

Modelo experimental de aneurismas mediante injerto venoso autólogo en la aorta abdominal en ratas *wistar*

¹Ricardo Díaz-Romero Paz, ¹Sergio Gómez-Llata Andrade, ²Eloisa Servín,
²Daniel Rembao Bojorquez

RESUMEN

Un modelo experimental ideal de aneurisma es esencial en el estudio de la patogénesis y en la evaluación de nuevas técnicas de diagnóstico y tratamiento de aneurismas cerebrales. *Objetivos:* determinar factibilidad y utilidad del modelo experimental de aneurismas laterales y saculares, a través de un injerto venoso *in situ* en la aorta abdominal de la rata *Wistar*. *Material y métodos:* se realizó un estudio experimental en ratas (n=36), mediante técnica microquirúrgica se anastomoso un segmento de vena cava inferior a la aorta abdominal infrarrenal de la rata. Posterior a un seguimiento de dos meses se sacrificaron a las ratas y se realizó el análisis histopatológico. *Resultados:* se completó el seguimiento de 30 ratas, hubo una buena tolerancia a la oclusión de la vena cava inferior y no existieron casos de oclusión espontánea. El 70% de los aneurismas implantados incrementaron su diámetro, y se corroboró trombosis intra-aneurismática en especial en aquellos aneurismas que crecieron. Algunos aneurismas desarrollaron un aumento del número de lobulaciones y se constató la formación de placas ateroma en el domo y cuello del aneurisma. *Conclusiones:* este modelo de aneurismas laterales, tiene una incidencia baja de oclusión espontánea, se desarrolla con una técnica microquirúrgica sencilla y reproducible, además no requiere de la toma de un injerto venoso adicional. La mayoría de estos aneurismas crecen y tiene similitudes histológicas con los aneurismas gigantes en humanos.

Palabras clave: aneurisma experimental, injerto venoso, aneurisma intracraneal, tratamiento.

EXPERIMENTAL MODEL OF ANEURYSMS WITH AUTOLOGOUS VENUS GRAFT IN THE ABDOMINAL AORTA OF WISTAR RATS

ABSTRACT

An ideal experimental model of cerebral aneurysm is of great importance for studying the pathogenesis of this lesion and also for testing new techniques for diagnosis and treatment. *Objective:* we evaluated the feasibility and usefulness of an experimental model of sidewall saccular aneurysm made of a vein graft from the inferior cava vein anastomosed *in situ* to the infrarenal abdominal aorta of a Wistar rat. *Methods:* an experimental model of aneurysm was developed, using 36 rats operated with microsurgery technique; we anastomose a segment of the inferior cava vein to the infrarenal abdominal aorta of a Wistar rat. After a follow-up of 2 months, the rats were sacrifice for histological analysis. *Results:* thirty rats complete the follow up, with a good tolerance to the occlusion of the inferior cava vein; there were no cases of spontaneous occlusion of the aneurysms. Seventy percent of the aneurysm increase their initial diameter, we confirm the presence of intra-aneurysmal thrombi specially on those aneurysms that grew, some develop two o more

Recibido: 30 enero 2008. Aceptado: 18 febrero 2008.

¹Subdirección de Neurocirugía, ²Departamentode Patología, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Correspondencia: Ricardo Díaz-Romero Paz. Subdirección de Radioneurocirugía. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Insurgentes Sur 3877. Col. La Fama 14269 México, D.F. E-mail: ricdrp@yahoo.com

lobulations on the aneurysm sac, and atheromatous plaque on the aneurysmatic wall. *Conclusions:* this model of sidewall aneurysms has a low incidence of spontaneous thrombosis, the microsurgery technique is easy, reproducible and we do not need to take out an additional venous graft. Most of these aneurysms increase their initial length and have resemblance with the histologic features of the human giant aneurysms.

Key words: experimental aneurysm, vein graft, intracranial aneurysm, treatment.

Los aneurismas intracraneales tienen una prevalencia entre el 1 al 5% en la población adulta^{1,2}, son la principal causa de hemorragia subaracnoidea no traumática, y tienen una mortalidad del 45% a los 30 días del *ictus*³.

