

**Aus der Abteilung für  
Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Transplantationschirurgie der chirurgischen  
Klinik des Universitätsmedizin Rostock  
Direktor: Univ.- Prof. Dr. med. C. Schafmayer**

**Unterdrucktherapie als neue Therapieoption bei der  
Behandlung von transsphinktären Analfisteln.  
Anwendung in einem porcinen Modell**



**Inauguraldissertation**

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von  
**Imad Kamaleddine**  
geboren am 01.09.1979 in Srifa, Libanon

**Rostock, 20.10.2021**

Dekan: Prof. Dr. med. univ. Emil C. Reisinger, MBA

- 1. Gutachter: Univ. Prof. Dr. med. C. Schafmayer, MBA**
- 2. Gutachter: Prof. Dr. med. G. Lamprecht**
- 3. Gutachter: Prof. Dr. med. M. Ellrichmann, MHM**



*To those who believed in me the most,*

*My Family,*

*Houda, Mohamad, Ahmad, Souleiman and Firas*

*To the most amazing coincidence that ever happened to me ...*

*Meeting you in India,*

*To my Friend, lovely Wife and my Teammate ....*

*Magdalena*

*To the patients who I tried to heal,*

*in Damascus, Beirut, Paris and Rostock, from wherever you were ...*

*“I will continue learning”*

*Imad*

*Rostock-Germany, 2021*

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1. Historischer Hintergrund von Analfisteln .....	1
1.2. Anatomie des Analkanals .....	2
1.3. Ätiologie von Analfisteln .....	3
1.4. Epidemiologie der Analfisteln.....	4
1.5. Klassifikation der Analfisteln .....	4
1.6. Beschwerdesymptomatik und Diagnostik .....	6
1.7. Therapieverfahren und Operationstechniken.....	7
1.7.1. Klassische Fistelspaltung (Fistulotomie; Fistulotomy: Lay-open Technik) .....	7
1.7.2. Fistelexzision (Fistulektomie; Fistulectomy) mit und ohne plastischen Fistelverschluss (Endorectal Advancement Flap).....	8
1.7.3. Fadendrainage (Loose Seton).....	8
1.7.4. Fistelverschluss durch Fibrinklebung, Plug, und OTSC .....	9
1.7.5. Ablation von Analfisteln durch LIFT (Ligation of the intersphincteric Fistula Tract ± Biomesh) und VAAFT (Videoassistierte Analfisteltherapie; Video-Assisted Anal Fistula Tract ablation).....	10
1.7.6. Stammzelltherapie (Stem cell Therapy) .....	11
1.7.7. Unterdrucktherapie (Vakuumtherapie; Vacuum Therapy).....	11
<b>2. Problemstellung und Zielsetzung .....</b>	<b>18</b>
2.1. Problemstellung .....	18
2.2. Zielsetzung der Arbeit.....	18
<b>3. Material und Methoden.....</b>	<b>19</b>
3.1. Versuchsdesign.....	19
A. Standort .....	20

B. Genehmigung .....	20
<b>3.2. Versuchstiere .....</b>	<b>20</b>
3.2.1. Stallung .....	21
3.2.2. Tierhaltung und Pflege .....	21
3.2.3. Technische Hilfsmittel .....	22
3.2.4. Endofistulärer Vakuumtherapie-Schwamm (EFVT-Schwamm) .....	22
3.2.5. Unterdruckpumpe und Kanister ATMOS® S 042 NPWT .....	24
3.2.6. Applizierte Medikamente .....	25
<b>3.3. Versuchsdurchführung .....</b>	<b>25</b>
3.3.1. Anästhesie .....	25
3.3.2. Monitoring und hämodynamische Messungen .....	25
3.3.3. Ablauf der Operation zur Fistelbildung .....	26
3.3.4. MRT Verfahren und Beobachtungen .....	28
3.3.5. Behandlungsphase mit EFVT-Schwamm .....	28
3.3.6. Die Untersuchungsparameter .....	34
<b>4. Statistische Auswertung .....</b>	<b>37</b>
<b>5. Ergebnisse .....</b>	<b>38</b>
<b>5.1. Plan der Phase 1 (Pilotschwein) .....</b>	<b>38</b>
5.1.1. Ergebnisse der Phase 1 .....	38
<b>5.2. Plan der Phase 2 (Tierversuch) .....</b>	<b>38</b>
5.2.1. Ergebnisse der Phase 2 .....	39
<b>6. Diskussion .....</b>	<b>48</b>
<b>6.1. Vakuumtherapie .....</b>	<b>48</b>
<b>6.2. Überprüfung der Methodik .....</b>	<b>49</b>
A. Modelletablierung .....	49
B. Chirurgie, MRT, Schwamm und Pumpe .....	50

---

<b>6.3. Ergebnisse .....</b>	<b>51</b>
<b>6.4. Kritik der Studie .....</b>	<b>53</b>
<b>7. Zusammenfassung .....</b>	<b>54</b>
<b>8. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>55</b>
<b>9. Anhang .....</b>	<b>62</b>
<b>9.1. Nationale- und EU Richtlinie .....</b>	<b>62</b>
<b>9.2. Detail der Tiere.....</b>	<b>62</b>
<b>9.3. Nahtmaterial.....</b>	<b>63</b>
<b>9.4. Applizierte Medikamente .....</b>	<b>63</b>
<b>9.5. Protokoll der Anästhesie .....</b>	<b>64</b>
<b>9.6. Werteskala zu den klinischen Beobachtungen .....</b>	<b>65</b>
<b>9.7. Plan der Phase 1 .....</b>	<b>67</b>
<b>9.8. Gewichtsverlauf der Tiere.....</b>	<b>67</b>
<b>9.9. Ergebnisse der Blutabnahme .....</b>	<b>68</b>
A. „SUS 675“ .....	68
B. „SUS 680“ .....	69
C. „SUS 683“ .....	70
<b>9.10. Histopathologische Tabellen.....</b>	<b>71</b>
<b>9.11. Radiologisches Beispiel .....</b>	<b>72</b>
<b>10. Abbildungen.....</b>	<b>74</b>
<b>11. Tabellarischer Lebenslauf .....</b>	<b>83</b>
<b>12. Danksagung .....</b>	<b>85</b>
<b>13. Selbstständigkeitserklärung.....</b>	<b>86</b>

<b>14. Thesen zur Dissertation .....</b>	<b>87</b>
<b>15. Geplante Publikation .....</b>	<b>90</b>

## 1. Einleitung

### 1.1. Historischer Hintergrund von Analfisteln

Die Analfistel ist eine vielfach beschriebene Krankheit, welche bereits seit der Zeit von Hippokrates (460-370 v. Chr.) bekannt ist [1].

Verschiedene Therapiemethoden wurden seitdem beschrieben, wie zum Beispiel die lokale Anwendung einer Mixtur aus Knoblauch, Wurzeln und Honig, sowie Fistelsspaltung und Fadendrainage [2][3]. Diverse Chirurgen auf der ganzen Welt von Abulcasis (936-1006) bis John of Arderne (1207-1290), dem Vater der Proktologie, erfanden Maßnahmen und Instrumente (Abb.1,2), um insbesondere auch die chronischen und rezidivierenden Aspekte der Erkrankung zu heilen [1][4].

Zu den bekanntesten Patienten gehörte zum Beispiel der französische König Ludwig XIV (1638-1715). Er wurde von Charles-François Félix (1635-1703) erfolgreich in Versailles operiert. Zuvor hatte Félix 75 Operationen an Gefangenen, die an perianalen Symptomen litten, durchgeführt - von denen jedoch einige postoperativ starben [1][5].

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts publizierte Arthur W. Elting die erste Methode einer minimal invasiven Fisteloperation mit dem Ziel, den Analsphinkter zu erhalten, um das Inkontinenzrisiko zu senken [6].

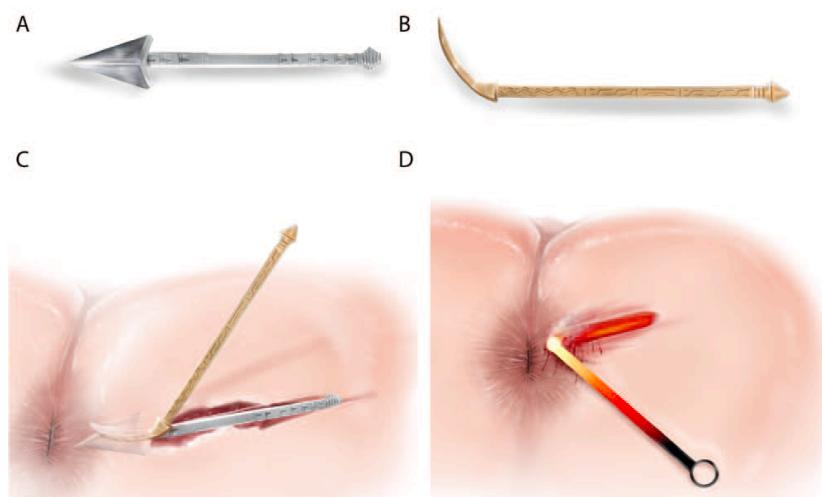


Abb.1: Die Fistulotomie nach Abulcasis erfolgte mit der Verwendung einer spatenförmigen Führung (A) mit einem sickelförmigen Rasiermesser (B). Die Blutstillung wurde durch einen flammenden Feuerhaken gesichert (D) [1].

