinças da carótida a fim de verificar-se o enchimento do aneurisma. Entretanto, nestes 2 animais, observou-se a trombose do enxerto venoso espontaneamente, impossibilitando a simulação de um aneurisma sacular humano. Assim, recorreu-se ao modelo proposto por Murayama, realizando-se a anastomose término-lateral de segmento de veia jugular interna na carótida do animal<sup>40, 41, 42</sup>.

## 4.3 MÉTODOS

### 4.3.1. Grupos Experimentais

Grupo I - grupo controle: aneurisma com preenchimento de mola GDC, à esquerda.

Grupo II - grupo em estudo: aneurisma com preenchimento de mola Matrix, à direita.

O experimento foi dividido em duas fases. Após medicação pré-anestésica os animais foram pesados em ambas as fases. Marcas de identificação nas orelhas foram feitas após a indução anestésica da primeira fase. Na segunda fase, realizada 14 dias após, se procedeu a retirada em bloco das peças (carótidas com os aneurismas) sendo, em seguida, sacrificados com dose letal de cloreto de potássio, de acordo com a rotina de eutanásia da UEA.

## **FASE I:**

### **4.3.2 Procedimento Anestésico**

A anestesia dos animais seguiu o protocolo de anestesia geral para suínos da UEA.

Inicialmente, procedia-se a sedação com midazolan, 0,5 mg/kg, aplicado por via intramuscular aproximadamente 30 minutos antes do início do procedimento

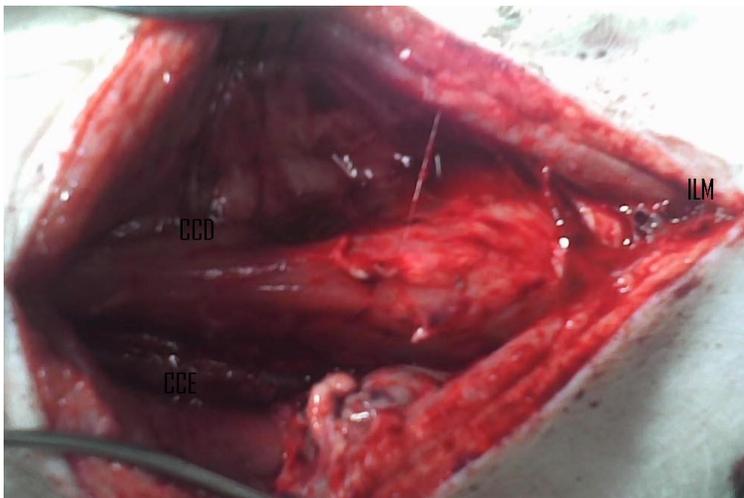
cirúrgico. Em seguida, obtinha-se o acesso venoso para infusão de líquidos e de drogas através de venóclise da veia central da orelha do suíno. Continuava-se então a indução anestésica com xilasina e ketamina, até a realização da entubação orotraqueal. A analgesia era mantida com dipirona e fentanil, e o animal respirava por meio de ventilação mecânica. A complementação anestésica era feita com halotano inalatório, 0,5 a 2% e a reposição líquida com soro glico-fisiológico (20 ml/kg/h). Um bolo de 3000 UI de heparina intravenosa era administrado no início do procedimento.

#### **4.3.3 Procedimento Cirúrgico**

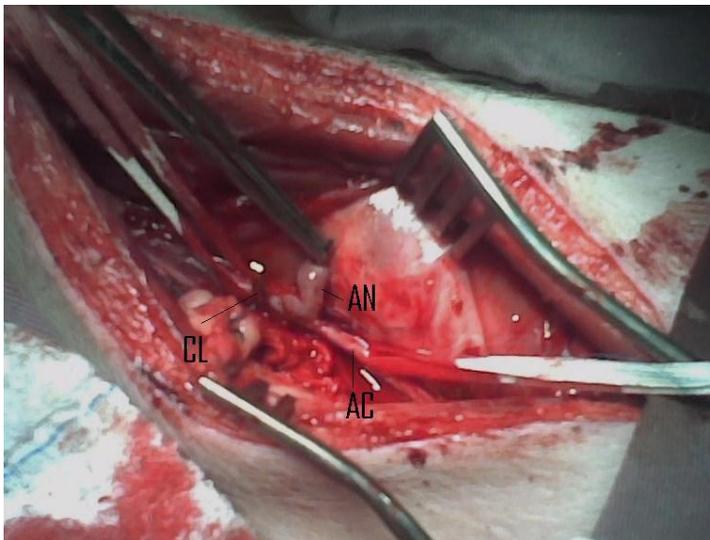
A técnica cirúrgica empregada para a abordagem da artéria carótida comum e da veia jugular interna em ambos os lados foi a abordagem mediana na região cervical verticalmente.

Na primeira fase, o animal era posicionado em decúbito dorsal e era administrada 1 g de cefazolina intravenosa. Em seguida, procedia-se a incisão mediana na região cervical verticalmente, estendendo-se 5 cm abaixo da mandíbula até o início do esterno. Após a dissecação dos planos musculares, abordava-se a artéria carótida comum e a veia jugular interna de ambos os lados (Figura 1). Uma das veias jugulares internas era retirada, numa extensão de aproximadamente 3 cm

servindo como enxerto para a formação do aneurisma: os cotos proximal e distal da veia eram ligados com fio seda 3-0. A seguir era confeccionada uma anastomose término-lateral do coto proximal da veia, que se estendia por 2 a 3 mm, na artéria carótida, com fio prolene 7-0. Após liberação das pinças vasculares a anastomose era examinada na procura de vazamentos ou imperfeições (Figura 2).



**Figura 1: Incisão cervical anterior mediana (ILM) demonstrando os planos das carótidas comuns direita e esquerda (CCD e CCE)**



**Figura 2: Realização da anastomose término-lateral da veia jugular na carótida (AN- aneurisma, CL- pinça de clampeamento, AC- carótida)**

#### 4.3.4 Procedimento Endovascular

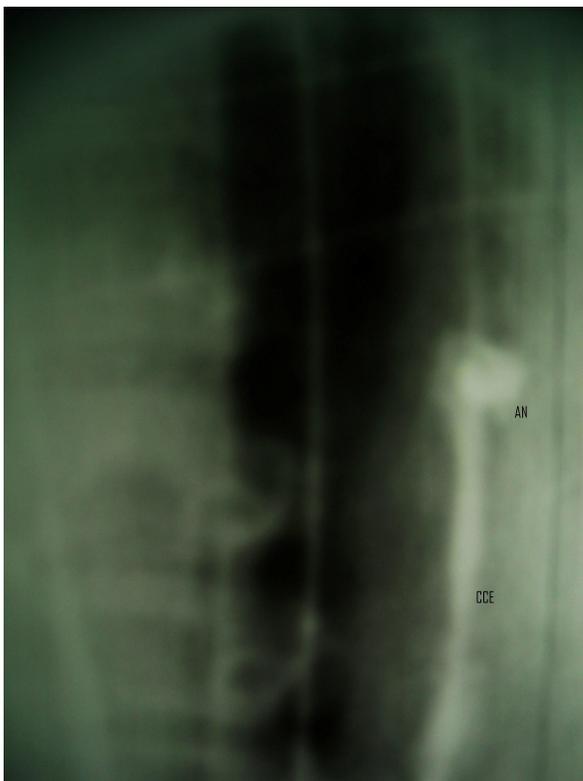
Após a confirmação angiográfica da perviedade do aneurisma, iniciava-se o preenchimento endovascular (embolização) com mola através de cateterismo femoral (Figuras 3-8). O acesso inicial se dava por meio de incisão inguinal direita e exposição dos vasos femorais. Após a passagem de introdutor 6F na artéria femoral, sua porção distal era ligada com seda 3-0. Um cateter guia Envoy 6F era introduzido sobre guia hidrofílica 0,035 até a carótida contendo a lesão (Cordis Enterprise). Coaxialmente avançava-se um microcateter Excelon 14 sobre microguia Silverspeed 0,014 (EV3 Corporation) no interior do aneurisma. Os grupos eram divididos em I (aneurismas da carótida esquerda, preenchidos com mola GDC) e II (da carótida direita, preenchidos com mola Matrix). O aparelho para a aquisição das imagens era um arco em “C” modelo *Fairfield*, da marca General Electric (GE), com registro por filmes em lâminas de raios-x. Ao fim do procedimento, retiravam-se os cateteres e o introdutor, ligando-se a porção proximal da artéria femoral e fechando-se a incisão.



**Figura 3: Introdutor na artéria femoral (INF) para acesso endovascular**



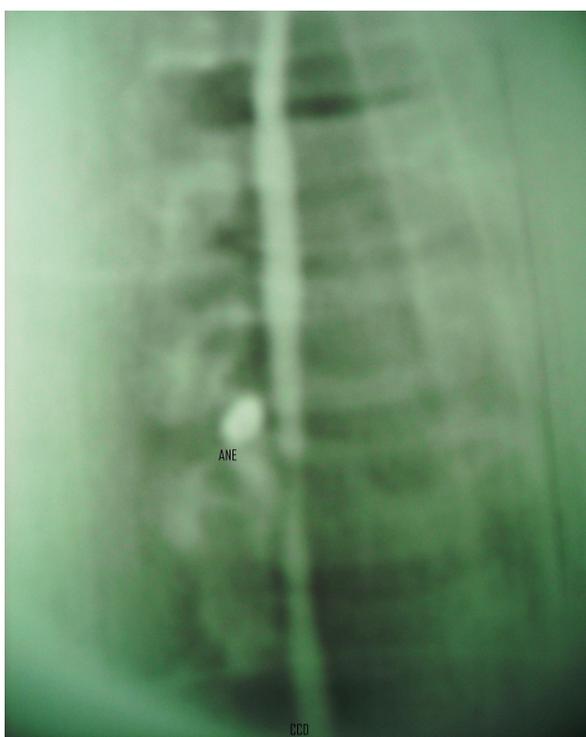
**Figura 4: Arteriografia após a realização cirúrgica do aneurisma (AN) demonstrando perviedade dos aneurismas de ambos os lados (CCD e CCE- carótidas direita e esquerda)**



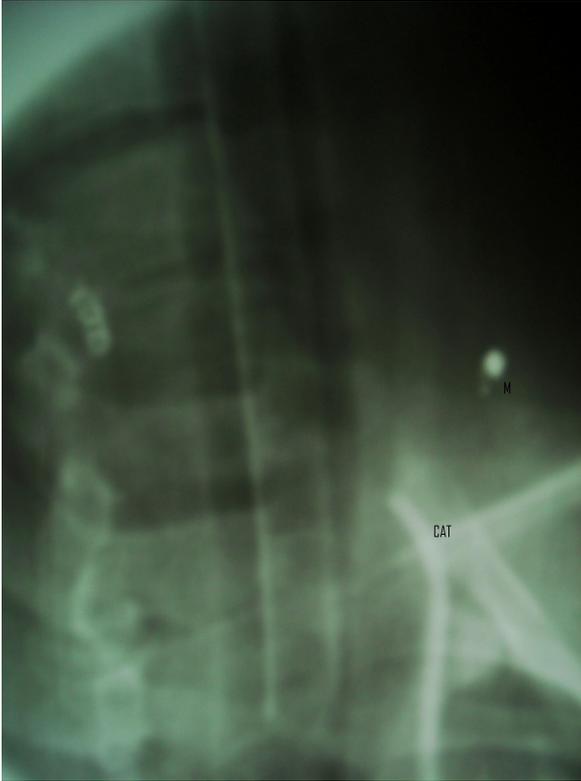
**Figura 5: Detalhe da carótida esquerda (CCE) com o aneurisma pérvio (AN)**



**Figura 6: Controle arteriográfico após a embolização do aneurisma (ANE) da carótida esquerda com mola GDC (CCE)**



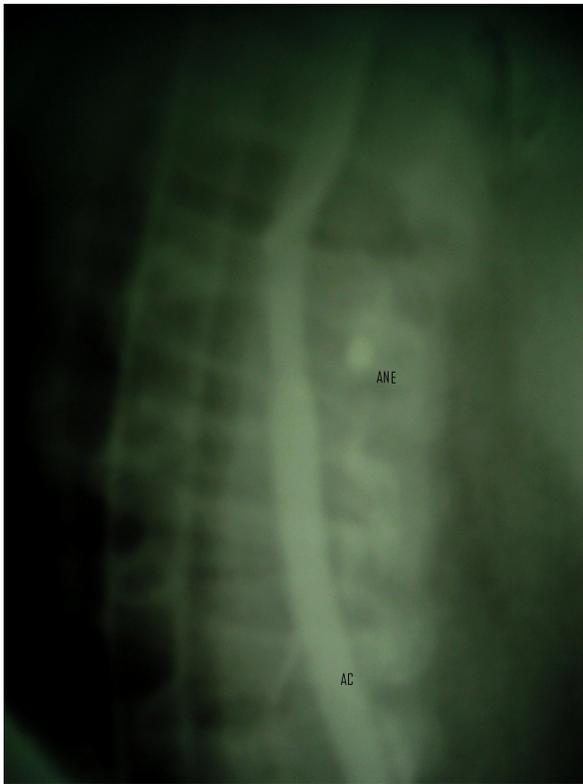
**Figura 7: Controle arteriográfico após a embolização do aneurisma (ANE) da carótida direita com mola Matrix (CCD)**



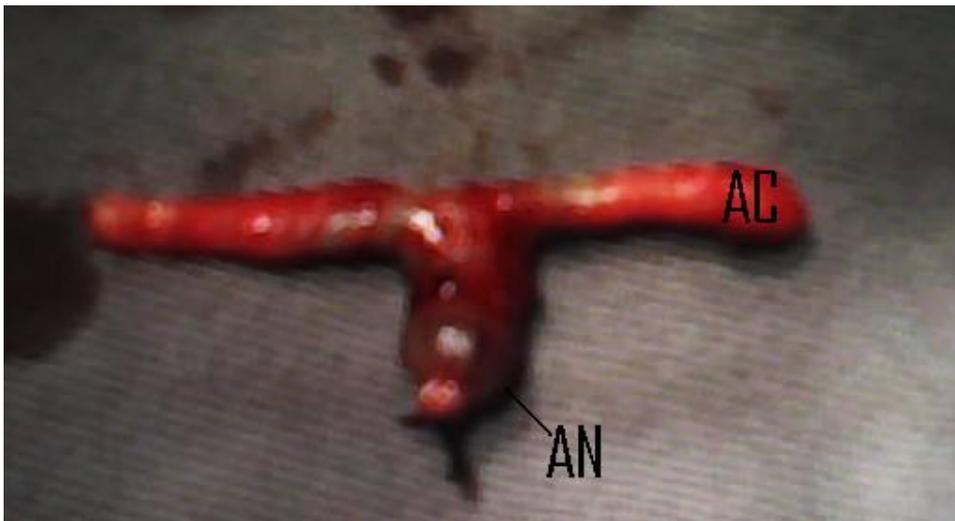
**Figura 8: Detalhes sem contraste do cateter (CAT) e da mola no aneurisma (M)**

## **FASE II:**

Na segunda fase do procedimento, decorridos 14 dias, os animais eram submetidos ao mesmo procedimento anestésico-cirúrgico inicial, e realizava-se angiografia de controle. A seguir, abordavam-se as carótidas, retirando-se as peças em bloco único e então, procedia-se à eutanásia. Ao final, realizava-se a refiação dos cotos arteriais e o fechamento dos tecidos por planos com fio polipropileno 2-0 e nylon monofilamentar 4-0. (Figuras 9-11).



**Figura 9: Controle angiográfico após 14 dias, demonstrando perviedade da carótida (AC) e exclusão do aneurisma embolizado (ANE)**



**Figura 10: Detalhe da peça retirada após 14 dias (AN- aneurisma, AC- artéria carótida)**



**Figura 11: Corte pós parafina antes da preparação das lâminas demonstrando o lúmen arterial (LA) e o aneurisma embolizado (AN)**

#### **4.3.5 Análise Histológica**

Após a retirada em bloco das carótidas com os aneurismas, as peças foram irrigadas com solução de cloreto de sódio a 0,9 % e fixadas em solução de formaldeído a 10 %.

A seguir, encaminhavam-se as peças para a imersão em parafina e laminação com micrótomo. Durante a laminação, eram retiradas as molas de dentro dos aneurismas por meio de micro-pinças, a fim de realizar a coloração. O corante para a execução das lâminas era a Hematoxilina-Eosina (HE).

A análise de cada peça era realizada pelo mesmo patologista. Inicialmente, verificava-se o tipo de trombo desenvolvido no aneurisma embolizado, dividindo-se

em recente e organizado. A seguir, classificava-o conforme escala desenvolvida neste estudo (Tabela 1).

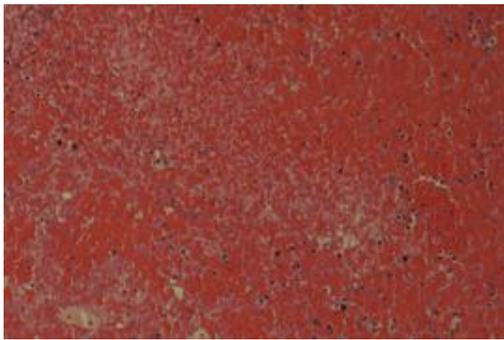
**Tabela 1 - Graduação do processo de organização do trombo**

Escore	Achados Histológicos
1	Trombo inicial ou recente (aglomerado de plaquetas, leucócitos e hemácias).
2	Trombo em organização (diferenciação leucocitária com produção de fibrina) ainda com áreas de trombo recente).
3	Trombo organizado com tecido fibrocelular frouxo (leucócitos diferenciados e fibrina).
4	Trombo organizado com tecido fibrocelular denso atenuado (miofibroblastos e colágeno).