El progreso en la investigación de mecanismos de formación, crecimiento, y ruptura; así como, de las principales características hemodinámicas de los aneurismas cerebrales dependen de modelos experimentales que reflejen las características biológicas de los aneurismas en el ser humano, igualmente son importantes para el desarrollo de nuevas técnicas terapéuticas, ya sean farmacológicas, microquirúrgicas, o endovasculares⁴.

En general, para la formación de un aneurisma se requiere, primero de un defecto de la pared vascular (*parches de adventicia*⁵, *arteriotomía con láser*⁶, *etcétera*), y segundo de un estrés hemodinámico aplicado a esa pared debilitada, lo que propicia formación y crecimiento del aneurisma.

Un modelo experimental de aneurismas reciente, cuya aplicación se ha extendido, es la perfusión intraluminal de elastasa pancreática^{7,8}, modificada por otros autores⁹, destruye la lámina elástica interna de la pared del vaso y predispone a la formación del aneurisma, tiene algunas similitudes geométricas e histológicas con los aneurismas intracraneales en humanos¹⁰; sin embargo, la historia natural es poco reproducible con este modelo, por su baja incidencia de ruptura espontánea.

Otros modelos se desarrollan mediante técnicas microquirúrgicas, el modelo de injerto venoso, descrito por primera vez por German y Black, se construye a través de la anastomosis de un segmento venoso resecado, a una arteria endógena¹¹, los aneurismas pueden ser laterales o implantados a nivel de las bifurcaciones, cada uno con implicaciones hemodinámicas diferentes.

Este modelo experimental mediante un injerto venoso demostró ser útil en la compresión de los me-

canismos de crecimiento aneurismático y en el desarrollo de modelos de aneurismas gigantes¹².

En el laboratorio de microcirugía experimental a cargo del doctor Gómez-Llata se desarrolló un novedoso modelo experimental de aneurisma utilizando como injerto venoso autólogo a un segmento de la vena cava inferior implantado "*in situ*" a la aorta abdominal en ratas *Wistar*, con algunas ventajas respecto a otros modelos similares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño: se realizó un estudio experimental en ratas, con autocontroles, y un seguimiento a dos meses. Los procedimientos fueron aprobados y realizados de acuerdo a normas del Comité de Bioética institucional y siguiendo los lineamientos para estudios experimentales en animales.

Muestra: se utilizaron ratas cepa *Wistar* macho, (n = 36) con peso de 300 a 350 g, criadas y mantenidas en condiciones ambientales controladas (temperatura 20 a 23°C, y ciclos de luz oscuridad de 12/12 hs).

Se excluyeron los animales que desarrollaron alguna enfermedad tipo infección de vías aéreas o intestinal, y trombosis intraoperatoria del implante aneurismático o falta de permeabilidad del mismo por falla técnica.

Procedimiento: se anestesiaron a las ratas con ketamina 100 mg/kg intraperitoneal, la punción se realizó a la mitad de trayecto de una línea que va del apéndice xifoides al pubis.

Abordaje: bajo efecto anestésico se practicó una incisión a nivel de la línea media aproximadamente de 3.5 cm, se separaron las vísceras abdominales a través del espacio parietocólico izquierdo desplazándolas de izquierda a derecha hasta localizar peritoneo posterior, el cual se disecó para acceder al espacio retroperitoneal, a este nivel se identificó la aorta abdominal con sus respectivas ramas; lumbares, sacra media y bifurcación en ilíacas primitivas, con especial cuidado en no lesionar ninguna de estas ramas, se aisló el segmento infrarrenal de la aorta, y concomitantemente se disecó el segmento más adyacente de la vena cava inferior desde la afluencia de la vena renal izquierda hasta la bifurcación de las venas ilíacas, se aisló un segmento venoso de unos 5 mm, a este nivel se procedió a realizar una ligadura por transfixión de ambos extremos con sutura de Prolene monofilamento de 10-0.

Implantación de aneurisma: se realizó un corte longitudinal con instrumental de microcirugía en el

segmento venoso aislado y se irrigó con solución heparinizada (20 IU/ml). Se aplicaron 2 *clips* transitorios en la aorta abdominal proximal y distal (al mismo nivel del segmento venoso aislado), se hizo una arteriotomía longitudinal y se procedió a realizar una anastomosis latero-lateral al implante venoso con puntos simples de sutura de polipropileno monofilamento (Prolene®) de 11-0, de la porción más profunda o posterior de la anastomosis a la parte más superficial, verificando una tensión adecuada de la sutura. (figura 1B).