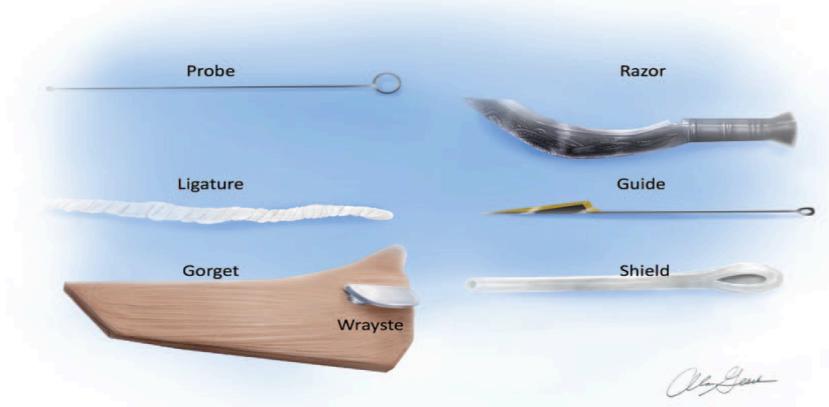


Abb.2: Instrumente von John Arderne [1].

## 1.2. Anatomie des Analkanals

Zum Verständnis der Pathogenese der Analfisteln sowie zur Vermeidung intraoperativer Verletzungen, sind profunde Kenntnisse der Anatomie des Analkanals unerlässlich [7]. Der anale Sphinkterapparat wird von inneren sowie äußeren Anteilen gebildet (Abb.3).

Der Musculus sphincter ani internus ist eine autonom innervierte Verstärkung der zirkulären Fasern der Muscularis propria des unteren Rektums. Der kräftigere Musculus sphincter ani externus hingegen ist eine Fortsetzung der willkürlichen und quergestreiften Beckenbodenmuskulatur. Zwischen den beiden Sphinktermuskeln liegt der Musculus corrugator ani, dessen Muskelfasern fächerförmig in die perianale Haut einstrahlen [8].

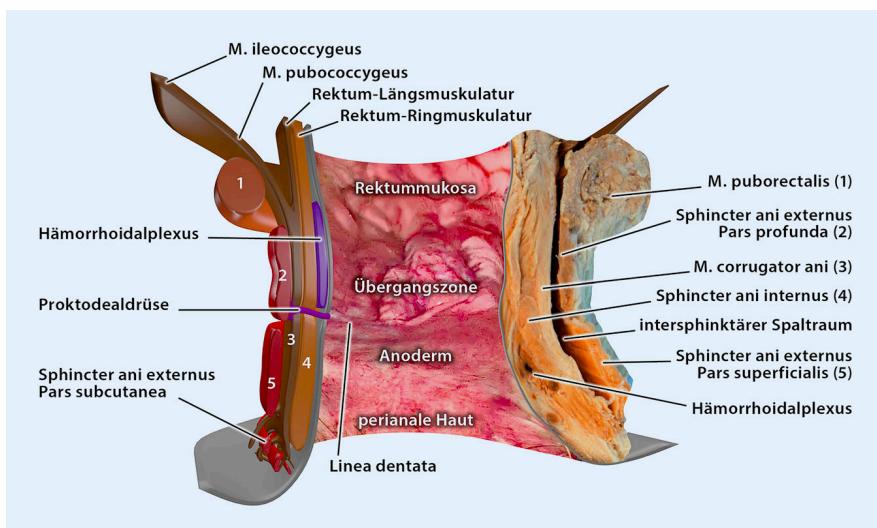


Abb.3: Anatomie des Analkanals (Frontalschnitt) . Kombinierte Darstellung des Analkanals, zusammengesetzt aus anatomischem Präparat (rechts), videoproktoskopischem Bild (Innenrelief) und einer Schemazeichnung (links) [7].

Der M. sphincter ani externus ist in eine Pars subcutanea, Pars superficialis und Pars profunda unterteilt. Die Pars profunda legt sich eng an den M. puborectalis an und ist ventral nicht vollständig geschlossen [9]. Der M. levator ani bildet den Beckenboden und begrenzt die Fossa ischiorectalis nach kranial. Er setzt sich aus den Musculi puborectalis, ischiococcygeus, pubococcygeus und iliococcygeus zusammen [10].

Die innere Auskleidung des Analkanals ist in vier verschiedene Schleimhautzonen unterteilt: Zona colorectalis, Zona transitionalis, Zona squamosa und Zona perianalis. Die untere Grenze der Zona transitionalis ist in der Regel scharf durch die Linea dentata abgesetzt [11]. In dieser Ebene befinden sich die Analkrypten (Morgagni-Krypten), welche die Ausführungsgänge der baumartig verzweigten Proktodealdrüsen darstellen. Die Tiefe der Drüsen variiert innerhalb der Wand des Analkanals und reicht zum Teil bis in den intersphinktären Raum. Lilius zeigte 1968, dass die Proktodealdrüsen beim erwachsenen Menschen lediglich in zwei Dritteln der Fälle ausgebildet sind [12]. Geschlechtsspezifisch sind die Proktodealdrüsen bei Männern zu 64% und bei Frauen zu 57% vorhanden [12]. In den Drüsen wird Mucin gebildet, welches zur Lubrikation beiträgt [11][12][13][14].

### 1.3. Ätiologie von Analfisteln

Hippokrates vermutete noch, dass Analfisteln durch ein lokales Trauma zum Beispiel beim Reiten oder Rudern verursacht werden. Diese Hypothese wurde jahrhundertelang beibehalten, bis Chiari 1878 die kleinen Drüsen in der Analwand entdeckte und vermutete, dass sie die Ursache für Analfisteln sind [15]. 1956 nahm Eisenhammer an, dass Fisteln durch eine intersphinktäre Infektion der kryptoglandulären Drüsen verursacht werden [16]. Parks bestätigte diese Hypothese im Jahr 1961 und führte als erster eine vollständige anatomische Studie durch, aus der hervorging, dass der Mensch über 6 bis 10 Drüsen verfügt, die gleichmäßig über die Zirkumferenz des Analkanals verteilt sind und in die Analkrypten enden. Ihre Gänge münden in die subepitheliale Schicht und sind mit mehrschichtigem Zylinderepithel ausgekleidet. Die von ihm untersuchten Fistelgänge wiesen ebenfalls ein analdrüsenartiges Schichtepithel auf [13]. Seow-Choen stellte 1994 fest, dass das früher berichtete überwältigend hohe Auftreten von inneren Öffnungen an der Sechs-Uhrzeigerposition bei Steinschnittlage (SSL) nicht gefunden wurde. Er beschrieb jedoch, dass das Sekret von Drüsen, deren Ausführungsgang blockiert ist, andere Wege des geringsten Widerstandes entlang der Muskelfasern zwischen innerem

und äußerem Analsphinkter nimmt und dadurch Abszesse, sogenannte Perianalabszesse, entstehen [17].

Trotz langjähriger Kenntnisse zur Entstehung von Analfisteln und perianalen Abszessen konnte bis heute die geringe Inzidenz dieser Erkrankungen beim weiblichen Geschlecht nicht abschließend geklärt werden. Ursächlich hierfür ist möglicherweise die antiinflammatorische Wirkung von Östrogen, welches nicht nur die Produktion proinflammatorischer Zytokine, wie beispielsweise TNF-alpha, hemmt, sondern auch den proinflammatorischen Eigenschaften der Lipopolysaccharid-Komponenten gramnegativer Bakterienzellwänden entgegenwirkt [18]. Neben der oben beschriebenen kryptoglandulären Genese, können mehrere Ursachen wie zum Beispiel Morbus Crohn, perianale Traumata, sexuell übertragbare Erkrankungen, Entzündungen (Bartholindrüsenabszesse bei Frauen, Hidradenitis suppurativa), sekundäre periproktitische Fistelostien beim ausgedehnten Sinus pilonidalis sowie eine Tuberkulose oder Aktinomykose Analfisteln hervorrufen [19].