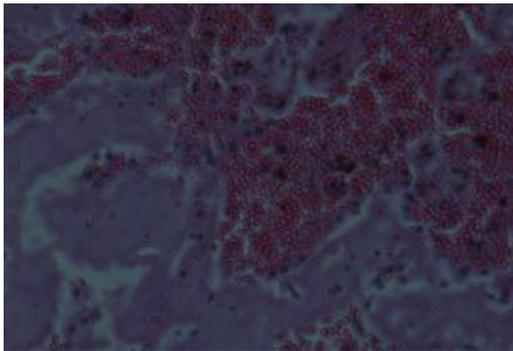
#### **4.3.6 Sistema de Graduação Histológica**

O sistema de graduação proposto foi desenvolvido para incorporar os principais aspectos da organização do trombo dentro do aneurisma embolizado. Ele se dividia em escores, levando em conta os seguintes achados: a presença de trombo inicial ou recente, isto é, agregado de plaquetas, hemácias e leucócitos, categorizado como Escore 1; a presença de leucócitos em diferenciação contendo

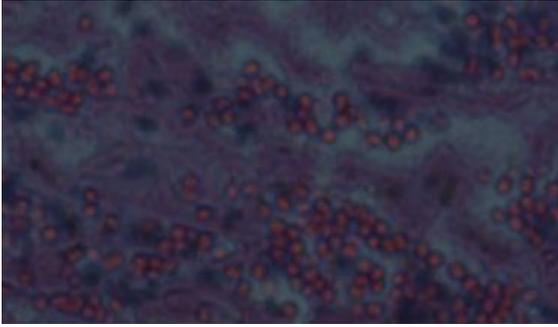
fibrina e absorção das hemácias e plaquetas, porém, intercalados com zonas contendo trombo recente, categorizado como Escore 2; a presença de leucócitos em diferenciação contendo fibrina, caracterizando um tecido fibrocelular frouxo, categorizado como Escore 3; e, a presença de tecido fibrocelular contendo fibras de colágeno, caracterizando um tecido fibrocelular denso incipiente, categorizado como Escore 4 (Figuras 12-15).



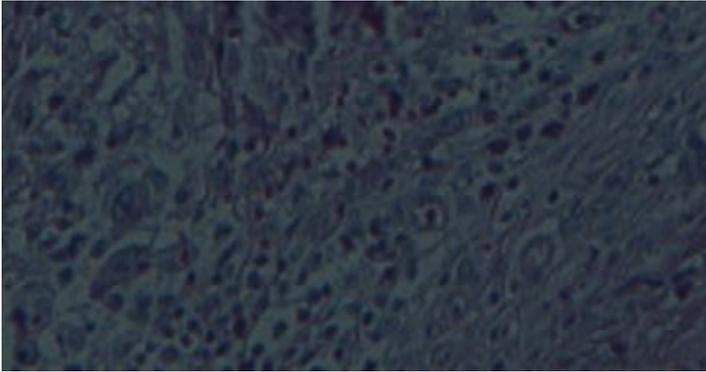
**Figura 12: Trombo recente (Escore 1) (aumento de 200x, HE)**



**Figura 13: Trombo em organização com tecido fibrocelular incipiente ainda contendo trombo recente (Escore 2) (aumento de 100x, HE)**



**Figura 14: Trombo organizado com tecido fibrocelular frouxo e restos de fibrina (Escore 3) (Aumento de 200x, HE)**



**Figura 15: Trombo organizado com tecido fibrocelular denso atenuado, contendo fibras de colágeno (Escore 4) (Aumento de 100x, HE)**

#### **4.3.7 Análise Estatística**

Os dados foram descritos através de cálculo de frequência e percentual em cada um dos grupos. Para compará-los quanto ao desfecho em questão, utilizou-se a análise por Escores, através do Teste de Wilcoxon. Os dados foram processados no software SPSS 12.0 e o nível mínimo de significância adotado foi de 5%.

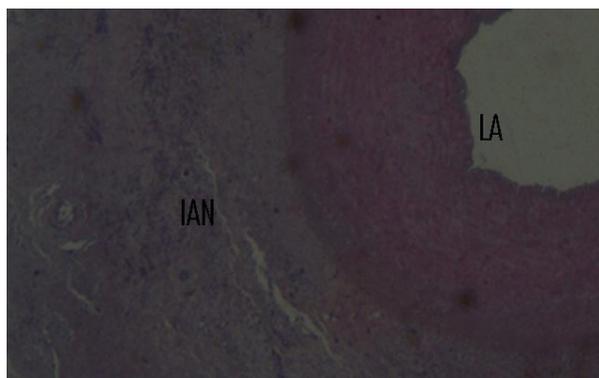
## 5 RESULTADOS

Um dos animais (macho) foi excluído, pois ocorreu a formação de abscesso subcutâneo invadindo os vasos. Assim, restaram para análise histológica das peças um total de 18 amostras viáveis (Tabela 2).

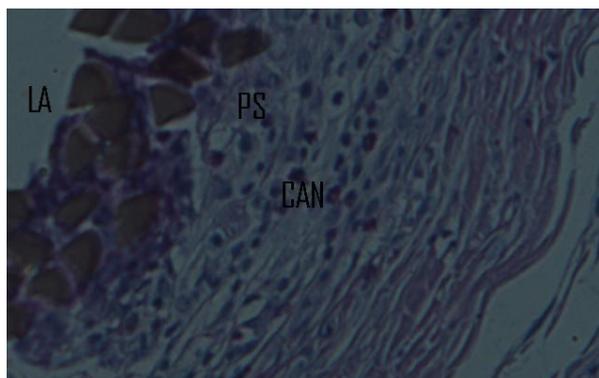
Para analisar o processo de organização do trombo, utilizou-se a graduação por escores, obtendo-se no grupo I, 8 (88,8%) aneurismas com trombo inicial (escore 1), isto é, apenas com um aglomerado plaquetário com células sangüíneas em seu interior e no grupo II, 1 (11,1%) com o mesmo achado. Apenas 1 (11,1%) do grupo I e 1 (11,1%) do grupo II apresentaram trombo organizado com coágulo residual dentro do aneurisma (escore 2). Exclusivamente no grupo II também houve 5 (55,5%) casos de trombo organizado com tecido fibrocelular frouxo e fibrina (escore 3) e 2 (22,2%) casos de trombo organizado com tecido celular atenuado denso e colágeno (escore 4) (Figuras 16-22). Conforme a incidência de cada escore, o Teste de Wilcoxon foi aplicado, revelando uma diferença significativa entre escores do grupo I e os do grupo II ( $p=0,008$ ).

**Tabela 2 - Achados histológicos intra-aneurismáticos após 14 dias de embolização**

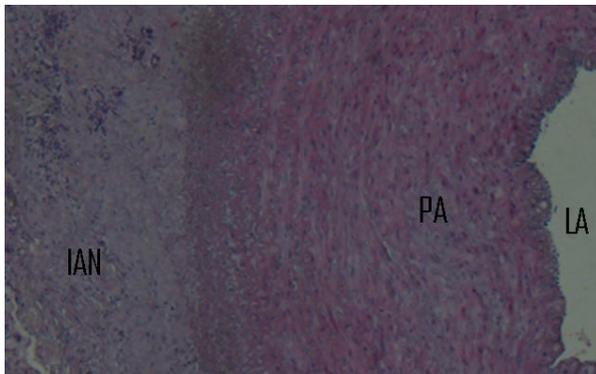
Animal	Escore	
	Grupo I	Grupo II
1	1	1
2	1	3
3	1	3
4	2	3
5	1	2
6	1	4
7	1	3
8	1	4
9	1	3



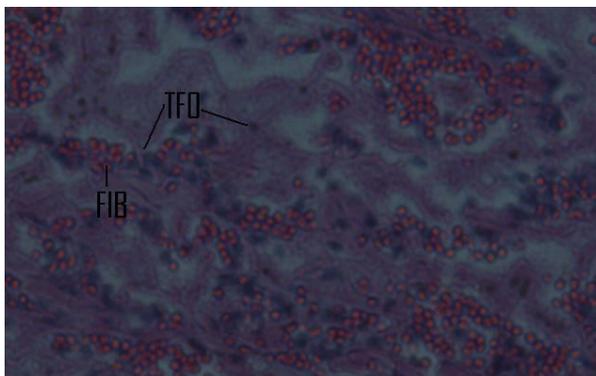
**Figura 16: Corte histológico na transição entre a artéria com lúmen pérvio (LA) e o interior do aneurisma (IAN) com trombo organizado (aumento de 20x, HE).**



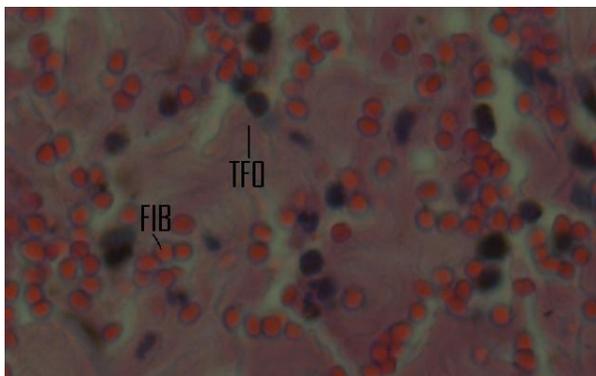
**Figura 17: Corte na região do ponto de anastomose entre a veia e a artéria (LA- lúmen arterial, PS- ponto de sutura, CAN- aneurisma com algumas fibras de colágeno (aumento de 40x, HE)**



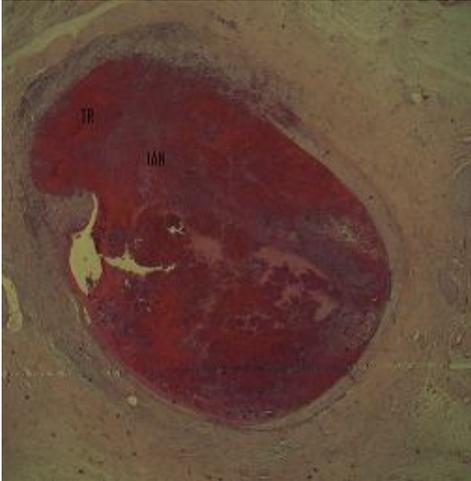
**Figura 18:** Transição entre artéria e aneurisma (LA- lúmen arterial, PA- parede da artéria, IAN- interior do aneurisma), com trombo organizado (aumento de 40x, HE)



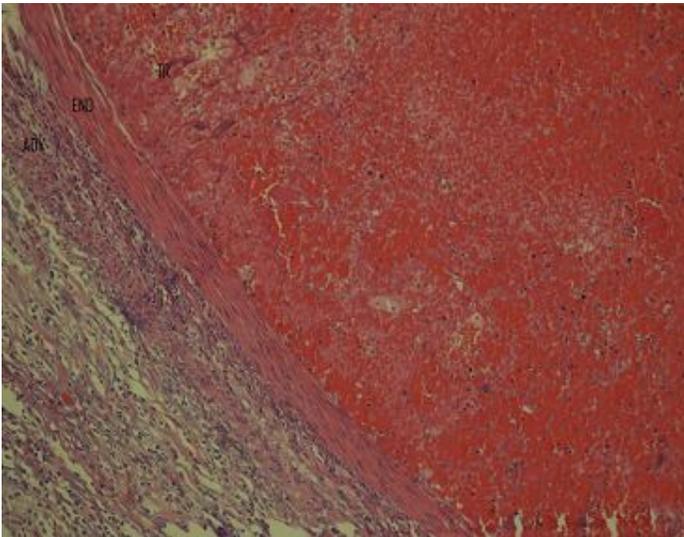
**Figura 19:** Histologia de trombo organizado com tecido frouxo (TFO) ainda com presença de fibrina (FIB) em grande quantidade (aumento de 100x, HE)



**Figura 20:** Detalhe do tecido fibrocelular frouxo (TFO) e fibrina intra-aneurismáticos (aumento de 400x, HE)



**Figura 21: Corte do interior de um aneurisma (IAN) com trombo recente (TR) (aumento de 20x, HE)**



**Figura 22: Detalhe da região do fundo de um aneurisma com trombo recente (TR) em seu interior (END- endotélio, ADV- adventícia) (aumento de 200x, HE)**

## 6 DISCUSSÃO

Nos estudos que simulam aneurismas cerebrais, a dificuldade inicial é dada pela variedade de dimensões destas lesões no homem <sup>43, 44</sup>. Assim, há uma tendência de estudos em animais de diversificar o tamanho dos aneurismas desenvolvidos experimentalmente. Estudos em primatas, coelhos e cães vêm sendo realizados, baseados nestas diretrizes. Assim, a importância do modelo experimental do presente estudo vai de encontro a esta nova tendência no aspecto da diversificação quanto ao tamanho do aneurisma desenvolvido <sup>45, 46, 47, 48</sup>.

Em relação à utilização de suínos, há trabalhos que estabelecem a similaridade com humanos do ponto de vista anatômico, sistema fibrinolítico e sistema de coagulação <sup>49, 50</sup>. Já sobre raça ou sexo, não parece haver superioridade ou diferenças importantes <sup>51, 52</sup>. Dessa forma, adotamos o suíno como animal para o modelo experimental proposto.

Muitos aneurismas cerebrais humanos que evoluem com sangramento apresentam menos do que 7 mm de diâmetro. Entretanto, nos estudos experimentais em suínos em que se desenvolve cirurgicamente um aneurisma sacular simulando os do cérebro humano, o tamanho da lesão é em torno de 1cm. Um dos objetivos deste estudo foi justamente verificar se era factível a criação de um aneurisma sacular pequeno.

No estudo piloto que realizamos com 2 suínos, o desenvolvimento do modelo experimental de aneurisma cerebral consistia na arteriotomia carotídea e anastomose látero-lateral com a veia jugular interna. A seguir, a veia jugular era ligada proximal e distalmente e as pinças vasculares eram liberadas. Desta forma se

esperava a formação de um aneurisma sacular da veia jugular excluída. Em ambos os animais, porém, verificou-se a trombose do enxerto venoso, impossibilitando a simulação de um aneurisma. A partir deste insucesso inicial foi adotado um segundo modelo para posterior preenchimento com molas baseado em modelo experimental prévio utilizando-se anastomose término-lateral da veia na artéria (Murayama) <sup>40, 41, 42</sup>. Algumas diferenças, entretanto, foram observadas neste estudo em relação aos citados anteriormente: a raça de suínos utilizada foi a Large-White, com peso médio de 18 kg, enquanto que nos estudos iniciais, era a Yorkshire, com peso médio de 35kg. Esta característica de tamanho influenciou diretamente na formação dos aneurismas. Naqueles estudos, a média de tamanho da arteriotomia para anastomose com a veia jugular era de 7mm, resultando num aneurisma de diâmetro médio de 9mm, enquanto que a deste estudo foi de 2mm com a criação de um aneurisma de 3mm de diâmetro médio. A criação de aneurismas pequenos que se mantivessem pérvios parece estabelecer uma abordagem distinta em relação aos estudos anteriores <sup>53, 54, 55, 56, 57</sup>.

Quanto ao uso de mola bioativa ou modificada em relação às de platina, alguns estudos vêm sendo realizados no intuito de analisar a precocidade e intensidade da formação de tecido cicatricial intra-aneurismático <sup>58, 59, 60</sup>. Desde o estudo ISAT, em que se estabeleceu o papel do tratamento endovascular nos aneurismas rotos, também surgiu a questão quanto à incidência significativa de recorrência (recanalização) neste mesmo grupo, apesar de o risco de novo sangramento ter sido extremamente baixo e não significativo <sup>9</sup>. Para que se entenda o processo de recanalização de um aneurisma embolizado, deve-se observar as fases de trombose da lesão até que se forme tecido cicatricial em seu interior, excluindo-o da circulação normal. Assim, o processo chamado de organização do

trombo dentro da lesão inicia com a formação de trombo recente, isto é, estagnação e ruptura de células sanguíneas. A seguir, leucócitos presos ao trombo começam o processo de fagocitose, englobando plaquetas, hemácias e fibrina. A infiltração leucocitária no trombo, passa a seguir, para uma fase de proliferação de miofibroblastos ou células musculares lisas. Estas por sua vez, passam a produzir colágeno, formando o então chamado tecido fibrocelular. À medida que o colágeno é produzido, mais denso fica o interior do aneurisma, havendo, portanto, menor chance de recanalização. No colo do aneurisma, há também uma migração de células endoteliais a partir da parede do vaso portador, formando uma camada que o exclui da lesão <sup>61</sup>.

Na análise de estudos *in vivo* utilizando suínos e cães, aneurismas tratados com GDC, 14 dias após a embolização, apresentaram trombos não organizados intra-aneurismáticos. Em comparação, os aneurismas embolizados com Matrix, no mesmo período, apresentaram organização completa do trombo, assim como a presença de tecido conjuntivo organizado na região do colo do aneurisma <sup>62, 63, 64, 65</sup>.

Outros estudos em suínos e primatas compararam os dois tipos de molas apresentando resultados mais tardios (após 1 e 3 meses). Os aneurismas tratados com molas GDC demonstraram moderada quantidade de tecido conjuntivo e fibroblastos. Já os aneurismas embolizados com Matrix demonstraram leve reação inflamatória e células secundárias à reação celular por corpo estranho, além de grande quantidade de tecido fibrocelular denso <sup>66, 58, 67, 68</sup>.

Vários estudos experimentais *in vitro* já vinham sendo realizados no sentido de avaliar a organização do trombo dentro do aneurisma através da mola modificada. A idéia inicial era a de que as molas bioativas pudessem acelerar os

mecanismos biológicos que induzem a maturação do trombo e fibrose. Os polímeros são os materiais bioativos desenvolvidos para esse fim. Foi mostrado também que aneurismas tratados poderiam ter sido controlados pela composição da relação de polímeros. A partir disso, desenvolveram-se as primeiras molas de platina revestidas com Ácido Poliglicólico (PGA) e Ácido Polilático (PLA). PGLA 50/50 (50% PGA/50% PLA) é um copolímero de absorção rápida e demonstrou forte reação tecidual. PGLA 85/15 demonstrou uma reação mais fraca <sup>40, 69, 70, 54, 71</sup>.