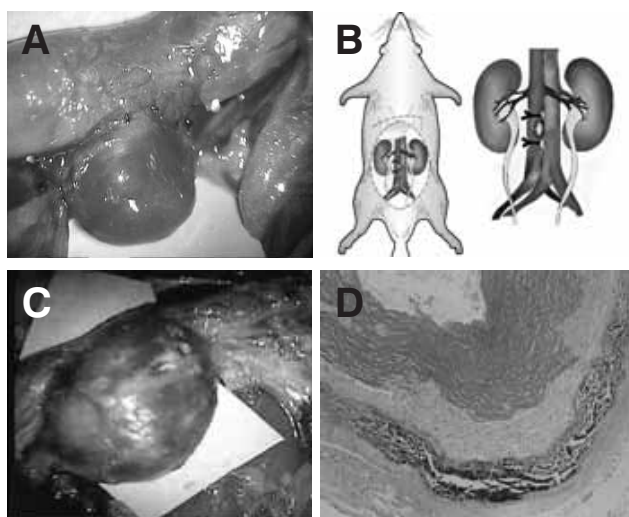


Figura 1. A. Aneurisma de implantación reciente. B. Esquema del tipo de abordaje y la anastomosis entre un segmento de la vena cava inferior y la aorta infrarrenal. C. Aneurisma luego de 2 meses de seguimiento, se observa un incremento del diámetro y la formación de la placa aterosclerótica. D. Análisis histológico del aneurisma se observa trombosis antigua intra-aneurismática, y engrosamiento de la pared a expensas de tejido fibrótico.

Una vez finalizada la implantación del injerto venoso, se retiraron *clips* transitorios primeramente distal y después el proximal verificando la permeabilidad del aneurisma, es decir un llenado completo así como pulsatilidad y la ausencia de fuga por los bordes de la anastomosis. Por último, se procedió al cierre de la pared abdominal y aponeurosis con poliglactina 910 recubierto (Vicryl®) de 4-0 con *surgete* continuo y otro plano en piel con polipropileno monofilamento (Surgilene®) de 4-0.

Se colocó al espécimen en una jaula para rata vigilando su recuperación de la anestesia en laboratorio de cirugía experimental.

Seguimiento: en un sector asignado en especial a cirugía experimental en el bioterio, se mantuvo el seguimiento de las ratas operadas durante dos meses

aproximadamente después se sacrificaron mediante una sobredosis letal de tiopental sódico intraperitoneal, se procedió a extraer el aneurisma implantado y el vaso portador, conservados en paraformaldehído al 4% para su correspondiente análisis histopatológico con la tinción de hematoxilina-eosina.

Análisis estadístico: se realizó un análisis descriptivo con medidas de tendencia central y dispersión de las principales variables cuantitativas. Las variables analizadas fueron; tamaño del aneurisma (*numérica continua*), trombosis intra-aneurismática (*nominal dicotómica*), presencia de placa aterosclerótica (*nominal dicotómica*), número de lobulaciones (*numérica continua*).

Se realizó un análisis bivariado con pruebas paramétricas (*T de student* de muestras dependientes) y no paramétricas (prueba de χ^2 Mantel-Haenszel o prueba exacta de Fisher) según correspondió. Se consideró a una P significativa menor a 0.05, y se utilizó el paquete estadístico *SPSS versión 11*.

RESULTADOS

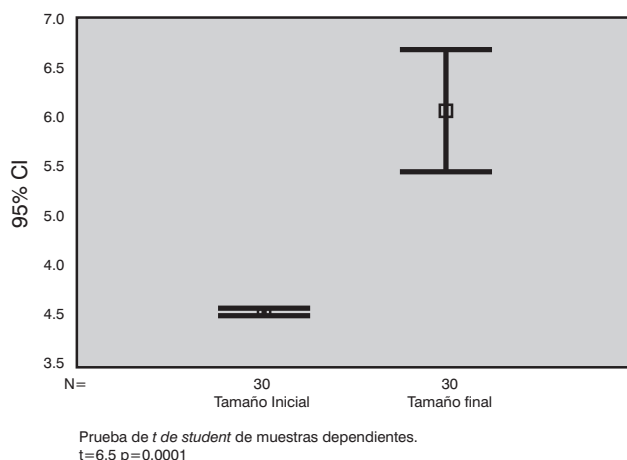
Se operaron un total de 36 ratas, se excluyeron seis por las siguientes causas; muerte intraoperatoria o complicaciones anestésicas (dos ratas), por falta de permeabilidad del aneurisma (una rata), por infección posoperatoria (una rata), y un caso de hemorragia intraperitoneal masiva secundaria a la ruptura del aneurisma implantado.