#### 1.4. Epidemiologie der Analfisteln

Bei Analfisteln handelt sich um ein Krankheitsbild des jüngeren Erwachsenen mit einem Erkrankungsgipfel zwischen 30-50 Jahren [20][21]. Männer erkranken deutlich häufiger als Frauen. Sainio untersuchte in seiner Arbeit 1984 die Epidemiologie anhand der Bevölkerung Helsinkis und zeigte eine geschlechtsspezifische Inzidenz von 12,3/100.000 bei Männern und 5,6/100.000 bei Frauen bei einem mittleren Erkrankungsalter von 38,3 Jahren. Die häufigste Ursache waren kryptoglanduläre Abszesse [22].

2007 untersuchten Zanotti et al. die Inzidenz der Analfisteln in vier europäischen Ländern (Spanien, Italien, Deutschland und Großbritannien). Die niedrigste Inzidenz zeigte sich in Spanien mit 1,04 pro 10.000 Einwohner/Jahr und die höchste in Italien mit 2,32 pro 10.000 Einwohner/Jahr [23].

#### 1.5. Klassifikation der Analfisteln

Milligan & Morgan klassifizierten 1934 in hohe und niedrige Fisteln, wobei die innere Öffnung über oder unter der Linea dentata liegt [24]. Diese einfache Einteilung ermöglicht keine Aussage zum Fistelgangverlauf. In der Therapie hatte sich gezeigt, dass eine

Nichtbeachtung des Fistelgangverlaufs zu vermehrten Rezidiven führt. Stelzner nahm 1959 bereits eine Einteilung in intramuskuläre, transsphinktäre und extrasphinktäre Fistelverläufe vor [25].

Die nachfolgende Klassifikation von Parks 1976 hat sich im klinischen Alltag bewährt und findet auch heute noch Verwendung [26]. In der deutschen S3-Leitlinie erfolgte die Modifikation dieser Klassifikation nach Ommer [27].

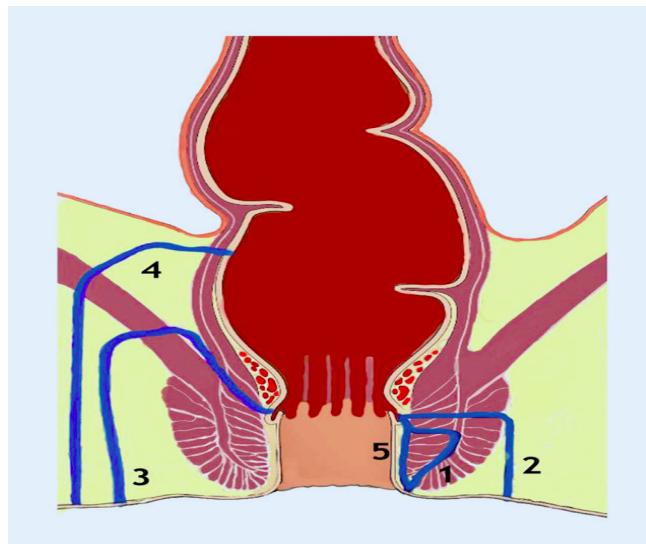


Abb.4: Klassifikation der Analfisteln nach Ommer: 1 intersphinktär, 2 transsphinktär, 3 suprasphinktär, 4 extrasphinktär, 5 subanodermal. S3-Leitlinie: Kryptoglanduläre Fisteln [27].

Typ I: Die häufigste Fistelform, welche ausgehend von der Kryptendrüse mit ihrem Ausführungsgang auf Höhe der Linea dentata mit Verlauf im **intersphinktären** Spalt nach distal und neben dem Analkanal in die perianale Haut mündet.

Typ II: Durchbohrung des M. sphincter ani externus (**transsphinktär**) in die Fossa ischioanalisis und Mündung in die perianale Haut.

Eine Sonderform stellt die Hufeisenfistel dar, welche äußere Öffnungen auf beiden Glutealseiten aufweist und deren inneres Ostium bei 6 oder 12 Uhr SSL liegt. Insgesamt ist die Differenzierung zwischen inter- und transsphinktärem Verlauf nicht immer eindeutig.

Typ III: Zunächst Verlauf im intersphinktären Raum nach kranial in die Fossa pelvirectalis (**suprasphinktär**) mit anschließendem Durchbohren des M. levator ani nach kaudal und Verlauf durch die Fossa ischiorectalis mit Mündung in der perianalen Haut.

Typ IV: Die innere Mündung der Fistel liegt hier nicht auf Höhe der Linea dentata. Die Beziehungen zum Sphinkter sind unterschiedlich beziehungsweise teilweise besteht kein Kontakt (**extrasphinktär**). Auch ein direkter Verlauf vom Abdomen durch das Mesorektum, den M. levator ani und die Fossa ischiorectalis ist möglich. Am häufigsten ist dieser seltene Typ mit anderen Krankheiten verbunden, wie Morbus Crohn, anorektalen Malignomen, Divertikulitiden oder in Folge einer lokalen Strahlentherapie [19]. Typ IV Fisteln betreffen nicht den Schließmuskelapparat.

Typ V: Als Modifikation wurde zusätzlich die subkutane **subanodermale** oder submuköse Analfistel klassifiziert [27]. Es besteht keine direkte Beziehung zum Schließmuskel. Meist werden diese Fisteln in Zusammenhang mit Fissuren des Anoderms diagnostiziert [28].

Eine Sonderform der perianalen Fistel ist die rektovaginale Fistel mit einer Verbindung zwischen dem Anorektum und der hinteren Vaginalwand.

Analfisteln können auch in Bezug auf die äußere Öffnung und die Horizontallinie in SSL in anteriore und posteriore Analfisteln eingeteilt werden. Fisteln ventral der Äquatorialebene (Linie von 3-9 Uhrzeigerpositionen SSL) verlaufen radiär und gerade zur Linea dentata, und Fisteln dorsal dieser Linie ziehen in einer nach hinten geschwungenen Kurve und münden in den Analkanal bei 6 Uhrzeigerposition SSL ein (Goodsall'sche Regel) [29].

Obwohl in der proktologischen Literatur häufig die Begriffe einfache und komplexe Analfisteln verwendet werden, liegt für beide Begriffe keine einheitliche Definition vor.

Meist werden die proximalen transsphinktären und suprasphinktären Fisteln als hohe oder komplexe Fisteln bezeichnet.

Die Klassifizierung der Fisteln erfolgt klinisch durch die proktologische Untersuchung sowie durch Endosonografie (EUS) oder Magnetresonanztomografie (MRT). Die korrekte Klassifizierung ist unerlässlich für die Wahl des therapeutischen Vorgehens.

## 1.6. Beschwerdesymptomatik und Diagnostik

Die Patienten leiden unter einer perianalen Absonderung von wässrigem, eitrigem und manchmal kotigem oder blutigem Sekret durch das äußere Fistelostium. Zudem wird meistens eine perianale reizende Kontaktdermatitis beklagt. Andere mögliche Beschwerden sind unterschiedlich starke Schmerzen beim Sitzen, Gehen oder beim

Stuhlgang, sowie eine unkontrollierte Flatulenz. Häufig kommt es zu erneuter Ansammlung von Sekreten mit einer schmerzhaften perianalen Schwellung und möglicherweise systemischen Symptomen wie Fieber und Schüttelfrost bei Abszedierung [30].

Die wichtigsten diagnostischen Maßnahmen sind die digitale Untersuchung und die Sondierung der Fistel.

Eine Proktoskopie oder Rektoskopie bei perianalem Abszess zur Suche eines inneren Fistelostiums ist präoperativ nicht erforderlich [27], sollte aber intraoperativ Standard sein. Anschließend wird in der Regel die Indikation zur Untersuchung unter Narkose (Examination Under Anesthesia: EUA) gestellt.

Die endgültige Klassifikation sollte intraoperativ anhand der klinischen Untersuchung, Sondierung und ggf. Anfärbung erfolgen [31][32].

Insbesondere bei komplexen oder rezidivierenden Fisteln empfiehlt sich die zusätzliche Diagnostik. Durch die Strahlenbelastung und letztendlich auch dem Vorhandensein von diagnostisch geeigneteren Methoden sind die Fistulografie und die Computertomografie als obsolet anzusehen [33][34]. Die Endosonografie stellt eine wichtige Untersuchung dar, mit der der Fistelverlauf dargestellt werden kann. Durch die Kontrastierung der Fistel mit Wasserstoffperoxid  $H_2O_2$  kann die Aussage der Endosonografie (EUS) noch verbessert werden [35][36]. Die Magnetresonanztomografie (MRT) kann mit oder ohne i.v. Kontrastmittel oder mittels einer endorektalen Füllung durchgeführt werden. Das entsprechende Protokoll beinhaltet T2-gewichtete und fettunterdrückte Sequenzen in coronaler und axialer Schnittführung. Im Laufe der Jahre wurden mehrere Protokolle, wie diffusionsgewichtete Sequenzen entwickelt [37]. Nach Schwartz et al. zeigten die MRT, die EUS und die EUA eine ähnliche Genauigkeit von 87-91%, die durch Kombination zweier von drei Modalitäten auf 100% erhöht kann [32].