Havia uma relação linear entre tempo de absorção do polímero e expressão do colágeno no aneurisma. Baseado nos achados, desenvolveram-se modelos de tecido cicatricial maduro que retratam o processo de cura da lesão <sup>72, 55, 56, 73, 74, 75 76</sup>.

Nos estudos experimentais preliminares em suínos, materiais de polímeros bioabsorvíveis (BPM) acrescidos a GDC (BPM/GDC) aceleraram a fibrose do aneurisma e a formação da camada íntima sem causar estenose de artéria ou trombose <sup>77, 78, 57, 59</sup>.

Um outro estudo em animal mostrou que é possível a confirmação da hipótese de aceleração da cura de aneurisma com o uso de polímeros bioabsorvíveis (BPM). Entretanto, vários desafios, tais como a regulação do processo de cura de acordo com apropriada seleção de BPM, com ou sem citocinas e fatores de crescimento, e a avaliação em longo prazo dos efeitos anatômicos e biológicos, locais ou sistêmicos, precisavam ser avaliados *in vitro* e no laboratório animal <sup>58, 79, 60</sup>.

Em outro estudo experimental *in vitro* foi analisado o uso de GDC associado à implantação de íon, em combinação com proteína de cobertura, mostrando que

poderia melhorar a força de adesão celular de superfície quando exposta ao fluxo e a ação de enzimas proteolíticas. A força de adesão celular do endotélio parecia ser importante para alcançar a endotelização mais precoce do colo do aneurisma. Tal força de interação celular também poderia minimizar complicações tromboembólicas cerebrais. Estes resultados *in vitro* sugeriam que GDC com íons implantados e com proteínas de coesão melhorariam os resultados anatômicos dos aneurismas cerebrais em longo prazo, de maneira geral, e de aneurisma grandes, de colo largo, em particular <sup>66</sup>. Na avaliação da mola GDC com íon implantado (Is) (GDC-Is) coberto com proteína, verificaram-se características físicas semelhantes com a GDC padrão. Porém, os aneurismas experimentais tratados com GDC-Is mostraram uma resposta biológica mais rápida no corpo e fundo do aneurisma, assim como uma rápida proliferação neoendotelial e migração para o colo do mesmo. Molas de platina modificadas já haviam sido avaliadas nos resultados preliminares do estudo, indicando que molas de íon combinado com proteína, melhorariam a adesão e proliferação celular. Isso embasa a utilização futura da tecnologia, podendo propiciar resolução mais precoce de aneurismas cerebrais de colo largo. Esta resposta biológica acelerada poderia diminuir as chances de recanalização em humanos tratados com GDC-Is, sem a necessidade de preenchimento extenso no fundo do aneurisma <sup>42, 66</sup>.

Analisando evolutivamente as séries clínicas, observa-se que o enfoque inicial era na segurança do procedimento com as molas de platina isoladamente (Viñuela F. et al, 1997) <sup>80, 81, 82</sup>. Também (Uda K. et al., 1999 e 2001) tentava-se estabelecer qual o melhor paciente para o tratamento com molas e quais as localizações mais seguras em relação ao vaso portador <sup>83, 84, 85, 86</sup>. Somado a isso, demonstrava-se um temor em relação à trombose do vaso portador ou perfuração aneurismática, já que

o desenvolvimento tecnológico das molas de platina visava uma melhor acomodação deste material no interior da lesão <sup>87, 88, 89, 90, 91</sup>.

A seguir, a preocupação passou a ser com a eficácia do tratamento endovascular, diretamente relacionado ao índice de recanalização com as molas iniciais de platina <sup>92</sup>. Hayakawa M. et al (2000), através de seus resultados, concluíram que o tratamento com GDC era efetivo e os resultados permanentes na maioria dos aneurismas pequenos com colo curto. Porém, chamavam atenção quanto às limitações técnicas importantes na tecnologia das molas de platina para prevenir recanalização em aneurismas de colo largo, aneurismas grandes ou gigantes <sup>37, 93, 86</sup>.

A partir da necessidade de comprovação clínica da eficácia das molas revestidas com copolímero em aneurismas humanos, principalmente no que se refere à recidiva, estudos envolvendo um grande número de pacientes passaram a ser organizados. Jeffrey M. Katz et al. (2005), em uma série de 134 pacientes com aneurisma roto, utilizaram a mola Matrix em 53 % dos aneurismas saculares. Após um tempo médio de seguimento de 12 meses, os autores concluíram que a maioria dos aneurismas cerebrais pode ser tratada pela tecnologia endovascular de maneira segura e eficaz com estas molas bioativas. A morbidade e mortalidade permaneceram baixas e as taxas alcançadas na oclusão completa dos aneurismas e na recanalização dos mesmos foram satisfatórias, até mesmo quando lesões muito complexas eram tratadas <sup>94, 95</sup>.

Seguindo a linha que foca a verificação da eficácia da embolização na oclusão completa e definitiva da lesão, outras correntes estimulam o uso combinado de mola de platina associado às com revestimento de polímero. Katz J. M. et al.

(2005) investigaram o uso da combinação de GDC e Matrix para tratar o mesmo aneurisma, com resultados preliminares satisfatórios. Enfatizaram que tal estratégia combinaria as vantagens de ambos os sistemas com um baixo custo, comparado ao uso de molas Matrix isoladamente <sup>96</sup>.

Taschner C. A. et al. (2005), avaliaram a segurança clínica e a estabilidade após oclusão de aneurismas cerebrais, usando a mola Matrix isoladamente ou em associação com GDC, com seguimento de 6 meses, pós-procedimento. Os melhores resultados foram obtidos na associação entre GDC e Matrix <sup>39</sup>.

Murayama Y. et al. (2006), no intuito de avaliar especificamente as molas Matrix, comparando novamente a GDC, analisaram 112 pacientes com aneurismas cerebrais. Destes, 49 foram associados à hemorragia subaracnóide, 65 aneurismas eram não-rotos, 57 eram pequenos com colo estreito e 29 eram pequenos com colo largo. Todos os pacientes foram acompanhados até o resultado da angiografia e obtenção dos resultados clínicos. Complicações técnicas aconteceram em seis pacientes: duas complicações tromboembólicas e quatro perfurações de aneurisma. Destes, os estados de dois deterioraram devido à perfuração do aneurisma e outros dois pela formação de tromboembolismo cerebral. Concluiu-se que as molas Matrix apresentaram complicações técnicas semelhantes quando comparadas à GDC, mas houve melhora moderada na taxa de recanalização. Entretanto, o seguimento angiográfico a longo prazo não foi realizado neste estudo, sendo fundamental para documentar a eficácia <sup>38</sup>.

A utilização de molas modificadas, isoladamente ou em combinação com as de platina reforça a idéia de que a evolução da tecnologia destes materiais se constitui em técnica bastante segura no tratamento dos aneurismas não rotos. A

topografia do aneurisma e a condição clínica do paciente não parecem influenciar nos resultados anatômicos e histológicos finais. Também parece haver um impacto econômico positivo pela diminuição do tempo de internação e pelo menor número de novas intervenções<sup>94, 83</sup>.

O fator motivador deste estudo acompanha a tendência de outros estudos experimentais, que é a análise de molas com material bioativo, esperando-se uma solução para o problema da recidiva<sup>98, 99</sup>. Alguns investigadores têm proposto diversas classificações quanto ao grau de trombose no interior do aneurisma e quanto à espessura do tecido no colo do mesmo, a fim de verificar o fenômeno da recanalização<sup>40, 41, 61, 100</sup>. Estes trabalhos estão restritos a determinados centros, e não se tem dado a devida atenção quanto ao desenvolvimento de modelos alternativos ou de novos enfoques no que se refere ao fenômeno da recanalização<sup>9, 20, 40, 52</sup>.

O objetivo dos estudos experimentais é o teste de novos materiais a fim de que se evite a recanalização, mas as estratégias de quantificação histológicas não têm sido uniformizadas nos diversos modelos animais. Neste estudo, foi descrita um método de graduação do processo de trombose. Após um período de 14 dias, a média dos escores do grupo tratado com mola Matrix foi 3, enquanto a dos escores do grupo tratado com GDC foi 1. A escala criada neste estudo é capaz de detectar as diferentes fases do processo de organização do trombo ao longo de 14 dias. Além disso, a variação dinâmica da escala parece apropriada nos testes de materiais de embolização, pois permite a comparação com uma medida padrão entre grupos diferentes. Os escores iniciais (1 e 2) demonstram um trombo não organizado ou pobremente organizado, oferecendo pouca segurança quanto à lise

parcial do trombo. Por outro lado, os escores finais <sup>3, 4</sup> demonstram a presença de um tecido fibrocelular organizado, seja frouxo ou denso atenuado, significando uma integridade estrutural intensa. Portanto, este recurso reflete indiretamente o fenômeno da recidiva ou recanalização.

Uma vez que o propósito deste experimento era analisar, num curto período de tempo, o processo de organização do trombo comparando-se as molas tradicionais de platina com as novas molas bioativas revestidas com copolímero, fases mais avançadas como as de formação de tecido rico em colágeno não foram observadas. Em relação à formação de endotélio na região do colo do aneurisma, neste tamanho de lesão, verificou-se intensa reação inflamatória, contendo diversos leucócitos (polimorfonucleares e linfócitos) e células gigantes com corpo estranho, decorrente do fio de sutura na zona da anastomose. Isso impediu a análise apurada do endotélio neoformado. Na maioria das amostras foi difícil calcular precisamente o grau de cobertura do endotélio nos aneurismas deste modelo experimental, uma vez que o diâmetro do colo era pequeno, Tal medida depende do exato local de secção histológica realizada, envolvendo o colo do aneurisma e o lúmen arterial. Nos aneurismas pequenos como o deste estudo, é difícil, se não impossível, a determinação exata da espessura do endotélio neoformado. Esta foi a razão fundamental para não incluirmos esta variável no escore de avaliação.

Outros autores vêm utilizando tanto seguimentos angiográficos como histológicos na análise de cicatrização dos aneurismas experimentais embolizados. Raymond et al. utilizaram a evidência angiográfica da recanalização em um modelo de aneurisma em cães <sup>101</sup>. No presente modelo experimental, a angiografia não

demonstrou nenhuma evidência de recanalização. Desse modo, o critério angiográfico não pôde ser aplicado neste modelo..

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, observou-se uma formação de trombo mais organizado nos aneurismas tratados com a mola Matrix em relação aos tratados com a mola GDC no período estabelecido de 14 dias. Podemos inferir que num período mais longo, provavelmente, o tecido cicatricial dentro do aneurisma com Matrix será mais denso e as chances de recanalização menores que nos com GDC. Além disso, espera-se também uma formação de hiperplasia miointimal mais exuberante no colo destes aneurismas e formação mais precoce de tecido fibrocelular. A partir desta fase ocorre uma grande produção de colágeno e a lesão tende a se retrair, diminuindo seu volume global. Em relação à rapidez com que se instala o processo cicatricial podemos esperar um menor efeito de massa exercido sobre o cérebro quando o aneurisma diminui de volume após a embolização. Isto é mais evidente em aneurismas gigantes (iguais ou maiores que 2,5 cm de diâmetro) o que pode representar uma vantagem das molas Matrix em relação as GDC. Estes resultados vão de encontro aos estudos iniciais em suínos sobre a mola revestida com copolímeros (Murayama, 2003), os quais concluíram que até o décimo quarto dia, aneurismas tratados com Matrix exibiram uma área mais extensa de trombo organizado quando comparados com aneurismas embolizados com GDC. No modelo de Murayama, os aneurismas tratados com Matrix mostraram uma média de 87% de suas áreas com trombo organizado, ao passo que os aneurismas tratados com GDC revelaram uma média de 75% ( $P= 0.008$ ,  $n=11$ ). Em espécimes obtidas após 3 a 6 meses, os aneurismas tratados com Matrix e GDC estavam completamente ocluídos com tecido conectivo fibroso. Até a segunda semana, molas GDC e Matrix foram observadas para evidenciar o envolvimento por

leucócitos ou tecido de granulação bem organizado, dependendo de sua localização no interior do aneurisma. O infiltrado leucocitário ao redor da matriz extracelular foi substancialmente maior com as molas Matrix<sup>40</sup>.

Em resumo, o presente estudo demonstrou que o modelo experimental utilizado foi adequado, permitindo que se obtivesse um aneurisma sacular de pequenas dimensões que se mantinha pérvio, similar aos do cérebro humano. Além disso, o modelo possibilitou o tratamento endovascular destas lesões com mínimas dificuldades técnicas. O escore desenvolvido no presente estudo, para avaliar o grau de organização do trombo, deve contribuir para que futuros experimentos possam ser descritos com mais objetividade. A uniformização dos dados para a descrição dos resultados certamente é um aspecto desejável nestes estudos experimentais.

Somente a correlação deste e dos demais estudos experimentais com os achados clínicos é que irá definir o real papel das molas revestidas no tratamento endovascular dos aneurismas cerebrais.

## 7 CONCLUSÃO

O estudo experimental realizado atingiu os objetivos propostos. O modelo experimental em suínos utilizado demonstrou semelhança anatômica aos aneurismas pequenos da circulação cerebral humana, sendo passíveis de tratamento por via endovascular com sucesso.

Quanto ao processo de formação de trombo organizado após 14 dias, pôde-se observar tal fenômeno com a mola Matrix, diferentemente da mola GDC, que apresentou trombo recente no mesmo período. Por meio de uma escala de escores progressivos refletindo o processo de organização do trombo, puderam-se detectar diferenças estatísticas entre os grupos, permitindo sua utilização uniformemente em outros estudos.

## REFERÊNCIAS

- 1 Sahs AL, Nibbelink DW, Torner JC. (Eds.): Aneurysmal Subarachnoid hemorrhage: Report of the Cooperative Study. Urban and Schwarzenberg: Baltimore: Munich; 1981. p. 370.
- 2 Broderick JP, Brott TG, Tomsick T, et al.: Intracerebral Hemorrhage more than twice as common as Subarachnoid Hemorrhage. J Neurosurg; 1993; 78:188-91
- 3 Biller J, Toffol GJ, Kassel NF, et al.: Spontaneous Subarachnoid Hemorrhage in Young Adults. Neurosurgery; 1987; 21: 664-7.
- 4 Pahl, Félix Hendrik. Fatores prognósticos na hemorragia subaracnoidea idiopática ou pela ruptura de aneurisma. [Tese doutorado]. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: Departamento de Neurologia, 1995.
- 5 Haley EC, Kassell NF, Apperson-Hansen C, Moles MH, Alves WM. A randomized double-blind, placebo-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in North America. J Neurosurg; 1997; 86: 467-74.
- 6 Linfante I and Ajay KW: Brain Aneurysms and Arteriovenous Malformations. Advancements and Emerging Treatments in Endovascular Embolization. Stroke; Feb 1, 2008; 39(2): 268-72.
- 7 Kassell NF, Haley EC, Apperson-Hansen C., et al. Randomized, double-blind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in Europe, Australia, and New Zealand. J Neurosurg; 1996; 84: 221-228.
- 8 Barker PG, Amin-Harriani S, Butler WE, et al.: In Hospital Mortality and Morbidity after Surgical Treatment of Unruptured Intracranial Aneurysms in the United States 1996-2000. The Effect of Hospital and Surgeon Volume. Neurosurgery; 2003; 52: 995-1007; discussion 1007-9.
- 9 Molyneux A, Kerr R, Stratton I, Sandercock P, Clarke M, Shrimpton J, Holman R. International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised trial. Lancet; 2002; 360: 1267-74.
- 10 International Study of Unruptured Intracranial Aneurysm (ISUIA) Investigators: Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. Lancet; 2003; 362:103-110.

- 11 Kassel NF, Torner JC, Jane JÁ, Haley EC, Adams HP, et al.: The international cooperative study on timing of aneurysms surgery. *J.Neurosurg*; 1990; 18-47.
- 12 Suzuli J, Kwak R, Katakura R: Angiographical consideration of residual aneurysms following direct operations on intracranial aneurysms, in Suzuki J. (Ed):*Cerebral aneurysms: experience with 1000 directly operated cases*. Tokyo: Neuron Publishing; 1979. p. 619-630.
- 13 Ricling B, Bazinzski G, Gross C, Gruber A, Liller G: Early clinical outcome of patients with ruptured cerebral aneurysms treated by endovascular (GDC) or microsurgical techniques: a single center experience. *Interventional Neuroradiology*; 1995; 1 : 19-27.
- 14 Mizoi K, Yoshimoto T, Takahashi A: A pitfall in the surgery of a recurrent aneurysm after coil embolization and its histological observation: technical case report. *Neurosurgery*; 1996; 39:165-169.
- 15 Linskey MF, Sekhar LN, Hirsch WL jr, et al.: Aneurysms of the intracavernous carotid artery: natural history and indications for treatment. *Neurosurgery*; 1990; 26:933-37.
- 16 Lin T, Fos AJ, Drake CG: Regrowth of aneurysm sacs from residual neck following aneurysm clipping. *J. Neurosurg*; 1989; 70: 556-560.
- 17 Gruber DP, Zimmerman GA, Tomsick TA: A comparison between endovascular and surgical management of basilar artery apex aneurysms. *J Neurosurg*; 1999; 90:868-874.
- 18 Vinuela, Fernando et al. *Interventional Neuroradiology: Endovascular Therapy of the Central Nervous System*. Raven Press; New York; 1992.
- 19 Moret J, Pierot L, Boulin A, Castaings L, Rey A: "Remodelling" of the arterial wal in the endovascular treatment of broad-neck aneurysms. *Neurosurg.in Press*; 1996.
- 20 Casasco A, George B. Endovascular treatment of saccular intracranial aneurysm. *J Neurosurg Sci* 1998; 42 (Suppl 1):125-126.
- 21 Debrun GM, Aletich VA, Kehrli P: Selection of cerebral aneurysms for treatment using Guglielmi detachable coils: the preliminary University of Illinois at Chicago experience. *Neurosurgery*; 1998; 43:1281-1297.
- 22 Bavinzski G, Killer M, Gruber A: Treatment of basilar artery bifurcation aneurysms by using Guglielmi detachable coils: a 6-year experience. *J Neurosurg*; 1999; 90:843-852.
- 23 Guglielmi G, Vinuela F, Duckwiler G, et. Al. Endovascular treatment of posterior circulation aneurysmas by electrothrombosis using electrically detachable coils. *J. Neurosurg*; 1992; 77:515-24.