El diámetro inicial de los aneurismas implantados fue de 4.04 mm en promedio, se corroboró que no existiera ningún trombo intra-aneurismático o alguna placa de aterosclerosis en la pared vascular en la medición basal, la forma del aneurisma fue sacular en todos los casos sin lobulaciones agregadas (figura 1A).

Un total de 30 ratas completaron satisfactoriamente el tiempo de seguimiento de dos meses. La tolerancia a la oclusión de la vena cava inferior fue excelente, ya que se verificó en todos los casos la formación de colaterales venosas a nivel peritoneal que sustitúan el flujo venoso a través de la vena cava inferior ocluida para la formación del aneurisma, y sólo en un caso se corroboró estenosis leve a nivel de la aorta abdominal pre-aneurismática.

Posterior a la disección del aneurisma se observaron cambios macroscópicos evidentes, el diámetro final tuvo una media de 6.03 (1.65 mm), un 70% incrementaron su diámetro y en algunos casos duplicaron el diámetro inicial (gráfica 1).

La forma de los aneurismas fue sacular, con un



Gráfica 1. Modificaciones del diámetro del aneurisma.

crecimiento a expensas del domo y del cuerpo aneurismático, con un cuello definido, la morfología cambio considerablemente, 18 de las ratas presentaron dos o más lobulaciones, y su número se correlacionó al grado de crecimiento aneurismático (gráfica 2 y figura 1C).

En la inspección intraoperatoria también se observó en algunos casos la formación de placas de ateroma a nivel de la pared del aneurisma.

En el análisis histopatológico los aneurismas constaron de paredes engrosadas a expensas de tejido fibroso en especial en los casos que registraban un crecimiento del tamaño inicial, también se corroboró la formación de trombo intra-aneurismático por lo general adosado a la pared del aneurisma, con hemorragias antiguas o recientes, y con múltiples canales vasculares intratrombóticos. En la pared de aneurisma se observó placa de ateroma en 10 ratas (33%) de las cuales nueve incrementaron significativamente su diámetro inicial, la localización de la placa de ateroma fue variable, a nivel de cuello aneurismático 5 ratas y a nivel del domo cuatro ratas (cuadro 1). Otro de los hallazgos importantes fue la presencia de calcificaciones en tres especímenes principalmente a nivel del domo del aneurisma.

Cuadro 1.

Modificación en el diámetro aneurismático	Trombosis intra-aneurismática *		Placa ateromatosa**	
	Presente	Ausente	Presente	Ausente
Si	15	7	9	14
No	2	6	1	6

* Prueba exacta de Fisher p= 0.045 RR =2.73 IC (0.79-9.37).

** Chi2 Mantel-Haenszel p= 0.022 RR= 2.74 IC (0.42-18.04).

DISCUSIÓN

Etiología de los aneurismas: en el transcurso de los años se han planteado diferentes teorías sobre la formación de los aneurismas; Eppinger fue el primero en proponer que los aneurismas se debían a un defecto congénito de las propiedades elásticas de la pared arterial¹³, luego Forbus planteó la teoría del defecto de la media, a través del estudio de pacientes con aneurismas múltiples, describió con detalle los defectos de la capa media a los que denominó "*locus minoris resistentiae*"¹⁴.

Glynn cuestionó esta teoría, bajo el principio que los defectos de la media eran habituales en la población en general y por el contrario los aneurismas cerebrales infrecuentes, de esta forma propuso que *la degeneración de la lámina elástica interna causada por aterosclerosis era el factor más importante en la etiología de los aneurismas*¹⁵.

La teoría degenerativa planteada por Stehbens, también rechazó la teoría del defecto de la media luego de examinar 454 bifurcaciones cerebrales; encontró que estos defectos de la media se presentaban con una frecuencia similar tanto en arterias intracraneales, como extracraneales; sin embargo, la presencia de aneurismas era excepcional en esta última localización, por esta razón dedujo que debería existir un factor adicional para la formación de aneurismas^{16,17}.