## 1.7. Therapieverfahren und Operationstechniken

Grundsätzlich stellt die Diagnose einer Analfistel eine Operationsindikation dar.

Im Nachfolgenden sollen die wichtigsten Operationsverfahren kurz dargestellt werden.

### 1.7.1. Klassische Fistelspaltung (Fistulotomie; Fistulotomy: Lay-open Technik)

Die Fistelspaltung wird am häufigsten durchgeführt. Sie ist bei oberflächlichen Fisteln,

die lediglich einen kleinen Teil der Schließmuskulatur umfassen, indiziert. Die Fistel wird sondiert und das über der Fistel gelegene perianale Gewebe gespalten. Das perifistuläre Gewebe wird exzidiert und der Fistelgrund mit einer Kürette ausgekratzt. Die assoziierte Inkontinenzrate ist niedrig, steigt aber mit dem Typ der Analfistel (37% bei Typ I, 54% bei Typ II und 80% bei Typ III) [38].

### **1.7.2. Fistelexzision (Fistulektomie; Fistulectomy) mit und ohne plastischen Fistelverschluss (Endorectal Advancement Flap)**

Die Fistelexzision besteht aus der Darstellung des Fistelganges, der äußeren sowie inneren Öffnung bis zum Sphinkterapparat, gefolgt von der kompletten Exzision der Fistel, gegebenenfalls mit anschließendem Primärverschluss der Muskellücken. Dieses Verfahren wurde 1970 von Mason beschrieben [39].

Diese Operation kann auch mit einem plastischen Fistelverschluss kombiniert werden (Endorectal Advancement Flap): Hier wird bei der Exzision des Fistelganges auf die Erhaltung der gesamten muskulären Zirkumferenz sowie des äußeren als auch des inneren Schließmuskels geachtet. Das Granulationsgewebe wird mit dem scharfen Löffel entfernt. Die frühere innere Öffnung der Fistel wird mit Einzelknopfnähten verschlossen. Diese Nähte sollen die Schichten des M. sphincter ani internus umfassen, anschließend erfolgt die Mobilisation eines Mukosa-Submukosalappens in einer Größe von ca. 3-4 cm und wird als Deckung des muskulären Verschlusses genutzt.

Historisch wurde 1912 durch Elting erstmals über die Anwendung dieser Technik bei Analfisteln berichtet [6].

Neben dem Mukosa-Submukosa Flap stehen auch folgende Deckungsmöglichkeiten zur Verfügung: der Anoderm-Flap und der transperineale (trans-vaginale) Verschluss mit Interposition des M. levator ani [40].

Hinsichtlich der postoperativen Inkontinenzrate von 2-23 % sind beide Operationstechniken gleichwertig [41].

### **1.7.3. Fadendrainage (Loose Seton)**

Die Fadendrainage ist eine der am häufigsten angewandten Verfahren in der Analfistelchirurgie [27].

Die Fadendrainage nach Hippokrates „cutting seton“ ist heute obsolet. Hier wurde ein Faden so fest um den Schließmuskel gespannt, dass eine langsame Durchtrennung des Sphinkterapparates durch das Fremdmaterial und eine gleichzeitige schrittweise narbige Verheilung der durchtrennten Muskelstümpfe resultieren sollte. Heutzutage sind dünne Silikonzügel zu bevorzugen, deren Enden zu einer lockeren Schlaufe verknotet werden. Während einer Abszessinzision und beim Nachweis einer höheren Fistel ist die Indikation zur Fadendrainage als Stabilisierung des Fistelganges sowie als Vorbereitung der späteren definitiven Sanierung gegeben.

Obwohl die temporäre Drainage ein nützlicher erster Schritt ist, sinkt die Erfolgsrate mit der Zeit. Nach 5 Jahren sind 75% der Fisteln wieder offen. Deswegen kann diese Methode nicht immer als endgültige Behandlung dienen [42].

#### **1.7.4. Fistelverschluss durch Fibrinklebung, Plug, und OTSC**

Die Okklusion der Analfistel mit Biomaterialien stellt eine neue Methode der Behandlung von transsphinktären und suprasphinktären Fisteln dar.

##### **a. Fibrinkleber**

Im Jahr 1991 wurde erstmals die Applikation von Fibrinkleber in den kürettierten Fistelgang beschrieben [43]. Die ersten Ergebnisse waren erfolgsversprechend mit Verschlussraten bis zu 70% und ohne negative Beeinträchtigung der Schließmuskelfunktion [44]. Im weiteren Verlauf zeigte jedoch die Arbeit von Lougnarath eine erhöhte Rezidivrate und lediglich eine Verschlussrate von 31% [45]. In einer anderen Arbeit war die Fadendrainage der Therapie mit Fibrinklebern bei transsphinktären Fisteln signifikant überlegen [46].

##### **b. Fistelplug**

Im Jahre 2006 wurde durch US-amerikanische Proktologen ein neues OP-Verfahren in Form einer Okklusion des Fistelganges mittels des sog. Fistelplug aus resorbierbarem Kunststoff entwickelt. Dabei wird das Fistelgewebe ausgekratzt, bevor der Plug appliziert wird [47]. Johnson hat 2006 in einer prospektiven Studie den Fistelplug mit Fibrinklebung verglichen. Hierbei war die Therapie mit Fistelplug verlässlicher und effizienter [48]. Eine randomisierte kontrollierte Studie aus Großbritannien zeigte 2019, dass der Fistelplug

keine Überlegenheit im Vergleich zur Therapie-Präferenz beteiligter Chirurgen (Fistulotomie, Fadendrainage, Verschiebelappen oder Ablation von Analfisteln durch Ligatur des intersphinktären Fisteltraktes (LIFT)) aufweist [49].

### **c. OTSC**

Die OTSC-Technik (Over-The-Scope-Clip) wird seit 2007 als eine endoskopische Methode zur Behandlung von Perforationen im Gastrointestinaltrakt eingesetzt [50]. 2012 wurde erstmals die mögliche Anwendung bei Analfisteln in einem porcinen Modell mit erfolgversprechenden Ergebnissen beschrieben [51]. In einer großen multizentrischen Studie zeigte die Fistelokklusion mittels OTSC eine Heilungsrate bei 87 % bei niedriger Komplikationsrate und gutem Kontinenzerhalt innerhalb einer Nachbeobachtungszeit von 26 Wochen [52]. Weitere randomisierte Kontrollstudien zur Bestätigung dieser vielversprechenden Ergebnisse sind noch notwendig.

## **1.7.5. Ablation von Analfisteln durch LIFT (Ligation of the intersphincteric Fistula Tract ± Biomesh) und VAAFT (Videoassistierte Analfisteltherapie; Video-Assisted Anal Fistula Tract ablation)**

### **a. LIFT**

Die Ligatur des intersphinktären Fisteltraktes (LIFT) wurde 2007 vom thailändischen Chirurgen A. Rojanasakul beschrieben [53]. Die Technik beinhaltet die Präparation im intersphinktären Raum, die Ligatur des fibrosierten Fistelganges in zwei Richtungen (zum M. sphincter ani internus und externus) sowie die Durchtrennung des Fistelganges zwischen den Ligaturen. Erste Ergebnisse zeigten, dass bei über 90 % der Patienten mit einer transsphinktären Fistel eine Fistelheilung erreicht werden konnte. Im Verlauf wurden mehrere Modifikationen beschrieben. Ellis hat 2010 das zusätzliche Einbringen eines Biomeshs publiziert [54]. Nach Dissektion des intersphinktären Raumes über eine paraanale Inzision wird eine 4 x 7 cm große Biomembran (Surgisis-Biodesign©) eingebracht. Bei einer Kohorte von 31 Patienten wurde eine primäre Heilungsrate von 94% beschrieben. Allerdings zeigen neuere Studien, die das LIFT-Verfahren ebenfalls untersucht haben, eine Heterogenität der Erfolgsrate von 47-94% abhängig von der chirurgischen Methodik [55]. Vor allem die Höhe der Fistel, aber auch ihr Durchmesser und

das Vorhandensein intersphinktärer nicht-drainierter Abszesse beeinflussen die Ergebnisse der Operation.