- 24 Pedro Lylyk et. Al. Combined endovascular treatment of dissecting vertebral artery aneurysms by using stents and coils. *J. Neurosurg*; 2001; 94: 427-432.
- 25 Pierot L, Boulin A . Castaing L, Rey A, Moret J. Selective occlusion of the basilar artery aneurysms using controlled detachable coils:report of 35 cases. *Neurosurgery*; 1996; 38: 948-954.
- 26 Zubillaga FA, Guglielmi G, Viñuela F: Endovascular occlusion of intracranial aneurysms with electrically detachable coils: correlation of aneurysm neck size and treatment results. *AJNR*; 1994; 15:815-820.
- 27 Guglielmi G, Viñuela F, Dion J: Electrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach. Part 2: Preliminary clinical experience. *J Neurosurg*; 1991; 75:8-14.
- 28 Horowitz MB, Purdy PD, Burns D: Scanning electron microscopic findings in a basilar tip aneurysm embolized with Guglielmi detachable coils. *AJNR*; 1997; 18:688-690.
- 29 Byrne JV, Sohn MJ, Molyneux AJ, Chir B. Five-year experience in using coil embolization for ruptured intracranial aneurysms: outcomes and incidence of late rebleeding. *J. Neurosurg*; 1999; 90: 656-663.
- 30 Hayakawa M, Murayama Y, Duckwiler G: Natural history of the neck remnant of a cerebral aneurysm treated with the Guglielmi detachable coil system. *J Neurosurg*; 2000; 93:561-568.
- 31 Bavinzski G, Talazoglu V, Killer M: Gross and microscopic histopathological findings in aneurysms of the human brain treated with Guglielmi detachable coils. *J Neurosurg*; 1999; 91:284-293.
- 32 Malisch TW, Guglielmi G, Viñuela F: Unruptured aneurysms presenting with mass effect symptoms: response to endosaccular treatment with Guglielmi detachable coils. Part I. Symptoms of cranial nerve dysfunction. *J Neurosurg*; 1998; 89:956-961.
- 33 Stiver SI, Porter PJ, Willinsky RA: Acute human histopathology of an intracranial aneurysm treated using Guglielmi detachable coils: case report and review of the literature. *Neurosurgery*; 1998; 43:1203-1208.
- 34 Ahuja A, Graves VB, Barnwell SL, et al. Endovascular treatment of basilar tip aneurysms with Guglielmi detachable coils. *AJNR*; 2000 (in press).
- 35 Guglielmi G, Vinuela F, Dion J, Duckwiler G: Eletrothrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach. Part 2: Preliminary clinical experience (see comments). *J. Neurosurg*; 1991; 75:8-14.
- 36 Debrun GM, Aletich VA, Kehrli P, Misra M, Ausman JI, Charbel F. Selection of cerebral aneurysms for treatment using Guglielmi detachable coils: the preliminary University of Illinois at Chicago experience. *Neurosurgery*; 1998; 43: 1281-1297.

- 37 Zubillaga FA, Guglielmi G, Vinuela F, Duckwiler GR. Endovascular occlusion of intracranial aneurysms with electrically detachable coils: correlation of aneurysm neck size and treatment results. *AJNR*; 1994; 15: 815-820.
- 38 Murayama Y, Viñuela F, Ishii A, Nien Y, et al. Initial clinical experience with Matrix detachable coils for the treatment of intracranial aneurysms. *J. Neurosurg*; 2006; 105:192-199.
- 39 Taschner CA, Leclerc X, Rachdi H, et al.: Matrix Detachable Coils for the Endovascular Treatment of Intracranial Aneurysms- Analysis of Early Angiographic and Clinical Outcomes. *Stroke*; 2005; 36:2176-2180.
- 40 Murayama Y, Tateshima Y, Gonzalez NR, Vinuela F: Matrix and Bioabsorbable Polymeric Coils Accelerate Healing of Intracranial Aneurysms. *Stroke*; 2003 34: 2031-2037.
- 41 Murayama Y, Viñuela F, Suzuki Y, Do HM, Massoud TF, Guglielmi G, Ji C, Iwaki M, Kusakabe M, Kamio M, Abe T: Ion implantation and protein coating of detachable coils for endovascular treatment of cerebral aneurysms: concepts and preliminary results in swine models. *Neurosurgery*; Jun 1997; 40(6):1233-43; discussion 1243-4.
- 42 Murayama Y, Viñuela F, Suzuki Y, et al.: Development of the Biologically Active Guglielmi Detachable Coil for the Treatment of Cerebral Aneurysms. Part II: An Experimental Study in a Swine Aneurysm Model. *AJNR*; Nov.-Dec. 1999; 20:1992-99.
- 43 Mawad ME, Mawad JK, Cartwright J Jr, Gokaslan Z: Long-term histopathologic changes in canine aneurysms embolized with Guglielmi detachable coils. *AJNR*; 1995; 16: 7-13.
- 44 Kallmes DF, Fujiwara NH, Yuen D, et al.: A collagen-based coil for embolization of saccular aneurysms in a New Zealand White Rabbit model. *AJNR*; 2003; 24: 591-96.
- 45 Altes TA, Cloft HJ, Short JG, et al.: Creation of saccular aneurysms in the rabbit- a model suitable for testing endovascular devices. *AJR*; 2000; 174: 349-54.
- 46 Turk AS, Luty CM, Grum K, et al.: Comparison of platinum and first-generation Matrix coils in under-packed canine side-wall aneurysms: evaluation of progressive thrombosis. *Neuroradiology*; 2007; 49: 939-45.
- 47 Song JK, Niimi Y, Yoshino Y, et al.: Assessment of Matrix coils in a canine model of a large bifurcation aneurysm. *Neuroradiology*; 2007; 49: 231-35.
- 48 Turk AS, Luty CM, Carr-Brendel V, et al.: Angiographic and histological comparison of canine bifurcation aneurysms treated with first generation Matrix and standart GDC coils. *Neuroradiology*; 2008; 50:57-65.
- 49 Experimental Study of Aneurismal Expansion of the Abdominal Aorta: *Annals of vascular surgery*; 1994; 8 (2).

- 50 Hoshina K and Dalman RL: Hemodynamic influences on abdominal aortic aneurysm disease. *VascularWeb*; 2006.
- 51 Whitnread T, Birch P, Rogers S, et al.: A new animal model for abdominal aortic aneurysms: initial results using a multiple-wire stent. *J Vasc Endovasc Surg*; 1996; 11:90-7.
- 52 Dobrin PB: Animal models of aneurysms. *Annals of vascular surgery*: 1999: Vol 13; 6: 641-8.
- 53 Tenjin H, Fushiki S, Nakahara Y: Effect of Guglielmi detachable coils on experimental carotid artery aneurysms in primates. *Stroke*; 1995; 26:2075-2080.
- 54 Kwan ES, Heilman CB, Roth PA: Endovascular packing of carotid bifurcation aneurysm with polyester fiber-coated platinum coils in a rabbit model. *AJNR*; 1993; 14:323-333.
- 55 Szikora I, Wakhloo AK, Guterman LR: Initial experience with collagen-filled Guglielmi detachable coils for endovascular treatment of experimental aneurysms. *AJNR*; 1997; 18:667-672.
- 56 Ahuja AA, Hergenrother RW, Strother CM: Platinum coil coatings to increase thrombogenicity: a preliminary study in rabbits. *AJNR*; 1993; 14:794-798.
- 57 Fujiwara NH, Cloft HJ, Marx WF, et al.: Serial angiography in elastase-induced aneurysm model in rabbits: evidence for progressive aneurysm enlargement after creation. *AJNR*; 2001; 4: 22.698-703.
- 58 Murayama Y, Viñuela F, Tateshima S, et al.: Cellular Responses of Bioabsorbable Polymeric Material and Guglielmi Detachable Coil in Experimental Aneurysms. *Stroke*; 2002; 33: 1120-28.
- 59 Zhu G, Mallery SR, Schwendeman SP: Stabilization of proteins encapsulated in injectable poly (lactide-co-glycolide). *Nat Biotechnol*; 2000; 18:52-57.
- 60 Renier ML, Kohn DH: Development and characterization of a biodegradable polyphosphate. *J Biomed Mater Res*; 1997; 34:95-104.
- 61 Dai D, Ding YI, Lewis DA and Kallmes DF: A proposed ordinal scale for grading histology in Elastase-Induced, saccular aneurysms. *AJNR*; 2006; 27:132-138.
- 62 Koizumi T, Kawano T, Kazekawa K: Histological findings in aneurysm treated with IDC: scanning electron microscopical study. *No Shinkei Geka (Jpn)*; 1997; 25:1027-31.
- 63 Dawson RC, Krisht AF, Barrow DL: Treatment of experimental aneurysms using collagen-coated microcoils. *Neurosurgery*; 1995; 36:133-140.

- 64 Kallmes DF, Borland MK, Cloft HJ: In vitro proliferation and adhesion of basic fibroblast growth factor-producing fibroblasts on platinum coils. *Radiology*; 1998; 206:237-243.
- 65 Kallmes DF, Williams AD, Cloft HJ: Platinum coil-mediated implantation of growth factor-secreting endovascular tissue grafts: an in vivo study. *Radiology*; 1998; 207:519-523.
- 66 Murayama Y, Viñuela F, Suzuki Y, et al.: Development of a Biologically Active Guglielmi Detachable Coil for the Treatment of Cerebral Aneurysms. Part I: In Vitro Study. *AJNR*; Nov.-Dec. 1999; 20:1986-91.
- 67 Raymond J, Venne D, Allas S: Healing mechanisms in experimental aneurysms. I. Vascular smooth muscle cells and neointima formation. *J Neuroradiol*; 1999; 26:7-20.
- 68 Raymond J, Desfaits AC, Roy D: Fibrinogen and vascular smooth muscle cell grafts promote healing of experimental aneurysms treated by embolization. *Stroke*; 1999; 30:1657-1664.
- 69 Langer RS, Vacanti JP: Tissue engineering: the challenges ahead. *Sci Am*; 1999; 280:86-89.
- 70 Langer R: New methods of drug delivery. *Science*; 1990; 249:1527-1533.
- 71 Middleton JC, Tipton AJ: Synthetic biodegradable polymers as medical devices. *Med Plast Biomat*; 1998; 2:30-39.
- 72 Yamada K, Tabata Y, Yamamoto K: Potential efficacy of basic fibroblast growth factor incorporated in biodegradable hydrogels for skull bone regeneration. *J Neurosurg*; 1997; 86:871-875.
- 73 Freed LE, Vunjak-Novakovic G, Biron RJ: Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Biotechnology*; 1994; 12:689-693.
- 74 Grossman SA, Reinhard C, Colvin OM: The intracerebral distribution of BCNU delivered by surgically implanted biodegradable polymers. *J Neurosurg*; 1992; 76:640-647.
- 75 De Scheerder IK, Wilczek KL, Verbeken EV: Biocompatibility of biodegradable and nonbiodegradable polymer-coated stents implanted in porcine peripheral arteries. *Cardiovasc Intervent Radiol*; 1995; 18:227-232.
- 76 De Scheerder IK, Wilczek KV, Verbeken EV: Intraarterial biocompatibility of polyethylene terephthalate self-expandable stents implanted in porcine peripheral arteries. *Acad Radiol*; 1995; 2:154-158.
- 77 Langer R, Vacanti JP: Tissue engineering. *Science*; 1993; 260:920-926.
- 78 Tanguay JF, Zidar JP, Phillips HR III: Current status of biodegradable stents. *Cardiol Clin*; 1994; 12:699-713.

- 79 Langer R: Drug delivery and targeting. *Nature* 1998; 392 Suppl 6679:5-10.
- 80 Viñuela F, Duckwiler G, Mawad M: Guglielmi detachable coil embolization of acute intracranial aneurysm: perioperative anatomical and clinical outcome in 403 patients. *J. Neurosurg* Mar. 1997; 86 (3):475-82.
- 81 Wakhloo AK, Guterman LR, Chavis TD, Dawson RC, Hergenrother RW, Twyford RH, Hopkins LN: Initial experience with collagen-filled Guglielmi detachable coils for endovascular treatment of experimental aneurysms. *AJNR*; 1997; 18: 667-672.
- 82 Bavinzski G, Talazoglu V, Killer M, Richling B, Gruber A, Gross CE, Plenk H Jr: Gross and microscopic histopathological findings in aneurysms of the human brain treated with Guglielmi detachable coils. *J. Neurosurg*; 1999; 91: 284-293.
- 83 Uda K, Murayama Y, Gobin YP, Duckwiler GR, Viñuela F: Endovascular treatment of basilar artery trunk aneurysms with Guglielmi detachable coils: clinical experience with 41 aneurysms in 39 patients. *J Neurosurg*. Oct. 2001; 95 (4): 624-32.
- 84 Satoshi T, Murayama Y, Gobin P, et al.: Endovascular Treatment of Basilar Tip Aneurysms Using Guglielmi Detachable Coils: Anatomic and Clinical Outcomes in 73 Patients from a Single Institution. *Neurosurgery* Dec. 2000; 47 (6):1332-1342.
- 85 Massou T, Guglielmi G, Viñuela F, Duckwiler G. Endovascular treatment of multiple aneurysms involving the posterior intracranial circulation. *AJNR*; 1996; 17: 549-554.
- 86 Hayakawa M, Murayama Y, Duckwiler GR, Gobin YP, Guglielmi G, Viñuela F. Natural history of the neck remnant of a cerebral aneurysm treated with the Guglielmi detachable coil system. *J. Neurosurg*; Oct. 2000; 93 (4): 561-8.
- 87 Molyneux AJ., Ellison DW., Morris J: Histological findings in giant aneurysms treated with Guglielmi detachable coils. Report of two cases with autopsy correlation. *J. Neurosurg*; 1995; 83: 129-132.
- 88 Johnston SC, et. al.: Surgical and Endovascular Treatment of Unruptured Cerebral Aneurysms at University Hospitals. *Neurology*; 1999; 52: 1799-1805.
- 89 Johnston SC, et.al.: Endovascular and Surgical Treatment of Unruptured Cerebral Aneurysms: Comparison of Risks. *Neurology*; 2000; 48: 11-19.
- 90 Horowitz MB, Purdy PD, Burns D, Bellotto D. Scanning electron microscopic findings in a basilar tip aneurysm embolized with Guglielmi detachable coils. *AJNR*; 1997; 18: 688-690.
- 91 Castro E, Fortea F, Villoria F, Lacruz C, Ferreras B, Carrillo R. Long-term histopathologic findings in two cerebral aneurysms embolized with Guglielmi detachable coils. *AJNR*; 1999; 20: 549-552.
- 92 Murayama Y, Viñuela F, Duckwiler GR, Gobin YP, Guglielmi G: Embolization of incidental cerebral aneurysms by using the Guglielmi detachable coil system. *J Neurosurg*; Feb 1999; 90 (2): 207-14.

- 93 Castro E, Fortea F, Villoria F: Long-term histopathologic findings in two cerebral aneurysms embolized with Guglielmi detachable coils. *AJNR*; 1999; 20: 549-552.
- 94 Guglielmi G, Viñuela F, Sepetka I: Electrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach. Part 1: Electrochemical basis, technique, and experimental results. *J Neurosurg*; 1991; 75:1-7.
- 95 Venne D, Raymond J, Allas S, Roy D, Leclerc G, Boushira M, Brazeau P: Healing of experimental aneurysms, platelet extracts can increase the thickness of the neointima at the neck of treated aneurysms. *J. Neuroradiol*; 1999; 26: 92-100.
- 96 Katz JM, Tsiouris AJ, Biondi A, et al. Advances in endovascular aneurysm treatment: are we making a difference? *Neuroradiology*; 2005; 47: 695-701.
- 97 Ushikoshi S, Kikuchi Y, Houkin K: Aggravation of brainstem symptoms caused by a large superior cerebellar artery aneurysm after embolization by Guglielmi detachable coils-case report. *Neurol Med Chir*; 1999; 39: 524-529.
- 98 Guzman LA, Labhasetwar V, Song C: Local intraluminal infusion of biodegradable polymeric nanoparticles. A novel approach for prolonged drug delivery after balloon angioplasty. *Circulation*, 1996; 94: 1441-1448.
- 99 Viñuela F, Duckwiler G, Mawad M: Guglielmi detachable coil embolization of acute intracranial aneurysm: perioperative anatomical and clinical outcome in 403 patients. *J Neurosurg*; 1997; 86: 475-482.
- 100 Dai D, Ding YH, Danielson MA, et al.: Endovascular treatment of experimental aneurysms by use of Fibroblast-Coated Platinum Coils. An angiographic and histopathologic study. *Stroke*; 2007; 38: 170-176.
- 101 Raymond J, Salazkin I, Georganos S, et al. Endovascular treatment of experimental wide neck aneurysms: comparison of results using coils or cyanoacrylate with the assistance of an aneurysm neck bridge device. *AJNR Am J Neuroradiol*; 2002; 23: 1710-16.

## **BIBLIOGRAFIA CONSULTADA**

Abrahams JM, Forman MS, Grady MS, Diamond SL: Delivery of human vascular endothelial growth factor with platinum coils enhances wall thickening and coil impregnation in a rat aneurysm model. *AJNR*; 2001; 22: 1410-17.

Bardach NS, et al.: Association between subarachnoid hemorrhage outcomes and number of cases treated at California hospitals. *Stroke* Jul. 2002; 33 (7): 1851-6.

Dawson RC., Shengelaia GG, Krisht AF, Bonner GD: Histologic effects of collagen-filled interlocking detachable coils in the ablation of experimental aneurysms in swine. *AJNR*; 1996; 17: 853-58.