Ferguson, sugirió que las condiciones inestables del flujo turbulento generan vibraciones que eventualmente dañarían la pared de la aneurisma¹⁸. Steiger a través de visualizaciones de flujo en modelos de vidrio del aneurisma, concluyó que las vibraciones causadas por la inestabilidad de flujo era uno de los factores más importantes que afectan al crecimiento de los aneurismas¹⁸. Existen otras explicaciones desde variaciones congénitas del polígono de Willis, hasta teorías que se basan en un proceso inflamatorio de la pared aneurismática; no obstante, en la actualidad existe cierto consenso en que los aneurismas cerebrales serían resultado de la interrelación de defectos estructurales de la pared o los ápices vasculares, sumado a un estrés hemodinámico dado por la resistencia al paso del flujo laminar de la corriente.

Modelos de aneurismas: tanto para la investigación de los aspectos etiopatogénicos, o hemodinámicos de los aneurismas cerebrales, así como para el desarrollo de nuevas técnicas de tratamiento, se diseñaron diferentes modelos experimentales de aneurismas, de manera ideal estos modelos deben incluir algunas características; 1. Ser aneurismas de buena calidad, durables, sin trombosis espontánea que

ocluyan el aneurisma. **2.** Perfiles hemodinámicos, de coagulación y de respuesta tisular similares a los aneurismas cerebrales en humanos. **3.** Facilidad en el cuidado del animal, con una técnica microquirúrgica sencilla. **4.** Buen costo-efectividad, y **5.** Adecuada reproducibilidad.

Como ya se comentó, en la actualidad se utilizan básicamente dos tipos de estos modelos experimentales de aneurismas en la investigación. El principio del modelo de elastasa es la destrucción de la lámina elástica interna de la pared vascular para inducir la formación de aneurismas¹⁹, se desarrolla a través de la infusión intra-luminal arterial de elastasa pancreática^{7,8}. Al parecer tiene algunas características histológicas y geométricas similares con los aneurismas intracraneales humanos, en particular por la destrucción de la lámina elástica interna⁹. Ahora, este modelo se está empleando en la investigación de nuevas técnicas de tratamiento endovascular²⁰⁻²³; sin embargo, se ha visto que la frecuencia de ruptura espontánea con este modelo de aneurisma es baja y no reflejan la historia natural de los aneurismas intracraneales en humanos⁴.

Modelos de aneurisma con injerto venoso

Dentro de los modelos desarrollados mediante técnica microquirúrgica, el injerto venoso para la creación de aneurismas experimentales de pared lateral sigue siendo una técnica útil, desde su primera descripción hecha por German-Black¹¹. Fukui también desarrolló un modelo venoso para aneurismas fusiformes a través de un injerto de saco de vena femoral a la arteria carótida de la rata¹².

En estos modelos experimentales desarrollados mediante técnicas microquirúrgicas, el investigador puede manipular el tamaño del saco aneurismático, además se han utilizado ampliamente para estudiar aspectos hemodinámicos²⁴ y moleculares^{25,26} de los aneurismas cerebrales pero, ha sido criticados porque las propiedades biológicas de la arteria y la vena son diferentes¹⁰. Este aspecto se ha tratado de superar a través de la creación de aneurismas combinando el injerto venoso con técnicas de digestión de elastasa interna; sin embargo, requieren de dos técnicas lo que aumenta la complejidad y costo del modelo.

La mayoría de los modelos con técnica microquirúrgica requieren de la toma de injertos en otras localizaciones, (extraída de la vena femoral a la carótida), una de las ventajas principales de este modelo es que el injerto o segmento venoso se encuentra *in situ* o adyacente al lugar de implantación (aorta abdominal), y por lo tanto no requiere de la toma de un

injerto venoso adicional (figura 1).

Un aspecto que se debe valorar en un modelo experimental de aneurisma es su reproducibilidad y viabilidad, técnicamente este modelo es sencillo aunque requiere de precaución en la manipulación venosa por su menor resistencia a la disección. La mortalidad y la falla técnica en diferentes modelos de aneurismas puede llegar a ser incluso del 45%, en este modelo la mortalidad fue del 16% la gran mayoría durante la inducción anestésica o el procedimiento quirúrgico, fueron nulas las muertes durante el seguimiento, excepto por un caso de ruptura espontánea del aneurisma.