#### **b. VAAFT (videoassistierte Anafisteltherapie)**

Bei der videoassistierten Anafisteltherapie („Video Assisted Anal Fistula Therapy“, VAAFT) wird über ein 2 oder 3 mm dünnes Endoskop der Fistelgang dargestellt und gespült. Über einen Arbeitskanal kann unter Sicht das Fistelgewebe mit monopolarer Koagulation zerstört werden. Das innere Ostium wird entweder mit einem plastischen Verschluss oder einem „linearen Stapler“ verschlossen. Einzelne Studien zeigten vielversprechende Ergebnisse, problematisch bleiben aber noch die erheblichen Kosten und das Fehlen größerer, randomisierter Kontrollstudien.

#### **1.7.6. Stammzelltherapie (Stem cell Therapy)**

Mesenchymale Stammzellen haben sich in den letzten zwei Jahrzehnten als vielversprechende therapeutische Methode im Bereich der Geweberegeneration und -reparatur herausgestellt. Es wurden mehrere Phase I und II Studien durchgeführt, die bei der Stammzell-Therapie von perianalen Crohn-Fisteln im entzündungsfreien Intervall keine signifikanten unerwünschten Ereignisse gezeigt haben [56]. Ben Amor et al. haben 2019 in einem „Case Report“ über die Anwendung von mit Stammzellen und Thrombozyten angereichertem Plasma (PRP) mit einer zweijährigen Beobachtungszeit berichtet. Der 37-jährige Patient mit zuvor rezidivierenden komplexen Analfisteln ist aktuell rezidivfrei [57]. Im März 2018 hat die europäische Arzneimittelbehörde die erste Stammzelltherapie zur Behandlung von perianalen Crohn-Fisteln genehmigt [58]. Eine einmalige Behandlung mit Alofisel® (Darvadstrocel) kostet etwa 60.000 Euro.

#### **1.7.7. Unterdrucktherapie (Vakuumtherapie; Vacuum Therapy)**

Unter „Unterdruck“ sind Druckverhältnisse unter dem normalen atmosphärischen Druck zu verstehen. Bei Raumtemperatur und auf Meereshöhe enthält ein definiertes Luftvolumen Moleküle, die sich in alle beliebigen Richtungen bewegen. Diese sich bewegenden Moleküle üben eine Kraft aus, die dem normalen atmosphärischen Druck von 760 mmHg entspricht. Ein Unterdruck (Vakuum) kann aufgebaut werden, indem Luftmoleküle vom Ort

des Geschehens (z.B. der Wunde) mit einer Saugvorrichtung (Vakuumpumpe) weggezogen werden [59].

### ***1. Entwicklung der Unterdrucktherapie***

Die ersten Anwendungen der Unterdrucktherapie gehen auf die Akupunkturtechniken aus der chinesischen Medizin zurück [59]. Später, im Jahr 1841, setzte Junod die Methode ein, indem er sogenannte Schröpfköpfe, erhitzte kugelige Glasgefäß, auf die Haut des Patienten aufsetzte, um „die Durchblutung anzuregen“ [60].

1993 haben Fleischmann et al. die Ergebnisse einer Behandlung mit lokalem Unterdruck bei 15 Patienten mit offenen Frakturen publiziert. In dieser Serie wurden Schaumverbände über eine längere Zeit eingelegt. Es kam zu keinen relevanten Infektionen der Wunden oder der Knochen [61].

Zwei wegbereitende Wissenschaftler, Morykwas und Argenta, initiierten eine Reihe von tierexperimentellen Untersuchungen zur lokalen Unterdruckbehandlung mit einem Polyurethan (PU) Schaumverband, der zwischen Wundoberfläche und Vakuumquelle eingelegt wurde [62]. Dieser Schaum stellte sich als wesentliche Komponente heraus und gab Anlass zur Entwicklung eines kommerziell vertriebenen Systems (dem Vakuum-assistierten Verschluss [V.A.C.®: Vacuum Assisted Closed]-System) durch Kinetic Concepts Inc. (KCI) [63].

Dabei gelten verschiedene beteiligte Mechanismen nachweislich als wundheilungsfördernd wie:

- die Steigerung der lokalen Durchblutung,
- die Ödemreduktion,
- die Anregung der Bildung von Granulationsgewebe,
- die Anregung der Zellproliferation,
- die Reduktion von Wachstumsinhibitoren,
- die Keimreduktion,
- die Annäherung der Wundränder [59].

Studien haben gezeigt, dass ein Unterdruck von 125 mmHg das Volumen eines retikulierten offenporigen Polyurethanschwammes um ca.80% vermindern kann, welches zu einer wesentlichen Schrumpfung des Defektes führt [64].

## **2. Unterdrucktherapie im unteren und oberen Gastrointestinaltrakt (GI -Trakt) (Endo-SPONGE® und Eso-SPONGE®)**

Im Bereich der Viszeralchirurgie hat die Unterdrucktherapie in den letzten zwei Jahrzehnten eine wichtige Rolle eingenommen. Insbesondere die Behandlung von Anastomoseninsuffizienzen hat sich dadurch deutlich verbessert.

### **a. Unterer GI-Trakt**

Nach einer Rektumresektion tritt eine Anastomoseninsuffizienz bei 1,5-17,5% der Patienten auf und ist mit einer Mortalitätsrate von 6-22% verbunden [65][66]. Früher war die Reoperation mit Anlage eines protektiven Stomas oder sogar die Aufhebung der Anastomose mit Anlage eines definitiven Stomas die einzige Therapieoption [67].

Weidenhagen et al. waren die ersten, die die Unterdrucktherapie am unteren GI-Trakt 2003 beschrieben haben [68]. Die gleiche Arbeitsgruppe hat 2008 über ihre Erfahrung in der Behandlung von 29 Patienten mit Anastomoseninsuffizienz nach Rektumresektion berichtet.

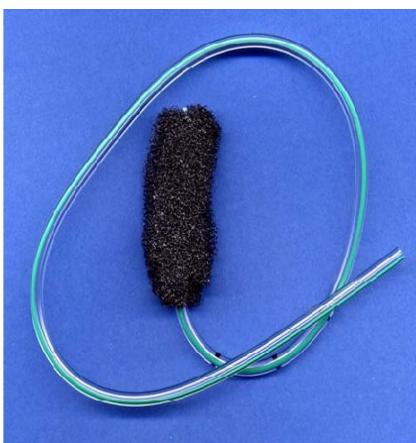


Abb.5: Endo-SPONGE®.

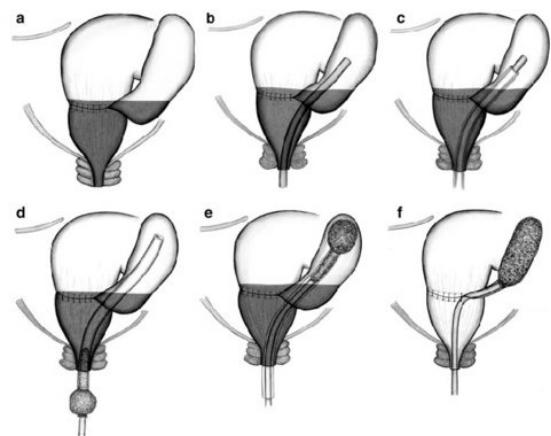


Abb.6: Anlage des Endo-SPONGE® bei Insuffizienz.

Bei diesem Verfahren erfolgt zuerst die endoskopische Darstellung der Insuffizienz (Abb.6a). Die aus der Insuffizienz abgehende Wundhöhle wird gespült und ein grobporiger Polyurethanschwamm in der Höhle platziert (Abb.6e). Anschließend wird eine kontinuierliche Unterdrucktherapie mit 125 mmHg Sog appliziert (Abb.5,6). Alle 48-72 Stunden erfolgte der endoskopische Wechsel des Schwammes in oben beschriebener Art und Weise. Wenn die Höhle ausreichend sauber, granulierend und klein genug ist, wird der Endoschwamm entfernt. In einer Fallserie mit 29 Patienten mit Insuffizienz einer Descendorektostomie konnte eine endgültige Heilung mit einer Verschlussrate von 90,3% erreicht werden [69].

Eine weitere Fallserie der EndoVAC -Therapie (EVT) zeigte nicht nur bei der Behandlung der Patienten mit Anastomoseninsuffizienz nach Rektumresektion insgesamt gute klinische Ergebnisse, sondern auch bei der Therapie der Hartmann -Stumpfinsuffizienz und der Rektumperforation. Es konnte eine Verschlussrate von insgesamt 83 % erreicht werden [70].