Johnston SC: Treatment of Unruptured Cerebral Aneurysms in California. *Stroke* Mar. 2001; 32 (3): 597-605.

Kallmes DF, Borland MK, Cloft HJ, Altes TA, Dion JE, Jensen ME, Hankins GR, Helm GA: In vitro proliferation and adhesion of basic fibroblast growth factor-producing fibroblasts on platinum coils. *Radiology*; 1998; 206: 237-43.

Kallmes DF, Williams AD, Cloft HJ, Lopez MB, Hankins GR, Helm GA. Platinum coil-mediated implantation of growth factor-secreting endovascular tissue grafts: an in vivo study. *Radiology*; 1998; 207: 519-23.

Marx WE, Cloft HJ, Helm GA, Short JG, Do HM, Jensen ME, Kallmes DE: Endovascular treatment of experimental aneurysms by use of biologically modified embolic devices: coil-mediated intraaneurysmal delivery of fibroblast tissue allografts. *AJNR*; 2001; 22: 323-33.

Murayama Y, Viñuela F., Tateshima S, Song JK, Gonzalez NR, Wallace MP: Bioabsorbable polymeric material coils for embolization of intracranial aneurysms: a preliminary experimental study. *J Neurosurg*; Mar 2001;. 94 (3): 454-63.

Raymond J, Desfaits AC, Roy D: Fibrinogen and vascular smooth muscle cell grafts promote healing of experimental aneurysms treated by embolization. *Stroke*; 1999; 30: 1657-64.

Raymond J, Venne D, Allas S, Roy D, Oliva VL, Denbow N, Salazkin I, Leclerc G: Healing mechanisms in experimental aneurysms, I: vascular smooth muscle cells and neointima formation. *J. Neuroradiol*; 1999; 26: 7-20.

Shimizu S, Kurata A, Takano M: Tissue response of a small saccular aneurysm after incomplete occlusion with a Guglielmi detachable coil. *AJNR*; 1999; 20: 546-548.

Spetzger U, Reul J, Weis J, Bertalanffy H, Thron A, Gilsbach JM: Microsurgically produced bifurcation aneurysms in a rabbit model for endovascular coil embolization. *J. Neurosurg*; 1996;. 85: 488-495.

Stiver SI, Porter PJ, Willinsky RA, Wallace MC: Acute human histopathology of an intracranial aneurysm treated using Guglielmi detachable coils: case report and review of the literature. *Neurosurgery*; 1998; 43: 1203-08.

## **EMBOIIZAÇÃO COM MOLAS REVESTIDAS COM COPOLÍMERO E MOLAS NÃO REVESTIDAS EM MODELO EXPERIMENTAL DE ANEURISMA CEREBRAL EM SUÍNOS**

Gabriel Mossmann, MD 1; Marco Aurélio Grudtner, MSc 2; João Luiz Elesbão, MD 3; Rafael Mello 4; Adamastor Humberto Pereira, PhD 5

1 Neurocirurgião, Graduando do Programa em Cirurgia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Cirurgião Vascular, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Graduando do Programa em Cirurgia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

4 Acadêmico da Faculdade de Medicina da UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

5 Professor Adjunto e Chefe da Cirurgia Vascular, HCPA, Porto Alegre, RS, Brasil.

**Título Corrente:** Modelo Experimental em Suínos

**Categorização do Manuscrito:** Neuro-Vascular

**Endereço do Autor:**

Rua Jarí, 619/1301 BL.03

91350-170 - Porto Alegre, RS - Brasil

## RESUMO

**Introdução e Objetivos:** O modelo experimental em suínos vem sendo utilizado na análise histológica dos novos materiais de embolização dos aneurismas cerebrais. Este estudo tem o propósito de avaliar a perviedade de aneurismas pequenos (média de 3mm) em modelo suíno e comparar o grau do processo de trombose após embolização com dois tipos de molas: de platina sem revestimento e revestidas com copolímero.

**Método:** Um total de 20 aneurismas pequenos (média de 3mm de diâmetro) foram criados em ambas as carótidas de 10 suínos da raça Large-White, 6 machos e 4 fêmeas. Procedia-se então a embolização com molas de platina GDC à esquerda e mola revestida com polímero Matrix à direita. Após 14 dias realizava-se angiografia para demonstrar a exclusão do aneurisma e retirava-se em bloco a carótida incluindo a lesão. A seguir, era feita a eutanásia do animal com dose letal de cloreto de potássio. As peças eram analisadas histologicamente e coradas com Hematoxilina-Eosina. Uma escala gradativa em escores progressivos de 1 a 4 foi estabelecida para avaliar o processo de organização do trombo. O Escore 1 corresponde a trombo inicial ou recente, isto é, agregado de plaquetas, hemácias e leucócitos; Escore 2 significa a presença de leucócitos em diferenciação contendo fibrina e absorção das hemácias e plaquetas, porém, intercalados com zonas contendo trombo recente; Escore 3 corresponde a presença de leucócitos em diferenciação contendo fibrina, caracterizando um tecido fibrocelular frouxo; e, Escore 4 caracterizado como a presença de tecido fibrocelular contendo fibras de colágeno, representando um tecido fibrocelular denso incipiente.

Os dados foram descritos através de cálculo de frequência e percentual em cada um dos grupos utilizando-se o Teste de Wilcoxon para os achados que envolviam os escores de trombose. Os dados foram analisados no software SPSS 12.0 e o nível mínimo de significância adotado foi de 5%.

**Resultados:** Um animal foi excluído do estudo devido a formação de abscesso, restando portanto 9 animais (18 aneurismas) para avaliação. Assim, na análise do processo de organização do trombo, utilizou-se a graduação por escores, obtendo-se no grupo I: 88,8% de escore 1, 11,1% de escore 2 e nenhum caso com escores 3 ou 4. Já no grupo II, obteve-se 11,1% de escore 1, 11,1% de escore 2, 55,5% de escore 3 e 22,2% de escore 4. O Teste de Wilcoxon foi aplicado, revelando uma diferença significativa ( $p=0,008$ ) entre escores do grupo I e do grupo II, ao longo de 14 dias.

**Conclusão:** O aneurisma experimental desenvolvido neste estudo foi adequado para a análise da perviedade de lesões pequenas (média de 3mm) e portanto passíveis de tratamento endovascular. Pôde-se verificar por meio de uma escala de escores progressivos, a organização do trombo intra-aneurismático após 14 dias, demonstrando diferença significativa entre o grupo tratado com mola Matrix e o com GDC.

**Palavras-Chave:** aneurisma, copolímero, embolização, modelo, mola, suíno, trombose.

## INTRODUÇÃO

A hemorragia cerebral decorrente da ruptura de um aneurisma cerebral é fatal para 10% a 15% dos pacientes antes que estes possam receber qualquer atenção médica. Outros 10% morrem na primeira semana, e 50% a 60% morrerão nos primeiros 30 dias. Além disso, 30% a 50% dos que sobrevivem ao evento inicial correm o risco de ter outro sangramento nos próximos seis meses se não tratados <sup>1-4</sup>.

Desde o estudo ISAT, em que se estabeleceu o papel do tratamento endovascular nos aneurismas rotos, surgiu a questão quanto a incidência significativa de recorrência (recanalização) da lesão, apesar de o risco de novo sangramento ter sido extremamente baixo <sup>5</sup>. Assim, o fator motivador deste estudo também acompanha a tendência de outros estudos experimentais, que é a análise de molas com material bioativo, esperando-se uma solução para o problema da recanalização.

O desenvolvimento de molas para embolização tem sido facilitado pelo uso de vários modelos de aneurisma sacular em animais. Molas destacáveis de platina vem sendo testadas usando aneurismas criados cirurgicamente em suínos, caninos, coelhos e primatas <sup>6-12</sup>. O uso de suínos tem sido proposto como um modelo adequado de avaliação de materiais de embolização antes do seu uso clínico <sup>13-19</sup>. Apesar destes modelos permitirem a avaliação e contribuírem no desenvolvimento de novos materiais, algumas limitações ainda permanecem. Especificamente, as estratégias de quantificação histológicas não têm sido uniformizada nos diversos modelos experimentais. Além disso não há na literatura estudo experimental em suínos que avalie o comportamento destes dispositivos endovasculares em aneurismas pequenos (em torno de 3mm).

## **MÉTODO**

### ***Criação dos Aneurismas***

Vinte aneurismas saculares foram criados cirurgicamente em 10 suínos da raça Large-White com peso médio de 18 kg (16-20 Kg) usando o modelo de Murayama com modificações<sup>20-22</sup>. Este modelo consiste na criação de um aneurisma na carótida comum por meio de anastomose término-lateral com a veia jugular interna e ligadura de seu coto distal. Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética e bioética animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e Unidade de Experimentação Animal (UEA).

Antes de iniciar o projeto, foi realizado um estudo piloto com 2 suínos para avaliar a técnica por meio de anastomose da veia jugular interna com a carótida comum de forma látero-lateral, com sutura da veia nos cotos distal e proximal e formação de aneurisma sacular na artéria. Entretanto, nos 2 experimentos, verificou-se a trombose espontânea dos aneurismas neoformados, inviabilizando o modelo.

Assim, recorreu-se ao modelo de Murayama. Na primeira fase, se criavam os aneurismas cirurgicamente após anestesia geral e, então, realizava-se o tratamento endovascular com molas. Na segunda fase, após 14 dias, retiravam-se as peças para análise histológica e procedia-se à eutanásia.

## **FASE I**

### **Técnica Anestésica**

Inicialmente, procedia-se a sedação com midazolam, 0,5 mg/kg, aplicado por via intramuscular aproximadamente 30 minutos antes do início do procedimento cirúrgico. Em seguida, obtinha-se o acesso venoso para infusão de líquidos e de drogas através de venóclise da veia central da orelha do suíno. Então, continuava-se

a indução anestésica com xilasina e ketamina, até a realização da entubação orotraqueal. A analgesia era mantida com dipirona e fentanil, e o animal respirava por meio de ventilação mecânica. A complementação anestésica era feita com halotano inalatório, 0,5 a 2% e a reposição líquida com soro glico-fisiológico (20 ml/kg/h). Um bolo de 3000 UI de heparina intravenosa era feito no início do procedimento.

### **Técnica Cirúrgica**

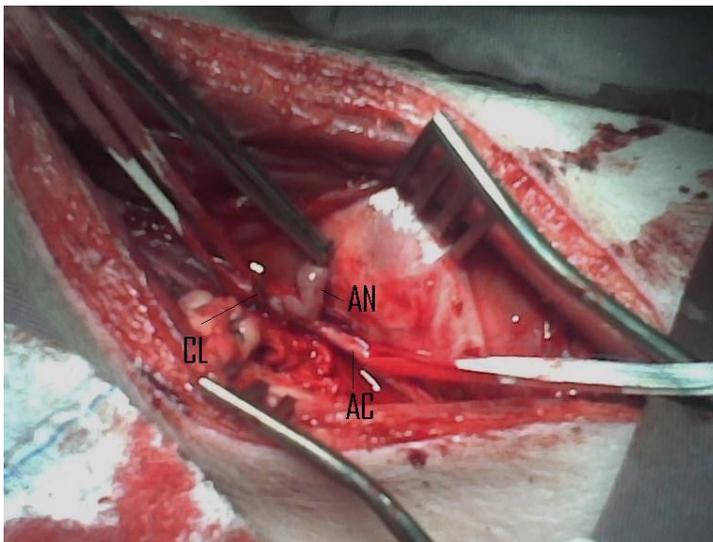
A técnica cirúrgica empregada para a abordagem da artéria carótida comum e da veia jugular interna em ambos os lados foi a abordagem mediana na região cervical verticalmente.

Na primeira fase realizou-se então o posicionamento do animal em decúbito dorsal e a antibioticoprofilaxia com cefazolina 1 g intravenosa. Em seguida, procedia-se a incisão mediana na região cervical verticalmente, estendendo-se 5 cm abaixo da mandíbula até o início do esterno. Após a dissecção dos planos musculares, abordava-se a artéria carótida comum acompanhada da veia jugular interna, em ambos os lados. Assim, iniciava-se a formação cirúrgica do aneurisma na carótida comum através de uma abertura de aproximadamente 2mm (arteriotomia) com a mesma pinçada. Uma das veias jugulares internas era retirada numa extensão aproximada de 3 cm, servindo como enxerto para a formação do aneurisma, por meio de anastomose término-lateral na artéria, com fio prolene 7-0, e ligadura do coto distal da veia, com fio de seda 3-0. Após isto, liberavam-se as pinças de clampeamento e obtinha-se a formação de um aneurisma na parede lateral da carótida, com média de 3 mm (variação de 2 a 4mm) de diâmetro.

A seguir, com parte da mesma veia que sobrara, construía-se um outro aneurisma na carótida contralateral, de maneira semelhante a descrita anteriormente.

## Técnica Endovascular

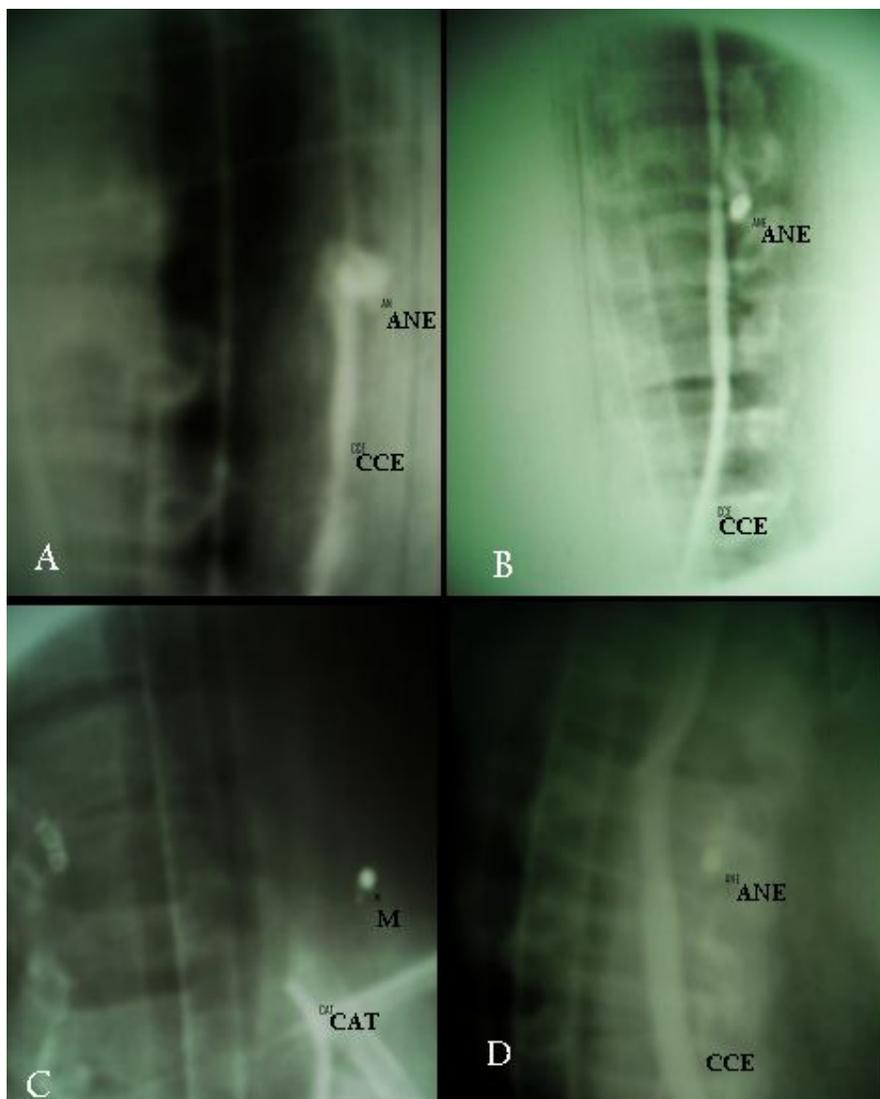
Após a confirmação angiográfica da perviedade do aneurisma, iniciava-se o preenchimento endovascular (embolização) do mesmo com mola através de acesso via cateterismo femoral. O acesso inicial se dava por meio de incisão inguinal direita e ligadura distal com fio de seda 3-0 com introdutor 6F na artéria femoral e cateter guia Envoy 6F avançando na carótida contendo a lesão (ambos materiais da Cordis Enterprise). Coaxialmente avançava-se um microcateter Excelon 14 com microguia Silverspeed 0,14 (EV3 Corporation) no interior do aneurisma. Os grupos eram divididos em I (os aneurismas da carótida esquerda, preenchidos com mola GDC) e II (os da carótida direita, preenchidos com mola Matrix). O aparelho para a aquisição das imagens era um arco em "C" da marca General Electric (GE), com registro por filmes em lâminas de raios-x. Ao fim do procedimento, retiravam-se os cateteres e o introdutor, ligando-se a porção proximal da artéria femoral e fechando-se a incisão.



**Figura 1: Realização da anastomose término-lateral da veia jugular na carótida (AN- aneurisma, CL- pinça de clampeamento, AC- carótida)**

## **FASE II**

Na segunda fase do experimento, após o período de 14 dias, utilizava-se o mesmo esquema anestésico da fase I. Então, realizava-se a arteriografia verificando-se as lesões preenchidas com mola e perviedade do vaso portador. A seguir, incisava-se novamente a ferida operatória inicial e abordavam-se as carótidas com os aneurismas para retirada em bloco das lesões. Em seguida, era feita a eutanásia do animal com dose letal de cloreto de potássio. As peças eram fixadas em formaldeído a 10% por no mínimo 24 horas.