En esta investigación se utilizaron ratas Wistar cuyo diámetro de aorta abdominal es comparable a la arteria cerebral media en el humano. Los modelos experimentales de aneurismas que son desarrollados en animales pequeños como conejos o ratas tienen la ventaja de ser más accesibles y menos costosos que otros modelos como el canino o el cerdo^{20,27}.

Mecanismo de crecimiento en el aneurisma

El crecimiento progresivo del saco aneurismático es una característica biológica del comportamiento de los aneurismas cerebrales. El tamaño aneurismático es un factor predictor independiente del riesgo de ruptura²⁸. Los modelos con injerto venoso en este ámbito han demostrado ser útiles ya que las venas tienen una capa muscular media y un esqueleto elástico mucho menos prominente que las arterias y esto permite una distensión y crecimiento del aneurisma implantado²⁹. La distensibilidad de las venas se ha estudiado en modelos experimentales de fistulas arteriovenosas, el agrandamiento de la vena puede llegar a ser hasta de 250% del injerto inicial³⁰. En el reporte de Yang, utilizó un implante venoso con infusión de elastasa, la totalidad de los aneurismas incrementaron su tamaño en dos semanas en promedio de 1.5 veces del tamaño inicial⁴.

Dentro de los mecanismos de crecimiento de los aneurismas gigantes, se ha reportado a la trombosis intra-aneurismática, hemorragias recurrentes entre el trombo y la pared del aneurisma causada por la ruptura de canales vasculares intratrombóticos, por último el daño endotelial secundario a flujo turbulento que incrementa la trombogenicidad del saco aneurismático, que a su vez induce al crecimiento^{12,31}.

En este modelo de aneurismas venosos se registraron estos hallazgos en la mayoría y confirman la posibilidad de crecimiento importante de los implantes venosos en modelos experimentales, también se

constató la presencia de trombo dentro del saco aneurismático que se asoció al crecimiento del aneurisma.

Tipos de aneurismas y oclusión espontánea

En cuanto al tipo de origen, los aneurismas laterales tienen las características hemodinámicas distintas de los aneurismas de la bifurcación o terminales, en los laterales existe un estancamiento del flujo intra-aneurismático que puede ocasionar a su vez un daño intimal y determinar la formación de un trombo, se ha descrito que los aneurismas laterales tienden a trombosarse e incluso se han desarrollado algunas variantes técnicas con un corte oblicuo del injerto para evitar esta complicación³²; sin embargo, existen reportes recientes que indican que la oclusión espontánea en un modelo de aneurisma venoso lateral es de tan sólo del 10%³³, los factores que influyen en la permeabilidad del aneurisma son principalmente tamaño del saco y diámetro del cuello aneurismático. En el presente modelo experimental la oclusión espontánea del aneurisma fue muy baja (sólo una rata), debido a que el tamaño del aneurisma puede ser determinado por el operador, además porque nos aseguramos que el cuello fuera lo suficientemente amplio para evitar la excesiva estasis de flujo intra-aneurismático, por último otro factor fue el flujo directo importante de la aorta abdominal a la vena cava ligada.

Histología de los aneurismas: en un aneurisma cerebral la capa muscular media se interrumpe abruptamente a nivel del cuello y la lámina elástica interna se encuentra fragmentada o ausente. En los aneurismas gigantes la pared suele estar engrosada por tejido conectivo hialino, suele hallarse vasa *vasorum* a nivel de la adventicia, la intima muestra cambios ateroscleróticos con proliferación de músculo liso, existe trombosis de diferentes grados de organización.

Los cambios ateroscleróticos con frecuencia se presentan a nivel del cuello del aneurisma el saco, pudiendo observarse grietas de células grasas, macrófagos con lípidos en su interior y colesterol³⁴. La mayoría de los aneurismas grandes o gigantes contienen lípidos en sus paredes, en forma de infiltrados difusos o áreas de verdaderos ateromas³⁵.

Este hallazgo lo constatamos en un número importante de ratas confirmando el perfil histológico de aneurisma gigante que tiene este modelo experimental.