### **b. Oberer GI-Trakt**

Im oberen GI-Trakt sind Leckagen als Folge von Anastomoseninsuffizienzen beziehungsweise Perforationen mit einer erhöhten Mortalität und Morbidität verbunden [71]. Nach den sehr erfolgreichen Ergebnissen der EVT im unteren GI-Trakt [68][69][70][72] wurde initial ein individueller Therapieversuch mit einer EVT für Insuffizienzen für den oberen GI-Trakt gestartet.

Der erste Bericht hierzu wurde von Wedemeyer et al. [73] publiziert. Es erfolgte die erfolgreiche Behandlung zweier Patienten mit Anastomoseninsuffizienz bei Zustand nach Ösophagektomie und Magenresektion. Im Jahr 2010 folgte durch Ahrens et al. die erste prospektive Studie zur Behandlung von Leckagen im oberen GI-Trakt aus Kiel [74]. Hier wurden insgesamt fünf Patienten mit Insuffizienzen, welche mindestens 25% der Zirkumferenz des Ösophagus betrafen, therapiert. Vier der Insuffizienzen waren nach Ösophagektomie und eine nach Myotomie bei Zenker-Divertikel entstanden. Keiner der Patienten wurde im Verlauf re-operiert und es gab keine Major-Komplikationen durch das Verfahren. Als unerwünschte Ereignisse wurden die Schwammdislokation, geringfügige Blutungen nach dem Schwammwechsel durch das Einwachsen von Granulationsgewebe

in den Schwamm und Anastomosenstrukturen beschrieben [74][75][76][77]. Die Kieler Arbeitsgruppe zeigte auch, dass im Vergleich zur operativen Revision und zum Stentverfahren insbesondere schwerkranke Patienten von der EVT profitieren können [78]. Im einem Übersichtsartikel wurde die präventive endoskopische Unterdrucktherapie bei kritischer Wundheilung im Bereich der Anastomose ohne Nachweis einer Insuffizienz positiv erwähnt [79][80].

Kommerziell erhältlich ist der Endo-SPONGE® für die Therapie von Leckagen im unteren GI-Trakt und der Eso-SPONGE® für den oberen GI-Trakt von der Firma B. Braun Surgical SA (Rubi, Barcelona, Spain).

### ***3. Fallserien von Unterdrucktherapie bei Analfisteln***

Für als "einfach" klassifizierte Analfisteln kann mit den zuvor beschriebenen Therapieverfahren meist ein gutes postoperatives Ergebnis erzielt werden. Dahingegen sind die Therapieergebnisse der verfügbaren Therapieverfahren bei Fisteln des "komplexen" Typs im Hinblick auf Rezidivfreiheit und Kontinenz unbefriedigend.

Basierend auf den vielversprechenden Ergebnissen der Unterdrucktherapie bei offenen chronischen Wunden [81] sowie transmuralen Defekten im unteren und oberen GI-Trakt, kommt dieser neue Therapieansatz für die Behandlung komplexer Analfisteln in Betracht.

#### **A. Kieler Erfahrung**

Die Kieler Arbeitsgruppe hat 2018 eine prospektive Pilotstudie als Heilversuch publiziert [82]. Es wurden sieben komplexe Analfistelpatienten (drei mit Morbus Crohn und vier mit kryptoglandulärem Ursprung) mit der Unterdrucktherapie behandelt. Die Fisteln waren länger als 4 cm, und die Patienten bereits mehrfach voroperiert. Nach Kürettage des Fistelganges wurde der erste endofistuläre Vakuumtherapie-Schwamm (Abb.7) im Fisteltrakt positioniert. Die innere Fistelöffnung wurde durch eine Naht verschlossen.

Ein kontinuierlicher Sog von 125 mmHg wurde angelegt, und der endofistuläre Vakuumtherapie-Schwamm (EFVT-Schwamm) wurde im Median dreimalig nach jeweils 48 bis 72 Stunden kontinuierlicher Vakuumtherapie gewechselt. Nach der endgültigen Entfernung des Schwammes wurden die Fisteln im zweiwöchentlichen Abstand über einen Zeitraum von drei Monaten untersucht. (Abb.8).

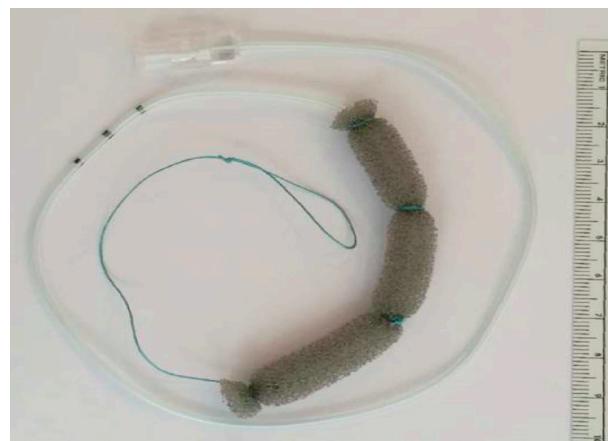


Abb.7: Endofistulärer Schwamm [82].

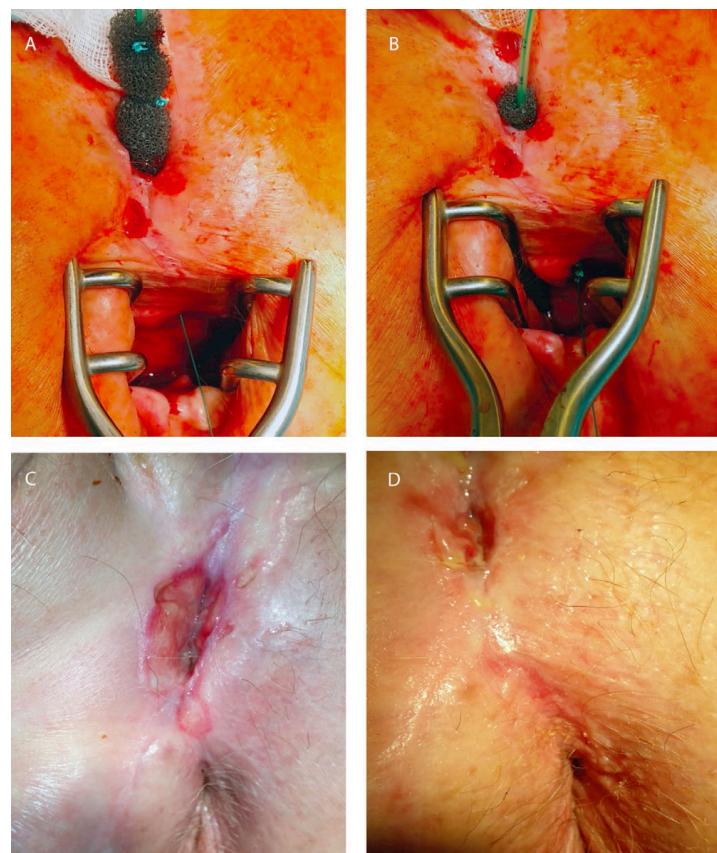


Abb.8: Beispiele des EFVT Verfahrens bei 72-jähriger Patientin mit Morbus Crohn und transssphinktären Analfistel A und B zeigen die initiale Anlage des EFVT-Schwammes. Der Schwamm ist durch den Fistelgang gezogen, C: Die äußere Öffnung vor der EFVT, D: Die äußere Öffnung nach 4 Wochen Beobachtungszeit [82].

## B. Polnische Erfahrung

Hermann et al. publizierten 2019 ihre Ergebnisse, nachdem sie 47 Patienten mit M. Crohn und analem Fistelleiden in zwei Gruppen unterteilt haben: Fadendrainage versus Vacuum

assisted Closure Therapy (V.A.C.®-Therapie) [83]. In dieser Serie erfolgte die Kürettage des Ganges, anschließend wurden 24 Patienten mit VAC-Therapie beziehungsweise 23 Patienten mit Fadendrainage behandelt. Der Schwamm wurde bei jedem Wechsel gekürzt. Einen Unterdruck zwischen 100-150 mmHg wurde eingesetzt (Abb.9,10,11,12). Nach einer Nachbeobachtungszeit über sechs Monate kam es bei 75% der Fisteln unter VAC-Therapie im Vergleich zu 35% mit Fadendrainage zur Ausheilung.



Abb.9: Vakuumtherapie.