**Figura 2: Angiografias demonstrando em A: perviedade do aneurisma e do vaso portador logo após a cirurgia; B: embolização do aneurisma; C: detalhes dos materiais durante a embolização; D: controle após 14 dias demonstrando perviedade do vaso e exclusão do aneurisma trombosado. ( CCE- Carótida comum esquerda; ANE- Aneurisma; CAT- Cateter; M- Mola de embolização)**



**Figura 3: Detalhe da peça retirada após 14 dias (AN- aneurisma, AC- artéria carótida)**

Tabela 1. Graduação do Processo de Organização do Trombo

Escore	Achados Histológicos
1	Trombo inicial ou recente (aglomerado de plaquetas, leucócitos e hemácias)
2	Trombo em organização (diferenciação leucocitária com produção de fibrina) ainda com áreas de trombo recente
3	Trombo organizado com tecido fibrocelular frouxo (leucócitos diferenciados e fibrina)
4	Trombo organizado com tecido fibrocelular denso atenuado (miofibroblastos e colágeno)

## **Processamento Histológico**

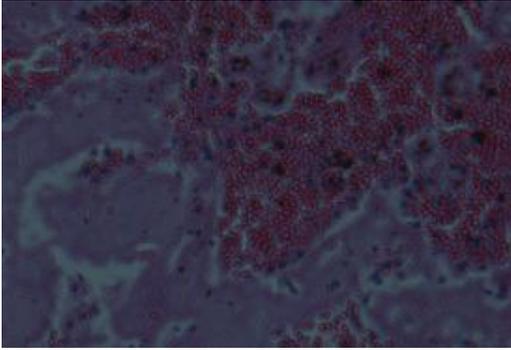
Após a fixação, as peças eram mergulhadas em parafina. A seguir, eram realizados os cortes com micrótomo, e então, retiravam-se as molas dos aneurismas com micropinças, sendo realizada a coloração com Hematoxilina-Eosina. Todas as lâminas eram analisadas pelo mesmo patologista.

## **Sistema de Graduação Histológico**

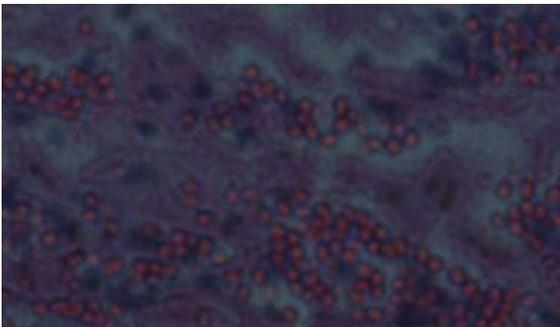
O sistema de graduação proposto foi desenvolvido para incorporar os principais aspectos da organização do trombo dentro do aneurisma embolizado. Ele se dividia em escores, levando em conta os seguintes achados: a presença de trombo inicial ou recente, isto é, agregado de plaquetas, hemácias e leucócitos, categorizado como Escore 1; a presença de leucócitos em diferenciação contendo fibrina e absorção das hemácias e plaquetas, porém, intercalados com zonas contendo trombo recente, categorizado como Escore 2; a presença de leucócitos em diferenciação contendo fibrina, caracterizando um tecido fibrocelular frouxo, categorizado como Escore 3; e, a presença de tecido fibrocelular contendo fibras de colágeno, caracterizando um tecido fibrocelular denso incipiente, categorizado como Escore 4.



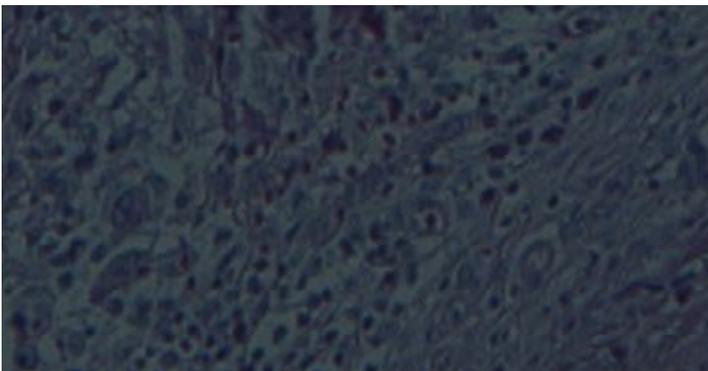
**Figura 4: Trombo recente (escore 1) (aumento de 200x, HE)**



**Figura 5: Trombo em organização com tecido fibrocelular incipiente ainda contendo trombo recente (escore 2) (aumento de 100x, HE)**



**Figura 6: Trombo organizado com tecido fibrocelular frouxo e restos de fibrina (escore 3) (Aumento de 200x, HE)**



**Figura 7: Trombo organizado com tecido fibrocelular denso, contendo fibras de colágeno (escore 4) (Aumento de 100x, HE)**

## **Análise Estatística**

Os dados foram descritos através de cálculo de frequência e percentual em cada um dos grupos. Para comparar os grupos quanto ao desfecho em questão, utilizou-se a análise por Escores, através do Teste de Wilcoxon. Os dados foram processados no *software* SPSS 12.0 e o nível mínimo de significância adotado foi de 5%.

## **RESULTADOS**

Um dos animais (macho) foi excluído, pois houve a formação de abscesso subcutâneo invadindo os vasos. Restaram então para análise histológica das peças um total de 18 amostras viáveis em 9 animais.

Assim, para analisar o processo de organização do trombo, utilizou-se a graduação por escores, obtendo-se no grupo I, 8 (88,8%) aneurismas com trombo inicial (escore 1), isto é, apenas com um aglomerado plaquetário com células sanguíneas em seu interior, e no grupo II, 1 (11,1%) com o mesmo achado. Apenas 1 (11,1%) do grupo I e 1 (11,1%) do grupo II apresentaram trombo organizado com coágulo residual dentro do aneurisma (escore 2). Exclusivamente no grupo II também houve 5 (55,5%) casos de trombo organizado com tecido fibrocelular frouxo e fibrina (escore 3); e, 2 (22,2%) casos de trombo organizado com tecido celular atenuado denso e colágeno (escore 4) no interior do aneurisma. Conforme a incidência de cada escore, o Teste de Wilcoxon foi aplicado, revelando uma diferença significativa entre escores do grupo I e os do grupo II ( $p=0,008$ ).

Tabela 2. Achados Histológicos Intra-Aneurismáticos após 14 dias da Embolização

Animal	ESCORES	
	Grupo I	Grupo II
1	1	1
2	1	3
3	1	3
4	2	3
5	1	2
6	1	4
7	1	3
8	1	4
9	1	3

## DISCUSSÃO

No estudo piloto com 2 suínos, o desenvolvimento do modelo experimental de aneurisma cerebral consistia na arteriotomia carotídea e anastomose látero-lateral com a veia jugular interna do suíno, procedendo-se à sutura dos cotos proximal e distal da veia, soltando-se as pinças da carótida esperando verificar-se o enchimento e, portanto, perviedade do aneurisma. Porém, nestes 2 estudos, verificou-se a trombose do enxerto venoso espontaneamente, impossibilitando a simulação com um aneurisma e, portanto, insucesso do modelo. A partir disso, o presente estudo foi desenvolvido em suínos baseado no processo de formação cirúrgica dos aneurismas e posterior preenchimento endovascular com molas em modelo experimental prévio (Murayama)<sup>20-22</sup>.

Algumas adaptações, entretanto, foram realizadas neste estudo em relação aos citados anteriormente, pois a raça de suínos obtida foi a Large-White, com peso médio de 18 kg, enquanto que nos estudos iniciais, era a Yorkshire Suína, com peso médio de 35kg. Esta característica de tamanho influenciou diretamente na formação dos aneurismas cirurgicamente, visto que naqueles estudos, a média de tamanho da arteriotomia para encherto da veia jugular na formação do aneurisma era de 7mm, resultando num aneurisma de diâmetro médio de 9mm, enquanto a deste estudo foi de 2mm de arteriotomia para formação de um aneurisma médio de 3mm.

A perviedade destes aneurismas pequenos parece estabelecer uma abordagem distinta em relação aos estudos prévios, pois muitos aneurismas que sangram em humanos são pequenos (ou seja, abaixo de 7mm)<sup>5, 23</sup>. Uma tendência atual observada é a diversificação do tamanho dos aneurismas desenvolvidos experimentalmente e a variação biológica. Estudos em primatas, em coelhos e em caninos vêm sendo realizados além de suínos, baseados nestas diretrizes<sup>7, 24, 27</sup>. Assim, a importância do modelo experimental do presente estudo vai de encontro a esta nova tendência no aspecto da diversificação quanto ao tamanho do aneurisma desenvolvido<sup>5, 15, 18, 28-30</sup>.

Em relação ao uso de suíno, há trabalhos que estabelecem a similaridade com humanos do ponto de vista anatômico, sistema fibrinolítico e sistema de coagulação<sup>31, 32</sup>. Já sobre a raça ou sexo, não parece haver superioridade ou diferenças importantes<sup>33, 34</sup>.

Quanto ao uso de mola bioativa ou modificada em relação às de platina iniciais, alguns estudos vêm sendo realizados no intuito de analisar a precocidade e intensidade da formação de tecido cicatricial intra-aneurismático<sup>35-37</sup>. O objetivo é evitar a recanalização, mas as estratégias de quantificação histológicas não têm sido uniformizadas nos diversos modelos experimentais.

Neste estudo, uma medida ordinal do processo de trombose após a realização experimental de aneurisma em suínos e embolização, foi descrita. Num período de 14 dias, a média dos escores do grupo tratado com mola Matrix foi 3, enquanto a dos escores do grupo tratado com GDC foi 1. Estes dados indicam que a escala criada neste estudo é capaz de detectar as diferentes fases do processo de

organização do trombo ao longo de 14 dias. Além disso, a variação dinâmica da escala parece apropriada nos testes de materiais de embolização modificados, pois permite a comparação com uma medida padrão entre grupos diferentes. Ela pode ser um recurso de medida relevante nos aneurismas saculares experimentais após o tratamento endovascular. Adicionalmente, esta escala foi desenhada para refletir a cicatrização ideal de um aneurisma embolizado. Os escores iniciais <sup>1, 2</sup> demonstram um trombo não organizado ou pobremente organizado, oferecendo pouca integridade mecânica. Por outro lado, os escores 3 e 4 demonstram a presença de um tecido fibrocelular organizado, seja frouxo ou denso atenuado, revelando uma integridade estrutural intensa. Alguns investigadores têm proposto diversas classificações quanto ao grau de trombose no interior do aneurisma e quanto a espessura do tecido no colo do mesmo.<sup>20, 38, 39</sup> Estes achados têm sido confinados a determinados centros e não se tem dado a devida atenção quanto a generalização dos resultados em outros centros.<sup>5, 20, 40</sup> O presente modelo experimental apresenta resultados de fácil avaliação no que concerne à trombose, bem como aspectos acurados e reprodutíveis para o uso de materiais de embolização pré-clínicos.

Outros autores previamente vêm utilizando tanto a angiografia como a avaliação histológica na análise de cicatrização dos aneurismas experimentais embolizados. Raymond et al utilizaram a evidência angiográfica da recanalização em um modelo de aneurisma em canino <sup>39</sup>. Infelizmente, no modelo experimental em suíno utilizado neste estudo, a angiografia não evidenciou nenhuma evidência de recanalização. Desse modo, o critério angiográfico não pôde ser aplicado neste estudo.

Alguns autores, especificamente utilizando o modelo suíno com aneurismas maiores, vêm insistindo na argumentação sobre a camada que se desenvolve na região de transição entre o colo do aneurisma e o vaso portador após a embolização <sup>20, 38</sup>. Foi difícil calcular precisamente o grau de cobertura do endotélio nos aneurismas deste modelo experimental, uma vez que a dimensão do colo variava entre 1 a 2 mm. Tal medida depende do exato local de secção histológica realizada, envolvendo o colo do aneurisma e o lúmen arterial. Entretanto, nos aneurismas pequenos como o deste estudo, é difícil se não impossível a determinação exata da

espessura do endotélio neoformado. Sendo assim, não foi incluída a espessura do endotélio na escala aqui desenvolvida.

Portanto, apesar de desenvolvida neste estudo, a escala utilizada foi baseada em aspectos ideais e bem marcados do processo de organização do trombo. Estudos adicionais de impacto focados na região do colo de aneurismas maiores são necessários para validar seu propósito, além de um número maior de casos experimentais ao longo do tempo. A avaliação dos achados histológicos observados neste experimento deverão ser correlacionadas com os resultados de grandes séries clínicas randomizadas, comparando os resultados das molas recobertas com polímero com aqueles de molas não recobertas.

## **CONCLUSÃO**

O modelo experimental em suíno utilizado neste estudo demonstrou semelhança anatômica com os aneurismas saculares pequenos da circulação cerebral humana, sendo passíveis de tratamento por via endovascular. Verificou-se, após 14 dias, as características entre os dois tipos de molas no que se refere ao tipo de trombo formado dentro do aneurisma. Por meio de uma escala de escores progressivos do processo de organização dos trombos, pôde-se detectar diferenças entre os dois grupos. Os achados aqui descritos podem contribuir para a uniformização dos achados e melhor compreensão dos resultados quando são avaliados diferentes tipos de molas para embolização dos aneurismas cerebrais.

## REFERÊNCIAS

- 1-Saahs AL, Nibbelink DW, Torner JC (eds.): Aneurysmal Subarachnoid hemorrhage: Report of the Cooperative Study. Urban and Schwarzenberg: Baltimore: Munich; 370, 1981.
- 2-Broderick JP, Brott TG, Tomsick T, et al.: Intracerebral Hemorrhage more than twice as common as Subarachnoid Hemorrhage. *J Neurosurg* 78:188-91, 1993.
- 3-Linfante I and Ajay KW: Brain Aneurysms and Arteriovenous Malformations. Advancements and Emerging Treatments in Endovascular Embolization. *Stroke* 39 (2): 268 -72, February 1, 2008.
- 4-Kassell NF, Haley EC, Apperson-Hansen C, et al. Randomized, double-blind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in Europe, Australia, and New Zealand. *J Neurosurg* 84: 221-228, 1996.
- 5-Molyneux A, Kerr R, Stratton I, Sandercock P, Clarke M, Shrimpton J, Holman R. International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised trial. *Lancet* 360: 1267-74, 2002.
- 6-Guglielmi G, Ji C, Massoud T, et al. Experimental saccular aneurysms. II. A new model in swine. *Neuroradiology*. 36: 547-50, 1994.
- 7-Graves V, Partington C, Rufenacht D, et al. Treatment of carotid artery aneurysms with platinum coils: an experimental study in dogs. *AJNR Am J Neuroradiol* 11: 249-52, 1990.
- 8-Graves V, Strother C, Rappe A. Treatment of experimental canine carotid aneurysms with platinum coils. *AJNR Am J Neuroradiol* 1993;14: 787-93.
- 9-Mawad M, Mawad J, Cartwright JJ, et al. Long-term histopathologic changes in canine aneurysms embolized with Guglielmi detachable coils. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1995;16 :7-13.
- 10-Reul J, Weis J, Spetzger U, et al. Long-term angiographic and histopathologic findings in experimental aneurysms of the carotid bifurcation embolized with platinum and tungsten coils. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1997;18: 35-42.
- 11-Bocher-Schwarz H, Ringel K, Bohl J, et al. Histological findings in coil-packed experimental aneurysms 3 months after embolization. *Neurosurgery*, 2002; 50: 379-84.
- 12-Tenjin H, Fushiki S, Nakahara Y, et al. Effect of Guglielmi detachable coils on experimental carotid artery aneurysms in primates. *Stroke*, 1995; 26:2075-80.

13-Kallmes D, Helm G, Hudson S, et al. Histologic evaluation of platinum coil embolization in an aneurysm model in rabbits. *Radiology*, 1999; 213: 217-22.

14-Altes TA, Cloft HJ, Short JG, et al. Creation of saccular aneurysms in the rabbit: a model suitable for testing endovascular devices. *AJR Am J Roentgenol*, 2000; 174: 349-54.

15-Fujiwara N, Cloft H, Marx W, et al. Serial angiography in an elastase-induced aneurysm model in rabbits: evidence for progressive aneurysm enlargement after creation. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2001; 22: 698-703.

16-de Gast A, Altes T, Marx W, et al. Transforming growth factor beta-coated platinum coils for endovascular treatment of aneurysms: an animal study. *Neurosurgery*, 2001; 49: 690-94.

17-Marx W, Cloft H, Helm G, et al. Endovascular treatment of experimental aneurysms by use of biologically modified embolic devices: coil-mediated intraaneurysmal delivery of fibroblast tissue allografts. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2001; 22: 323-33.

18-Kallmes D, Fujiwara N, Yuen D, et al. A collagen-based coil for embolization of saccular aneurysms in a New Zealand white rabbit model. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2003 ;24: 591-96.

19-Kallmes D, Fujiwara N. New expandable Hydrogel-platinum coil hybrid device for aneurysm embolization. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002; 23:1580-88.

20-Murayama Y, Tateshima Y, Gonzalez NR, Vinuela F: Matrix and Bioabsorbable Polymeric Coils Accelerate Healing of Intracranial Aneurysms- *Stroke*, 34: 2031-2037, 2003.

21-Murayama Y, Viñuela F, Suzuki Y, Do HM, Massoud TF, Guglielmi G, Ji C, Iwaki M, Kusakabe M, Kamio M, Abe T: Ion implantation and protein coating of detachable coils for endovascular treatment of cerebral aneurysms: concepts and preliminary results in swine models. *Neurosurgery*, 40 (6): 1233-43; discussion 1243-4, Jun 1997.

22-Murayama Y, Viñuela F, Suzuki Y, et al.: Development of the Biologically Active Guglielmi Detachable Coil for the Treatment of Cerebral Aneurysms. Part II: An Experimental Study in a Swine Aneurysm Model. *AJNR*, 20: 1992-99, November/December 1999.

23-Katz JM, Tsiouris AJ, Biondi A, et al.: Advances in endovascular aneurysm treatment: are we making a difference? *Neuroradiology*, 47: 695-701, 2005.

24- Fujiwara N, Kallmes D. Healing response in elastase-induced rabbit aneurysms after embolization with a new platinum coil system. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002; 23: 1137-44.