La superficie interna de la pared del saco aneurismático por lo general carece de un endotelio continuo e intacto, a excepción de los aneurismas más pequeños³⁶⁻³⁸. El engrosamiento de la pared del saco

puede ser muy variable. Como confirmamos en este modelo, los aneurismas grandes o gigantes con paredes engrosadas pueden tener una apariencia laminar, con capas de tejido fibroso envolviendo depósitos de colesterol y hemosiderina con células grasas. Las partes más delgadas del saco aneurismático pueden consistir sólo de endotelio y tejido fibroso adventicial^{2,17}.

En la mayoría de las veces, la ruptura ocurre en la parte más delgada de la pared del saco aneurismático, y los sitios de rupturas previas pueden estar marcados por engrosamientos fibrosos de la pared, así como infiltrados inflamatorios y macrófagos conteniendo hemosiderina en su interior.

Las limitaciones de este modelo son la dificultad para poder realizar controles angiográficos u otros complementarios de imagen, otra es que si bien las características de la vena son favorables para el modelo de aneurisma, la pared venosa no refleja exactamente las características biológicas de un aneurisma, por último a pesar de que la mayoría de los aneurismas aumentan de volumen, este grado de crecimiento del aneurisma es poco predecible.

CONCLUSIONES

El modelo experimental de aneurisma a través de injerto venoso *in situ* a la aorta abdominal en ratas Wistar tiene una incidencia muy baja de oclusión espontánea, se desarrolla mediante una técnica microquirúrgica sencilla, reproducible, y que no requiere de la toma de un injerto venoso adicional. La ligadura de la vena cava inferior es bien tolerada por la formación de canales venosos colaterales, estos aneurismas en su mayoría crecen en directa relación con la presencia de trombosis intra-aneurismática y formación de placas de ateroma.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a María Fernanda Saez Lukes por su valiosa colaboración en la elaboración de este artículo.

REFERENCIAS

1. Wiebers DO, Whisnant JP, Huston III. Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. *Lancet* 2003;362:103-109.
2. Weir B. Unruptured intracranial aneurysms: a review. *J Neurosurg* 1996;1:3-42.
3. Johnston SC, Selvin S, Gress DR. The burden, trends, and demographics of mortality from subarachnoid hemorrhage. *Neurology* 1998; 50:1413-8.