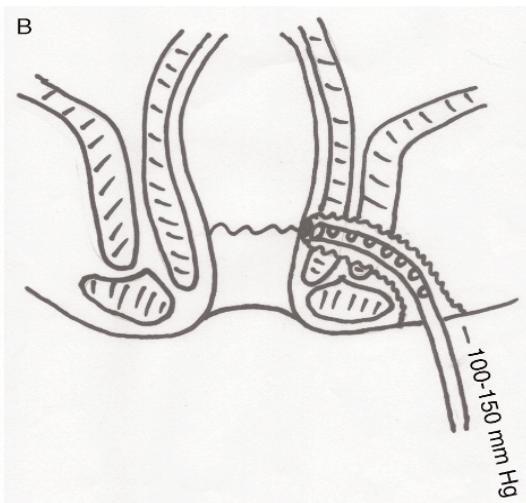


Abb.10: Schematische Darstellung der Therapie.

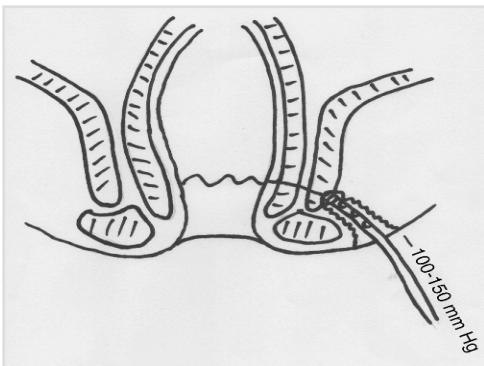


Abb.11: Verlauf der Therapie.



Abb.12: Polnischer endofistulärer Schwamm.

## 2. Problemstellung und Zielsetzung

### 2.1. Problemstellung

Die derzeitig etablierten Standardverfahren zur operativen Therapie der komplexen Analfistel sind mit hohen Raten an Wundinfektionen, Re-Operationen und nachfolgender Inkontinenz verbunden.

Innovative Therapiemaßnahmen, die zur Sphinkterschonung und hohen Verschlussrate führen, stehen im Moment in der klinischen Routine nicht zur Verfügung.

Neuere Therapieverfahren (Stammzellen, Plug und Ablationsverfahren) haben die gewünschte Verbesserung bei der Therapie vom komplizierten Analfisteln bisher in größeren Studien und nach längerer Beobachtungszeit nicht gezeigt.

### 2.2. Zielsetzung der Arbeit

Die Vakuumtherapie hat sich in zwei kleinen Studien [82][83] als innovative Therapiemöglichkeit bei komplizierten Analfisteln gezeigt. Obwohl die Ergebnisse dieser beiden Studien vielversprechend sind, fehlen bisher signifikante wissenschaftliche Belege der Therapiesicherheit und -wirksamkeit bei der Anwendung einer Unterdrucktherapie bei komplizierten Analfistelleiden sowie einheitliche Therapieverfahren und insbesondere ein zugelassenes Produkt.

Ziel dieser Doktorarbeit ist die Testung eines einheitlichen Produktes und Verfahrens zur endofistulären Vakuumtherapie bei Analfisteln (EFVT-Schwamm) in einem etablierten porcinen Modell.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Versuchsdesign

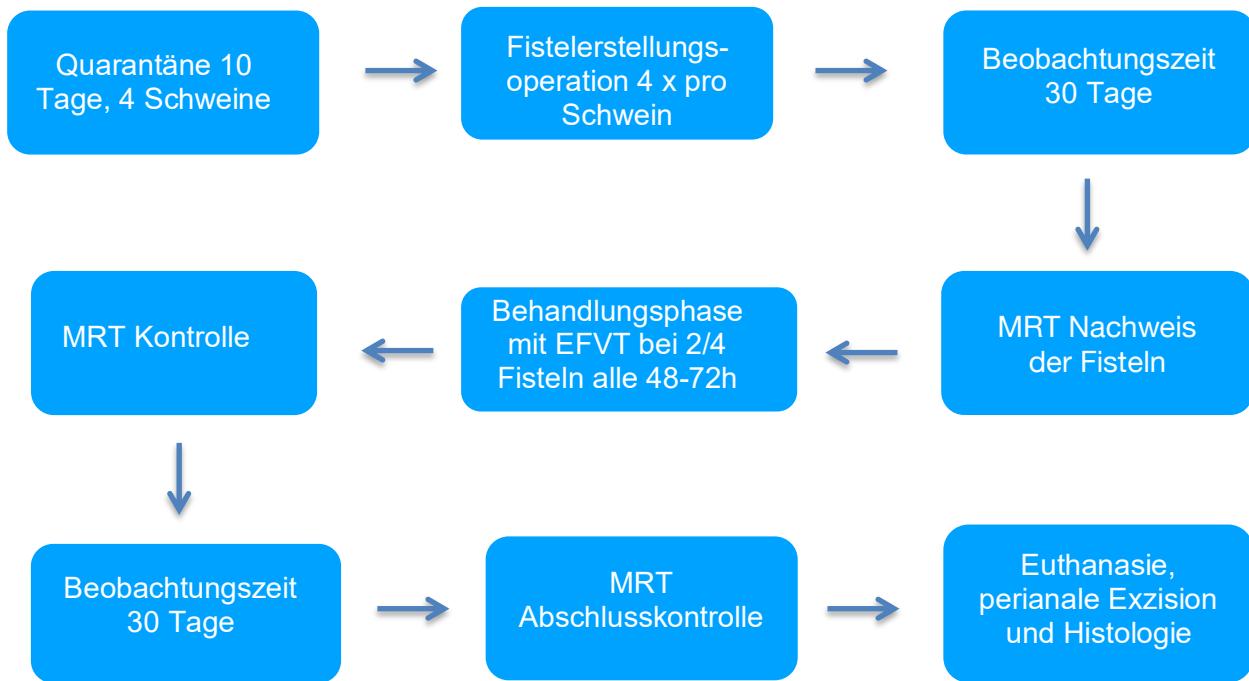
Für die Versuche einer endoluminalen Vakuumtherapie von Analfisteln wurde ein porcines Modell ausgewählt.

Es wurden fünf männliche Schweine der *Sus scrofa domesticus* Art der Zwerghschweinrasse, 15 bis 16 Monate alt und von durchschnittlich 35 Kilogramm (kg) (30-40 kg) verwendet (Abb.13).

Das erste Schwein wurde als Pilotenschwein vorgesehen (Phase1), und die nächsten vier Tiere wurden für den Tierversuch (Phase2) ausgewählt („SUS 675“, „SUS 676“, „SUS 680“ und „SUS 683“).

Die Phase 1 diente zum Überprüfen und Optimieren der Methodik.

Die Phase 2 lief nach folgendem Schema ab:



Bei der Methodik wurde die sogenannte 3R-Strategie beachtet [84].

Diese 3R-Strategie wurde von Russel und Burch bereits 1959 formuliert und steht für:

1. Replacement (Ersatz durch Alternativen),

2. Reduction (Reduzierung der Tierzahl),
3. Refinement (Verminderung der Belastung für Versuchstiere durch Verfeinerung).

Wir bestätigen, dass es in diesem Fall keine Alternativen zur Verwendung von Tieren gab, um den pathophysiologischen Status von Analfisteln sowie die Auswirkungen auf die Epithelialisierung oder Heilung dieser Fisteln *in vivo* wiederzugeben.

### A. Standort

Diese Studie erfolgte in dem Institut: „Comparative Medicine & Bioimage Centre of Catalonia“ (CMCiB).

Das CMCiB ist eine Einrichtung des Germanes Trias i Pujol Forschungsinstituts (IGTP) auf dem Can Ruti Campus in der Region Barcelona, Spanien (Abb.14). Es wurde speziell für biomedizinische Studien, von präklinischen Modellen bis hin zu neuen chirurgischen Techniken, entwickelt. Es bietet ein leistungsstarkes Bioimaging und hochmoderne Einrichtungen sowie professionelle Unterstützung für den Aufbau von Tierversuchen (Haltung, Tierwissenschaften und Tierschutz).

### B. Genehmigung

Das Tierversuchsvorhaben wurde nach den aktuell gültigen spanischen Richtlinien und auch internationalen Tierschutzbestimmungen im Rahmen der biologischen Beurteilung von Medizinprodukten von der zuständigen Ethikkommission des CMCiB aufgebaut. Der Antrag „CEEA-IGTP 19-021-JGR“ wurde überprüft und genehmigt und bei den zuständigen Behörden gemeldet: „Generalitat de Catalunya, Departament de Territori i Sostenibilitat, Àrea de Medi Ambient“ (Regierung von Katalonien, Ministerium für Territorium und Nachhaltigkeit, Umweltbereich), Genehmigungsnummer: „10680“.

Die nationalen spanischen Gesetze sowie EU-Richtlinien sind im Anhang (Punkt 9.1.) aufgeführt.

### 3.2. Versuchstiere

Das Schwein ist eine der großen Tierarten, die in der Forschung eingesetzt werden kann.