- 25-Kwan ES, Heilman CB, Roth PA: Endovascular packing of carotid bifurcation aneurysm with polyester fiber-coated platinum coils in a rabbit model. *AJNR* 14: 323-333, 1993.
- 26-Szikora I, Wakhloo AK, Guterman LR: Initial experience with collagen-filled Guglielmi detachable coils for endovascular treatment of experimental aneurysms. *AJNR*, 18: 667-672, 1997.
- 27-Ahuja AA, Hergenrother RW, Strother CM: Platinum coil coatings to increase thrombogenicity: a preliminary study in rabbits. *AJNR* 14: 794-798, 1993.
- 28-Turk AS, Luty CM, Grum K, et al.: Comparison of platinum and first-generation Matrix coils in under-packed canine side-wall aneurysms: evaluation of progressive thrombosis. *Neuroradiology*, 49: 939-45, 2007.
- 29-Song JK, Niimi Y, Yoshino Y, et al.: Assessment of Matrix coils in a canine model of a large bifurcation aneurysm. *Neuroradiology* 49: 231-35, 2007.
- 30-Turk AS, Luty CM, Carr-Brendel V, et al.: Angiographic and histological comparison of canine bifurcation aneurysms treated with first generation Matrix and standart GDC coils. *Neuroradiology* 50: 57-65, 2008.
- 31-Experimental Study of Aneurismal Expansion of the Abdominal Aorta: *Annals of vascular surgery*: 1994;8 (2).
- 32-Hoshina K and Dalman RL: Hemodynamic influences on abdominal aortic aneurysm disease. *VascularWeb*, 2006.
- 33-Whitnread T, Birch P, Rogers S, et al.: A new animal model for abdominal aortic aneurysms: initial results using a multiple-wire stent. *J Vasc Endovasc Surg* 11: 90-7, 1996.
- 34-Dobrin PB: Animal models of aneurysms. *Annals of vascular surgery*: 1999: vol 13: 6: 641-8.
- 35- Murayama Y, Viñuela F, Tateshima S, et al.: Cellular Responses of Bioabsorbable Polymeric Material and Guglielmi Detachable Coil in Experimental Aneurysms. *Stroke*, 33: 1120-28, 2002.
- 36-Zhu G, Mallery SR, Schwendeman SP: Stabilization of proteins encapsulated in injectable poly (lactide-co-glycolide). *Nat Biotechnol* 18: 52-57, 2000.
- 37-Renier ML, Kohn DH: Development and characterization of a biodegradable polyphosphate. *J Biomed Mater Res*, 34: 95-104, 1997.
- 38-Murayama Y, Vinuela F, Tateshima S, et al. Bioabsorbable polymeric material coils for embolization of intracranial aneurysms: a preliminary experimental study. *J Neurosurg*, 2001;94:454–63.
- 39-Raymond J, Salazkin I, Georganos S, et al. Endovascular treatment of experimental wide neck aneurysms: comparison of results using coils or

cyanoacrylate with the assistance of an aneurysm neck bridge device. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002; 23: 1710-16.

40-International Study of Unruptured Intracranial Aneurysm (ISUIA) Investigators: Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. *Lancet* 362:103-110, 2003.

## **EMBOIZATION USING COPOLYMER-COATED COILS AND UNCOATED COILS IN AN EXPERIMENTAL CEREBRAL ANEURYSM MODEL IN PIGS**

Gabriel Mossmann, MD 1; Marco Aurélio Grudtner, MSc 2; João Luiz Elesbão, MD 3; Rafael Mello 4; Adamastor Humberto Pereira, PhD 5.

1 Graduate student in Surgery, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

2 Vascular surgeon, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil.

3. Graduate, student in Surgery, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

4 Undergraduate student, School of Medicine, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

5 Associate Professor- Head of Vascular Surgery, HCPA,(UFRGS) Porto Alegre, RS, Brazil.

**Current Title:** Experimental Pig Model

**Manuscript Category:** Neurovascular surgery

**Author's Address:**

Rua Jarí, 619/1301 BL.03

91350-170 - Porto Alegre, RS - Brasil

## ABSTRACT

**Background and Objectives:** The experimental pig model has been used for histological analysis of new materials for the embolization of cerebral aneurysms. This study aims to evaluate the patency of small aneurysms (measuring, on average, 3 mm) in a pig model and compare the degree of thrombosis after embolization with two types of coils: uncoated platinum coils and copolymer-coated coils.

**Method:** A total of 20 small aneurysms (with a mean diameter of 3 mm) were created in both carotid arteries of 10 Large-White pigs (6 males and 4 females) weighing 16 to 20 kg (mean: 18 kg). Embolization was performed with GDC platinum coils on the left side and with a coil coated with Matrix polymer on the right side. After 14 days, angiography was performed to confirm exclusion of the aneurysm. Before euthanasia with a lethal dose of potassium chloride, the carotid artery was removed in one piece, including the aneurysm. The specimens were cut into sections, including the mid portion of the aneurysm and the artery above and below the aneurysm, and stained with hematoxylin-eosin for histological analysis. A graduated scale with progressive scores ranging from 1 to 4 was used to evaluate the organization of the thrombus. Score 1 indicated clusters of platelets, white blood cells, and red blood cells; Score 2 showed the presence of differentiating white blood cells containing fibrin and absorption of red blood cells and platelets, interspersed with zones containing a recent thrombus; Score 3 corresponded to the presence of differentiating white blood cells containing fibrin, which characterized a loose fibrocellular tissue; and Score 4 indicated the presence of fibrocellular tissue containing collagen fibers, which characterized an incipient dense fibrocellular tissue. The data were described as frequency and percentage using the Wilcoxon test for findings involving thrombosis scores. The data were analyzed using the SPSS 12.0 software, and the minimum significance level was set at 5%.

**Results:** One animal (male) was excluded from the study due to abscess formation near the anastomosis. Therefore, nine animals (18 aneurysms) were assessed. A score was used for analyzing the organization of the thrombus. In group I, 88.8% had score 1, 11.1% score 2, but no cases showed scores 3 and 4. In group II, 11.1% had score 1, 11.1% score 2, 55.5% score 3, and 22.2% score 4. The Wilcoxon test was applied, revealing a significant difference ( $p=0.008$ ) between the scores for group I and group II in the course of 14 days.

**Conclusion:** The experimental aneurysm developed in this study was suitable for assessing the patency of small aneurysms (measuring, on average, 3 mm) after coil embolization. The organization of the intra-aneurysmal thrombus after 14 days was verified using the progressive score, which indicated a significant difference between the group treated with the Matrix coil and that treated with GDC.

**Keywords:** aneurysm, copolymer, embolization, model, coil, pigs, thrombosis.

## **INTRODUCTION**

Cerebral hemorrhage resulting from the rupture of a cerebral aneurysm is fatal in 10 to 15% of patients before they can receive medical attention. Another 10% die within the first week, and 50 to 60% will die within the first 30 days. Furthermore, 30 to 50% of those surviving the initial event are at risk of having additional bleeding in the next six months, if untreated<sup>1-4</sup>.

Since the ISAT study, in which the role of endovascular treatment was established for ruptured aneurysms, a question has arisen as to the significant incidence of recanalizations, even though the risk for a new bleeding is extremely low. (5) Thus, the issue motivating this study also follows the trend of other experimental studies, that is, the analysis of coils containing bioactive material, in an attempt to find a solution to the recanalization problem.

The development of coils for embolization has been made easier by the use of several saccular aneurysm models in animals. Detachable platinum coils have been tested using aneurysms surgically created in pigs, dogs, rabbits, and primates<sup>6-12</sup>. The use of pigs has been proposed as a suitable model for the evaluation of embolization materials before their clinical use<sup>13-19</sup>. Although these models enable such evaluation and contribute to the development of new materials, some limitations still exist. Specifically, histological quantification strategies have not been standardized in different experimental models. Furthermore, there is no experimental study on pigs in the literature evaluating the behavior of these endovascular devices in small aneurysms (around 3 mm).

## **METHOD**

### **Aneurysm Creation**

Twenty saccular aneurysms were surgically created in 10 Large-White pigs with a mean weight of 18 kg (16-20 kg) using the modified Murayama's model<sup>20-22</sup>.

This model consists of aneurysm creation in the common carotid artery by end-to-side anastomosis to a segment of the internal jugular vein and ligation of its distal stump. All procedures were approved by the Animal Ethics and Bioethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) and the Animal Experimentation Unit (UEA).

Before carrying out the project, a pilot study was conducted with two pigs to evaluate the side-to-side anastomosis of the internal jugular vein to the common carotid artery, and the ligation of the vein in the distal and proximal stumps. In both animals, spontaneous thrombosis of the aneurysms occurred, rendering the model unsuitable for our purposes.

The model described by Murayama was then used. In the first phase, aneurysms were created surgically following general anesthesia, and then coils were used for the endovascular treatment. In the second phase, after 14 days, the specimens were removed for histological analysis, and the animals were euthanized.

## **PHASE I:**

### **Anesthetic Technique:**

For sedation, intramuscular midazolam (0.5 mg/kg) was administered approximately 30 minutes before skin incision. Cannulation of the central vein of the ear was carried out for the infusion of fluids and drugs. Anesthetic induction was done with xylazine and ketamine and orotracheal intubation was performed. Analgesia was maintained with dipyrone and fentanyl, and mechanical ventilation was started. Anesthetic supplementation was done with 0.5 - 2% inhaled halothane, and fluid replacement was carried out using glucose-containing saline (20 ml/kg/h). An intravenous heparin bolus of 3,000 IU was administered at the beginning of the procedure.

## **Surgical Technique**

The common carotid artery and internal jugular vein on both sides were exposed through a medial cervical approach and clamped with vascular forceps. Antibiotic prophylaxis consisted of 1 g of intravenous cefazolin. Subsequently, a medial incision was made vertically in the cervical region, extending 5 cm below the mandible all the way down to the beginning of the sternum. The internal jugular vein was dissected free in one side, for 4 or 5 cm and the extremities ligated with 3-0 silk. A saccular aneurysm was created by end-to-side anastomosis to the common carotid. The arteriotomy was 2 to 3 mm long and a 7-0 prolene was used for the anastomosis. After declamping, the anastomosis was checked for bleeding or early thrombosis. The mean diameter of the created aneurysms was 3 mm (range of 2 to 4 mm).

Subsequently, another aneurysm was created using part of the remaining vein in the contralateral carotid artery, in a similar way to that described above.

## **Endovascular Technique**

After angiography, embolization of the aneurysm was carried out using microcatheters and coils through a femoral access. For femoral access, a surgical approach was used and a 6F introducer sheath was inserted. Then a 6F Envoy guiding catheter (Cordis Enterprise) was advanced for selective cannulation of both carotid arteries. An Excelon 14 microcatheter was advanced coaxially over a Silverspeed 0.14 microguide (EV3 Corporation) into the aneurysm. Groups were divided into I (aneurysms in the left carotid, filled with GDC coil) and II (aneurysms in the right carotid, filled with Matrix coil). Both coils were manufactured by Boston Scientific Corporation. A General Electric (GE) C-shaped arch, with x-ray film sheets, was used for imaging. At the end of the procedure, the catheters and the introducer sheath were removed.

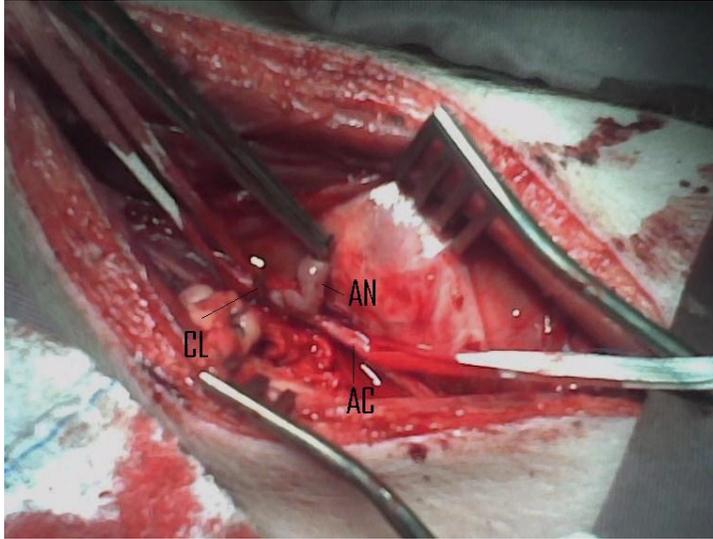
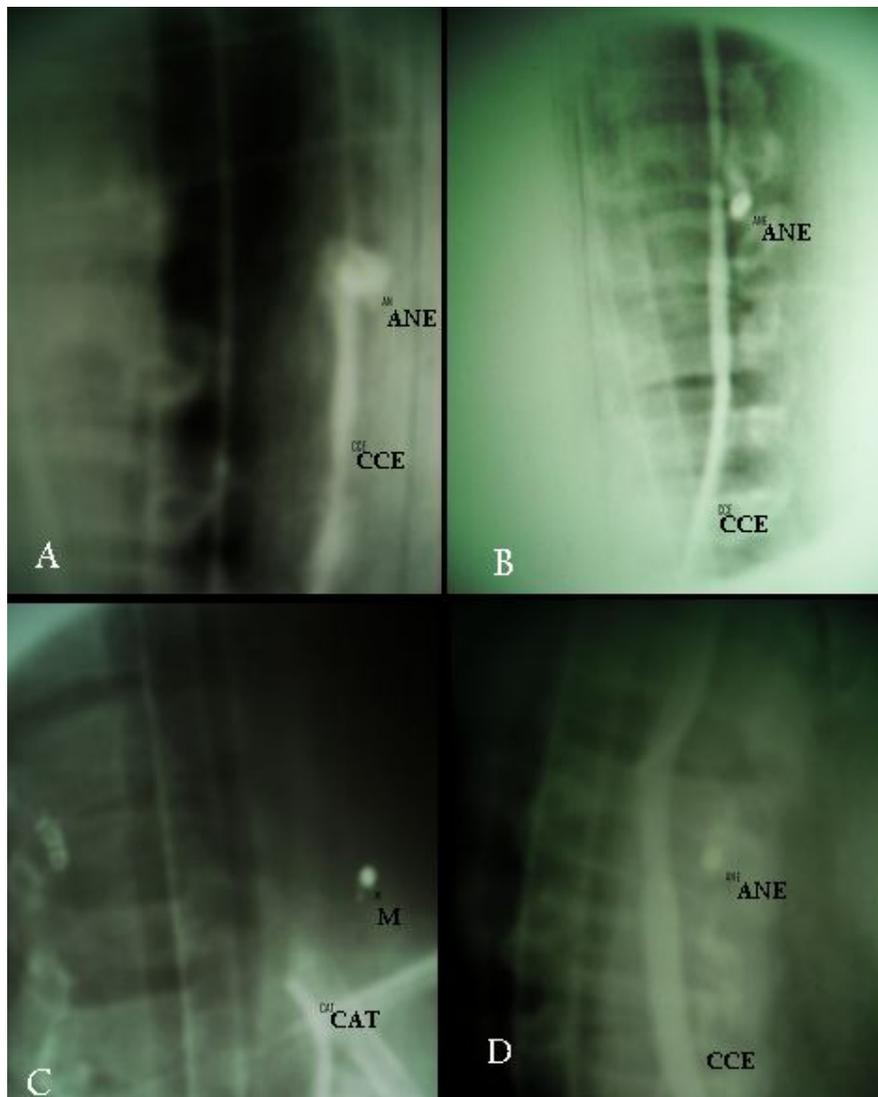


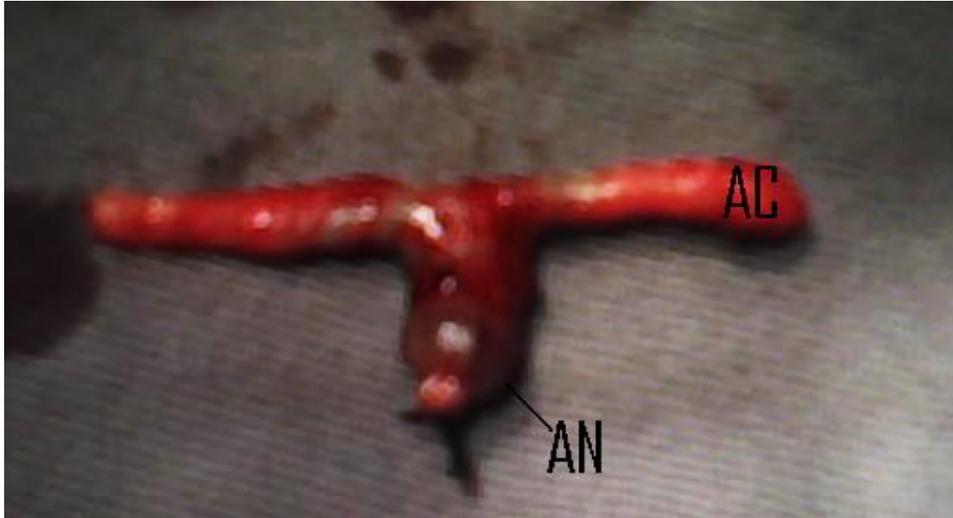
Figure 1: End-to-side anastomosis of the jugular vein to the carotid artery (AN-aneurysm, CL – clamping forceps, AC- carotid artery).

## **PHASE II**

After a 14-day period, the same anesthetic regime as that of phase I was used and another arteriography was performed to confirm the exclusion of the aneurysms. Before euthanasia by a lethal dose of potassium chloride, the operative wound was incised once again, and the carotid arteries with aneurysms were approached for removal and fixation in 10% formaldehyde for at least 24 hours.