4. Yang X, Wu Z. A novel arterial pouch model of saccular aneurysm by concomitant elastase and collagenase digestion. *J Zhejiang Univ Sci B* 2007;8(10):697-703.
5. Ammirati M, Cozzens J, Eller T, Ciric I, Tarkington J, Rabin E. Technique of experimental aneurysm formation in the rat common carotid artery using the milliwatt carbon dioxide laser and the adventitia patch model. *Neurosurgery* 1986;19:732-4.
6. Quigley MR, Tuite GF, Cozzens JW. Histology and angiography in a bifurcation aneurysm model. *Surg Neurol* 1988; 30:445-51.
7. Cawley CM, Dawson RC, Shengelaia G, Bonner G, Barrow DL, Colohan AR. Arterial saccular aneurysm model in the rabbit. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996 ;17(9):1761-6.
8. Cloft HJ, Altes TA, Marx WF, Raible RJ, Hudson SB, Helm GA, et al. Endovascular creation of an in vivo bifurcation aneurysm model in rabbits. *Radiology* 1999; 213(1): 223-8.
9. Krings T, Moller-Hartmann W, Hans FJ, Thiex R, Brunn A, Scherer K, et al. Refined method for creating saccular aneurysms in the rabbit. *Neuroradiology* 2003; 45(7):423-9.
10. Abruzzo T, Shengelaia GG, Dawson RC, Owens DS, Cawley CM, Gravanis MB. Histologic and morphologic comparison of experimental aneurysms with human intracranial aneurysms. *AJNR Am J Neuroradiol* 1998; 19(7):1309-14.
11. German W, Black S. Experimental production of carotid aneurysms. *New Eng J Med* 1954; 250:104-6.
12. Fukui K, Negoro M, Keino H, Yoshida J. Experimental creation of fusiform carotid artery aneurysms using vein graft in rats. *Neurosurgery* 1998; 43:1419-26.
13. Eppinger H. Pathogenesis (Histogenesis and Aetiologie) der aneurysm. *Arch Klin Chir* 1977 ;35(Suppl 1):1-563.
14. Forbus WD. On origin of miliary aneurysm of the superficial cerebral arteries. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1930; 47:239-84.
15. Glynn LE. Medial defects in the circle of Willis and their relation to aneurysm formation. *J Pathol Bacteriol* 1940; 51:213-22.
16. Stehbens WE. Aneurysm and anatomical variation of cerebral arteries. *Arch Pathol* 1963; 75:45-64.
17. Stehbens WE. Histopathology of cerebral aneurysms. *Arch Neurol* 1863; 8:272-85.
18. Ferguson GG. Turbulence in human intracranial saccular aneurysm. *J Neurosurg* 1970; 33:485-7.
19. Strother CM, Graves VB, Rappe A. Aneurysm hemodynamics: an experimental study. *AJNR Am J Neuroradiol* 1992; 13(4):1089-95
20. Dai D, Danielson MA, Kadirvel R, Lewis DA, Cloft HJ, Kallmes DF. Histopathologic and immunohistochemical comparison of human, rabbit, and swine aneurysms embolized with platinum coils. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005; 26(10):2560-8.
21. Hans FJ, Krings T, Moller-Hartmann W, Thiex R, Pfeffer J, Scherer K. Endovascular treatment of experimentally induced aneurysms in rabbits using stents: a feasibility study. *Neuroradiology* 2003;45(7):430-4.
22. Kallmes DF, Helm GA, Hudson SB, Altes TA, Do HM, Mandell JW, et al. Histologic evaluation of platinum coil embolization in an aneurysm model in rabbits. *Radiology* 1999; 213(1):217-22.
23. Byrne JV, Hubbard N. A Novel two-stage technique for construction of experimental Aneurysms. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004;25:319-21 .
24. Hashimoto T. Flow velocity studies in vein pouch model aneurysms. *Neurol Res* 1993; 15(3):185-91.
25. Hong L, Miyamoto S, Yamada K, Hashimoto N, Tabata Y. Enhanced formation of fibrosis in a rabbit aneurysm by gelatin hydrogel incorporating basic fibroblast growth factor. *Neurosurgery* 2001; 49(4):954-60.
26. Raymond J, Ogoudikpe C, Salazkin I, Metcalfe A, Gevry G, Chagnon M. Endovascular treatment of aneurysms: gene expression of neointimal cells recruited on the embolic agent and evolution with recurrence in an experimental model. *J Vasc Interv Radiol* 2005; 16(10):1355-63.
27. Shin YS, Niimi Y, Yoshino Y, Song JK, Silane M, Berenstein A. Creation of four experimental aneurysms with different hemodynamics in one dog. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005; 26(7):1764-7.
28. Juvela S. Natural history of unruptured intracranial aneurysms: risks for aneurysm formation, growth, and rupture. *Acta Neurochir Suppl* 2002; 82:27-30.
29. Miskolczi L, Guterman LR, Flaherty JD, Szikora I, Hopkins LN. Rapid saccular aneurysm induction by elastase application in vitro. *Neurosurgery* 1997;41:220-9.
30. Hassler W. Hemodynamic aspects of cerebral angiomas. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 1986; 37:1-126.
31. Schubiger O, Valavanis A, Wichmann W. Growth-mechanism of giant intracranial aneurysms. Demonstration by CT and MR imaging. *Neuroradiology* 1987; 29:266-71.
32. Yoshino Y, Niimi Y, Song J, Khoyama S, Shin Y, Berenstein A. Preventing spontaneous thrombosis of experimental sidewall aneurysms. The oblique cut. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005; 26:1363-5.
33. Turk AS, Aagaard-Kienit D, Niemann D, Consigny A, Rappe J, Grinde CM. Natural History of the Canine Vein Pouch Aneurysm Model. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28:531-2.
34. Crompton MR. Mechanism of growth and rupture in cerebral berry aneurysms. *Br Med J* 1966;1:1138.
35. Sekhar LN, Heros RC. Origin, growth and rupture of saccular aneurysms. *Neurosurgery* 1981; 8:248-259.
36. Suzuki J, Ohara H. Clinicopathological study of cerebral aneurysms. *J Neurosurg* 1978; 48:505.
37. Weir BK. Intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage: An overview , in Wilkins RH, Rengachary SS. *Neurosurgery*. New York, Mc Graw-Hill.1985.
38. Crompton MR. The pathogenesis of cerebral aneurysms. *Brain* 1966 ;89:796-8.