**Figure 2: Angiograms showing in A: patency of the aneurysm and vessel with the aneurysm shortly after the surgery; B: aneurysm embolization; C: details of the materials during embolization; D: control after 14 days demonstrating the patency of the vessel and exclusion of the thrombotic aneurysm. (CCE – left common carotid artery; ANE – aneurysm; CAT – catheter; M - embolization coil)**



**Figure 3: Detail of the specimen removed after 14 days (AN-aneurysm, AC-carotid artery)**

**Table 1: Gradation of the thrombus organization process**

Score	Histological Findings
1	Initial or recent thrombus (agglomerate of platelets, white blood cells, and red blood cells)
2	Organizing thrombus (white blood cell differentiation with fibrin production) still with recent thrombus areas
3	Organized thrombus with loose fibrocellular tissue (differentiated white blood cells and fibrin)
4	Organized thrombus with moderately dense fibrocellular tissue (myofibroblasts and collagen)

### Histological Processing

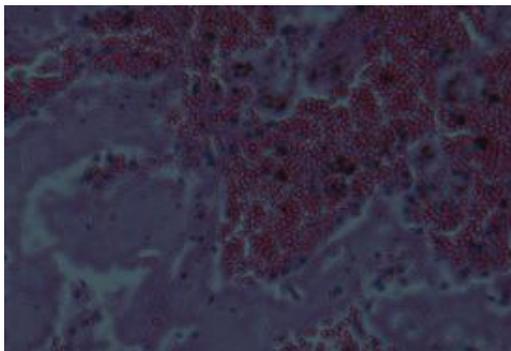
After fixation, the specimens were embedded in paraffin. Subsequently, they were sectioned on a microtome, and then the coils were removed from the aneurysms using a microforceps, and stained with hematoxylin-eosin. All slides were analyzed by the same pathologist.

## Histological Grading System

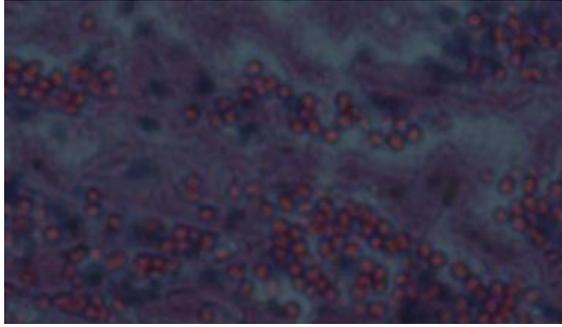
The proposed grading system was developed to incorporate the main aspects of thrombus organization within the embolized aneurysm. The system was divided into scores, taking the following findings into account: presence of initial or recent thrombus, i.e., cluster of platelets, white blood cells, and red blood cells, classified as Score 1; presence of differentiating white blood cells containing fibrin and absorption of red blood cells and platelets, interspersed with zones containing a recent thrombus, classified as Score 2; presence of differentiating white blood cells containing fibrin, characterizing a loose fibrocellular tissue, classified as Score 3; and presence of a fibrocellular tissue containing collagen fibers, characterizing an incipient dense fibrocellular tissue, classified as Score 4.



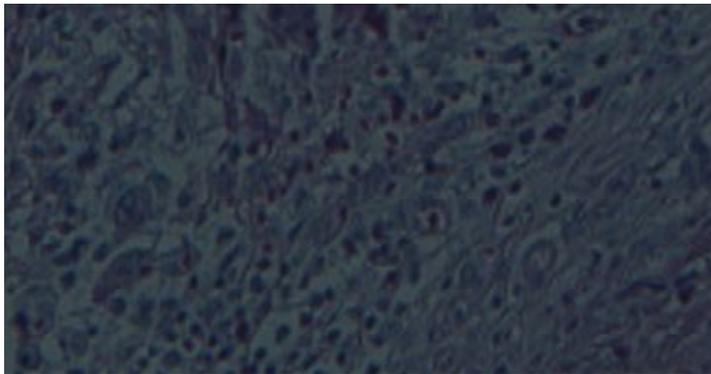
**Figure 4: Recent thrombus (score 1) (200x magnification, HE)**



**Figure 5: Organizing thrombus, with incipient fibrocellular tissue still containing a recent thrombus (score 2) (100x magnification, HE)**



**Figure 6: Organized thrombus with loose fibrocellular tissue and fibrin remains (score 3) (200x magnification, HE)**



**Figure 7: Organized thrombus with dense fibrocellular tissue, containing collagen fibers (score 4) (100x magnification, HE)**

### **Statistical Analysis**

The data were described as frequency and percentage for each group. To compare the groups for the targeted endpoint, a score analysis was performed using the Wilcoxon Test. The data were processed by the SPSS 12.0 software, and the minimum significance level adopted was 5%.

## RESULTS

One (male) animal was excluded because of a subcutaneous abscess near the carotid arteries. Therefore, a total of 18 viable samples from nine animals were submitted to histological analysis.

Score I (cluster of platelets and white blood cells) was observed in eight aneurysms (88%) in Group I but in just one aneurysm in Group II (11.1%). Only one (11.1%) in group I and one (11.1%) in group II presented an organized thrombus with a residual clot inside the aneurysm (score 2). Exclusively in group II, there were also five (55.5%) cases of organized thrombus with loose fibrocellular tissue and fibrin (score 3) and two (22.2%) cases of organized thrombus with moderately dense cell tissue and collagen (score 4) inside the aneurysm. The Wilcoxon test was applied according to the incidence of each score, and revealed a significant difference between the scores of group I and group II ( $p=0.008$ ).

**Table 2: Histological findings 14 days after embolization**

Animal	Scores	
	Group I	Group II
1	1	1
2	1	3
3	1	3
4	2	3
5	1	2
6	1	4
7	1	3
8	1	4
9	1	3

## DISCUSSION

In the pilot study with two pigs, the development of an experimental model of cerebral aneurysm consisting of carotid arteriotomy, side-to-side anastomosis to the internal jugular vein followed by proximal and distal ligation of the vein was unsuccessful. Both aneurysms thrombosed before skin closure. Murayama's model<sup>20-22</sup> was then used in the present study.

Some adaptations, however, were made in this study relative to previous experiments. Instead of adult Large-White specimens, we used Yorkshire pigs with a mean weight of 18 kg. This size characteristic directly influenced the surgical formation of aneurysms: the mean arteriotomy size in this study was 2 mm for the formation of a 3-mm aneurysm. Many bleeding aneurysms in humans are small (less than 7 mm)<sup>5, 23</sup> and an experimental model of small aneurysm seems to be interesting for device investigation. A current observed trend is the diversification in the size of experimentally developed aneurysms and biological variation. Studies in primates, rabbits and dogs, as well as in pigs, have been conducted based on these guidelines<sup>7, 24-27</sup>. Thus, the importance of the experimental model in the present study is consistent with the new trend regarding the diversification in the size of the experimental aneurysm<sup>5, 15, 18, 28-30</sup>.

With respect to the use of pigs, there are studies that establish their similarity to humans in terms of anatomy, fibrinolytic system and coagulation system<sup>31, 32</sup>. As for race or sex, there seems to be no superiority or important difference<sup>33, 34</sup>.

As for the use of a bioactive or modified coil in comparison to the early platinum ones, some studies have been carried out in order to analyze the early formation and the intensity of formation of intra-aneurysmal scar tissue<sup>35-37</sup>. The goal is to prevent recanalization, but histological quantification strategies have not been standardized in several experimental models.

In this study, an ordinal measure of the thrombosis process following the experimental creation of an aneurysm in pigs and embolization was described. In a 14-day period, the group treated with the Matrix coil showed a mean score of 3, while

the group treated with GDC had a mean score of 1. These data indicate that the scale created in this study is able to detect the different phases of the organization process of the thrombus during 14 days. Additionally, the dynamic range of the scale seems suitable for the testing of modified embolization materials, as it allows a comparison against a standard measure between different groups. It can be a relevant measurement resource for experimental saccular aneurysms following endovascular treatment. Additionally, this scale was designed to reflect the optimal scar tissue formation of an embolized aneurysm. The initial scores (1 and 2) demonstrate a non-organized or poorly organized thrombus, providing low mechanical integrity. On the other hand, scores 3 and 4 demonstrate the presence of an organized fibrocellular tissue, either loose or moderately dense, revealing intensive structural integrity. Some investigators have proposed several classifications for the degree of thrombosis inside the aneurysm and for the tissue thickness at the neck of the aneurysm<sup>20, 38, 39</sup>. These findings have been restricted to certain centers and generalized results have not been given proper attention at other centers<sup>5, 20, 40</sup>. The present experimental model yielded results that are easy to evaluate with respect to thrombosis, as well as accurate, reproducible aspects for the use of preclinical embolization materials.

Other authors have previously used both angiography and histological evaluation in the analysis of scar tissue formation in embolized experimental aneurysms. Raymond et al. used the angiographic evidence of recanalization in an aneurysm dog model<sup>39</sup>. Unfortunately, in the experimental pig model used in this study, angiography did not show any evidence of recanalization. Hence, angiographic criteria could not be applied to this study.

Some authors, specifically utilizing the pig model with larger aneurysms, have insisted on the argument about the layer that develops in the transition region between the neck of the aneurysm and the vessel containing the aneurysm after embolization<sup>20, 38</sup>. It was hard to accurately calculate the degree of endothelial coverage in the aneurysms of this experimental model, as the neck size ranged from 1 to 2 mm. Such measure depends on the exact site where the histological section was performed, involving the neck of the aneurysm and the arterial lumen. However, in small aneurysms, as in this study, it is difficult, if not impossible, to accurately

determine the thickness of the newly formed endothelium. Thus, the thickness of the endothelium was not included in the scale described here.

The proposed scale seems to clearly define aspects of thrombus organization and retraction. Additional studies focusing on the region of the neck of larger aneurysms are needed to validate its usefulness in evaluating the behavior of various types of coils. The histological findings observed in this experiment must be correlated with the results of major randomized clinical series, comparing the results of polymer-coated coils with those of uncoated coils.

## **CONCLUSION**

The experimental pig model used in this study demonstrated an anatomical similarity to small saccular aneurysms of the human cerebral circulation, which can be subjected to endovascular treatment. After 14 days, the characteristics between the two types of coils were verified regarding the type of thrombus formed inside the aneurysm. The use of a progressive score for the organization process of thrombi allowed detecting differences between the two groups. The findings described here may contribute to standardizing the findings and to better understanding the results when different types of coils are used for embolization of cerebral aneurysms.

## REFERENCES

- 1-Sahs AL, Nibbelink DW, Torner JC (eds.): Aneurysmal Subarachnoid hemorrhage: Report of the Cooperative Study. Urban and Schwarzenberg: Baltimore: Munich; 370, 1981.
- 2-Broderick JP, Brott TG, Tomsick T, et al.: Intracerebral Hemorrhage more than twice as common as Subarachnoid Hemorrhage. *J Neurosurg* 78:188-91, 1993.
- 3-Linfante I and Ajay KW: Brain Aneurysms and Arteriovenous Malformations. Advancements and Emerging Treatments in Endovascular Embolization. *Stroke* 39 (2): 268 -72, February 1, 2008.
- 4-Kassell NF, Haley EC, Apperson-Hansen C, et al. Randomized, double-blind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in Europe, Australia, and New Zealand. *J Neurosurg* 84: 221-228, 1996.
- 5-Molyneux A, Kerr R, Stratton I, Sandercock P, Clarke M, Shrimpton J, Holman R. International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised trial. *Lancet* 360: 1267-74, 2002.
- 6-Guglielmi G, Ji C, Massoud T, et al. Experimental saccular aneurysms. II. A new model in swine. *Neuroradiology*. 36: 547-50, 1994.
- 7-Graves V, Partington C, Rufenacht D, et al. Treatment of carotid artery aneurysms with platinum coils: an experimental study in dogs. *AJNR Am J Neuroradiol* 11: 249-52, 1990.
- 8-Graves V, Strother C, Rappe A. Treatment of experimental canine carotid aneurysms with platinum coils. *AJNR Am J Neuroradiol* 1993;14: 787-93.
- 9-Mawad M, Mawad J, Cartwright JJ, et al. Long-term histopathologic changes in canine aneurysms embolized with Guglielmi detachable coils. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1995;16 :7-13.
- 10-Reul J, Weis J, Spetzger U, et al. Long-term angiographic and histopathologic findings in experimental aneurysms of the carotid bifurcation embolized with platinum and tungsten coils. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1997;18: 35-42.
- 11-Bocher-Schwarz H, Ringel K, Bohl J, et al. Histological findings in coil-packed experimental aneurysms 3 months after embolization. *Neurosurgery*, 2002; 50: 379-84.
- 12-Tenjin H, Fushiki S, Nakahara Y, et al. Effect of Guglielmi detachable coils on experimental carotid artery aneurysms in primates. *Stroke*, 1995; 26:2075-80.
- 13-Kallmes D, Helm G, Hudson S, et al. Histologic evaluation of platinum coil embolization in an aneurysm model in rabbits. *Radiology*, 1999; 213: 217-22.

- 14-Altes TA, Cloft HJ, Short JG, et al. Creation of saccular aneurysms in the rabbit: a model suitable for testing endovascular devices. *AJR Am J Roentgenol*, 2000; 174: 349-54.
- 15-Fujiwara N, Cloft H, Marx W, et al. Serial angiography in an elastase-induced aneurysm model in rabbits: evidence for progressive aneurysm enlargement after creation. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2001; 22: 698-703.
- 16-de Gast A, Altes T, Marx W, et al. Transforming growth factor beta-coated platinum coils for endovascular treatment of aneurysms: an animal study. *Neurosurgery*, 2001; 49: 690-94.
- 17-Marx W, Cloft H, Helm G, et al. Endovascular treatment of experimental aneurysms by use of biologically modified embolic devices: coil-mediated intraaneurysmal delivery of fibroblast tissue allografts. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2001; 22: 323-33.
- 18-Kallmes D, Fujiwara N, Yuen D, et al. A collagen-based coil for embolization of saccular aneurysms in a New Zealand white rabbit model. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2003 ;24: 591-96.
- 19-Kallmes D, Fujiwara N. New expandable Hydrogel-platinum coil hybrid device for aneurysm embolization. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002;;23:1580-88.
- 20-Murayama Y, Tateshima Y, Gonzalez NR, Vinuela F: Matrix and Bioabsorbable Polymeric Coils Accelerate Healing of Intracranial Aneurysms- *Stroke*, 34: 2031-2037, 2003.
- 21-Murayama Y, Viñuela F, Suzuki Y, Do HM, Massoud TF, Guglielmi G, Ji C, Iwaki M, Kusakabe M, Kamio M, Abe T: Ion implantation and protein coating of detachable coils for endovascular treatment of cerebral aneurysms: concepts and preliminary results in swine models. *Neurosurgery*, 40 (6): 1233-43; discussion 1243-4, Jun 1997.
- 22-Murayama Y, Viñuela F, Suzuki Y, et al.: Development of the Biologically Active Guglielmi: Detachable Coil for the Treatment of Cerebral Aneurysms. Part II: An Experimental Study in a Swine Aneurysm Model. *AJNR*, 20: 1992-99, November/December 1999.
- 23-Katz JM, Tsiouris AJ, Biondi A, et al.: Advances in endovascular aneurysm treatment: are we making a difference? *Neuroradiology*, 47: 695-701, 2005.
- 24- Fujiwara N, Kallmes D. Healing response in elastase-induced rabbit aneurysms after embolization with a new platinum coil system. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002; 23: 1137-44.
- 25-Kwan ES, Heilman CB, Roth PA: Endovascular packing of carotid bifurcation aneurysm with polyester fiber-coated platinum coils in a rabbit model. *AJNR* 14: 323-333, 1993.

- 26-Szikora I, Wakhloo AK, Guterman LR: Initial experience with collagen-filled Guglielmi detachable coils for endovascular treatment of experimental aneurysms. *AJNR*, 18: 667-672, 1997.
- 27-Ahuja AA, Hergenrother RW, Strother CM: Platinum coil coatings to increase thrombogenicity: a preliminary study in rabbits. *AJNR* 14: 794-798, 1993.
- 28-Turk AS, Luty CM, Grum K, et al.: Comparison of platinum and first-generation Matrix coils in under-packed canine side-wall aneurysms: evaluation of progressive thrombosis. *Neuroradiology*, 49: 939-45, 2007.
- 29-Song JK, Niimi Y, Yoshino Y, et al.: Assessment of Matrix coils in a canine model of a large bifurcation aneurysm. *Neuroradiology* 49: 231-35, 2007.
- 30-Turk AS, Luty CM, Carr-Brendel V, et al.: Angiographic and histological comparison of canine bifurcation aneurysms treated with first generation Matrix and standart GDC coils. *Neuroradiology* 50: 57-65, 2008.
- 31-Experimental Study of Aneurismal Expansion of the Abdominal Aorta: *Annals of vascular surgery*: 1994;8 (2).
- 32-Hoshina K and Dalman RL: Hemodynamic influences on abdominal aortic aneurysm disease. *VascularWeb*, 2006.
- 33-Whitread T, Birch P, Rogers S, et al.: A new animal model for abdominal aortic aneurysms: initial results using a multiple-wire stent. *J Vasc Endovasc Surg* 11: 90-7, 1996.
- 34-Dobrin PB: Animal models of aneurysms. *Annals of vascular surgery*: 1999: vol 13: 6: 641-8.
- 35- Murayama Y, Viñuela F, Tateshima S, et al.: Cellular Responses of Bioabsorbable Polymeric Material and Guglielmi Detachable Coil in Experimental Aneurysms. *Stroke*, 33: 1120-28, 2002.
- 36-Zhu G, Mallery SR, Schwendeman SP: Stabilization of proteins encapsulated in injectable poly (lactide-co-glycolide). *Nat Biotechnol* 18: 52-57, 2000.
- 37-Renier ML, Kohn DH: Development and characterization of a biodegradable polyphosphate. *J Biomed Mater Res*, 34: 95-104, 1997.
- 38-Murayama Y, Vinuela F, Tateshima S, et al. Bioabsorbable polymeric material coils for embolization of intracranial aneurysms: a preliminary experimental study. *J Neurosurg*, 2001;94:454–63.
- 39-Raymond J, Salazkin I, Georganos S, et al. Endovascular treatment of experimental wide neck aneurysms: comparison of results using coils or cyanoacrylate with the assistance of an aneurysm neck bridge device. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002; 23: 1710-16.

40-International Study of Unruptured Intracranial Aneurysm (ISUIA) Investigators: Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. *Lancet* 362:103-110, 2003.