Für die Auswahl der Zwergschweinerasse wurden erwachsene Tiere (15 bis 16 Monate) auswählt, die das Wachstumsstadium abgeschlossen hatten. Durch ihre Größe und ihr Gewicht waren sie leicht handhabbar. Die Heilungsrate wurde nicht durch äußere Faktoren (z.B Wachstum) beeinträchtigt. Detail der Tiere findet sich im Anhang (Punkt 9.2.).

### 3.2.1. Stallung

Präoperativ waren die Versuchstiere im Tierstall des CMCiB Institutes untergebracht. Sie verblieben für insgesamt zehn Tagen in Quarantäne. Während dieser Zeit wurde der Gesundheitsstatus der Tiere überprüft. Der Tierraum hatte eine Fläche vom 34 m<sup>2</sup>. Die Tierboxen hatten eine Fläche vom 4 m<sup>2</sup> (Abb.15). Die im Stall vorherrschende Temperatur lag zwischen 20 und 24°C, bei einer zwischen 30-70% liegenden Luftfeuchtigkeit mit einem Lufthaustausch vom 15l/h und einem natürlichen Tag-Nacht-Zyklus. Pro Box wurde immer ein Tier untergebracht. Die Tiere bekamen täglich 1 Kilogramm eines für Zwergschweine geeigneten Pelletfutters Pinallet® (Pinallet S.A, Cardinal, Barcelona, Spanien), sowie eine Handvoll Cavalls Barrera de Llavors® (Ergänzungsfuttermittel für Pferde, Corporacion Alimentaria Guissona S.A, Spanien) und Wasser ad libitum mit Durchflussmenge von 1.600 m<sup>3</sup>/h. Vor der Operation mit Vollnarkose wurde bei dem jeweiligen Versuchstier ein 24 ± 8-stündiger Nahrungsentzug eingehalten, der freie Zugang zu Wasser war weiterhin gewährleistet.

### 3.2.2. Tierhaltung und Pflege

Das angewandte Verfahren für die Haltung und Tagebuchkontrolle von Tieren folgte der nationalen Richtlinie RD53/2013 (spanische Grundregeln für die Verwendung von Labortieren zu Forschungs- und Ausbildungszwecken).

#### Tierkennzeichnung

Die Tiere wurden mit Ohrmarke unverwechselbar gekennzeichnet.

#### Raumkennzeichnung

Jede Tierbox war mit einem Dokument mit dem Minimum an folgenden Informationen gekennzeichnet: Forschungscode, Versuchsplan und Zeitplan für die auszuführenden Aktivitäten.

### 3.2.3. Technische Hilfsmittel

- Moderner Operationssaal (Abb.16)
- Digitale Minipig-Waage Bascula móvil 300K 3tres3
- Anästhesiegerät: Mindray Wato X-20 Vet Anesthesia machine (Abb.17)
- Multiparameter Überwachungsgerät: Minray IPM12 Vet Ventilator
- Zentrifuge ohne Kühlung, Nuvé NF 400
- 3T Magnetresonanztomografie, Canon Vantage Galan 3T (Abb.18)
- Instrumente zur Blutabnahme: Vetscan VS2 und VetScan HM5
- Blutentnahmegeräte, Elektrophorese (Grivet Veterinary services SL, Badalona, Barcelona, Spanien)
- Histopathologische Präparationsgeräte und Mikroskope zur Probenbewertung (Dr.vet. Daniel Borrás, histopatholog Veterinär, laboratorio de análisis echervane, Barcelona, Spanien)
- Operative Instrumente: Aesculap AG (Tuttlingen, Deutschland) (Abb.19,20,21)
- Nahtmaterial: Es wurde verschiedenes Nahtmaterial für veterinär medizinische Eingriffe benutzt. Es handelt sich um Material, welches auch bei humanmedizinischen Operationen zum Einsatz kommt (Anhang Punkt 9.3.)
- Redon-Drainage 8cm lang, aus Polyvinylchlorid (PVC) wurde mit zwei unterschiedlichen Durchmessern (2,5 und 8 mm) hergestellt. Diese Redon wurde für die Fistelerstellung benutzt (Abb.22)

### 3.2.4. Endofistulärer Vakuumtherapie-Schwamm (EFVT-Schwamm)

Der Vakuum-Schwamm ist eine minimalinvasive Therapie zur Behandlung eines Fistelganges, um das invasive Herausschneiden des Fistelganges, mit möglicher Schädigung des Sphinkters, zu verhindern. Die Therapie besteht darin, dass durch einen Abflussschlauch Unterdruck auf ein flexibles Substrat mit einem offenzelligen Schwamm angewendet wird. Der applizierte Sog bewirkt eine effektive Drainage von Sekreten und somit eine kontinuierliche Reinigung der Wunde. Die Oberfläche des Schwammes wirkt

als Gerüst für das Einwachsen von Granulationsgewebe. Insgesamt wird so eine saubere Granulation getriggert.

Der endofistuläre Schwamm ist ein mit Ethylenoxid sterilisiertes Einmalprodukt (Abb.23).

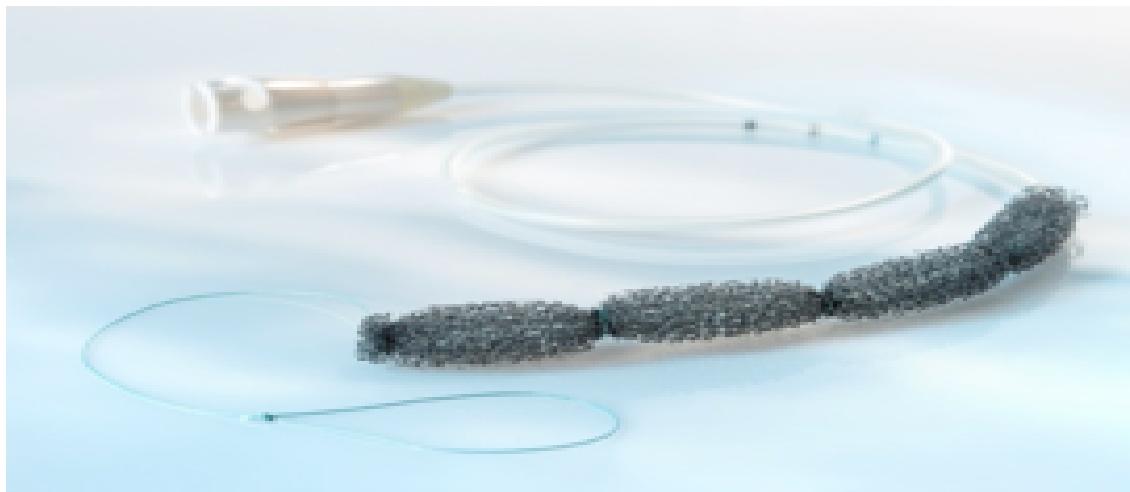


Abb.23: EFVT-Schwamm.

Der EFVT-Schwamm ist aus folgenden Elementen zusammengesetzt (Abb.24):

Components diagram of RD-4016v01.05 (Fistu-SPONGE)		
ID	Name	Description
1	Foam	PU Foam 12 mm diameter
2	Redon tube	Redon tube CH08: · ID = 1.5 mm · OD = 2.5 mm
3	Attachment	Dagrofil USP 3/0 knot
4	Pulling element	Dagrofil USP 3/0
5	Adaptor	Intermediate bayonet connector
6A	Connector	Negative bayonet connector

Abb.24: Komponenten des EFVT-Schwammes.

- Schwamm: Besteht aus einem offenzelligen Schaumstoff aus Polyurethan, der mit Stanzinstrument und Druck auf die notwendige Größe zugeschnitten wird. Er hat einen Außendurchmesser von 12 mm und eine Länge von 100 mm. Innerhalb des Schaumes liegt ein 8-Charrier (Ch) -Redon-Rohr in Längsrichtung durch eine Öffnung von 4 mm. Der Schwamm sorgt für einen gleichmäßigen Druck im Fistelgang und verhindert, dass er vollständig um das röhrenförmige System kollabiert. Außerdem werden Flüssigkeiten gesammelt, die infolge von Gewebeexsudation und Bildung von Granulationsgewebe entstehen.
- Redon-Verbindschlauch: Diese Komponente wird bereits für andere medizinische Geräte mit der Bezeichnung „Redon-Drainage“ verwendet. Redon-

Drainagen sind sterile Wunddrainagen für den Einmalgebrauch. Es handelt sich um flexible Rohre, die durch Extrusion hergestellt und perforiert werden. Hier hat sie die Funktion, im Anwendungsbereich einen Unterdruck weiterzuleiten.

- Aufsätze und Zugelement: Letzterer besteht aus einem geflochtenen Nahtmaterial aus Dagrofil® 3/0. Dieser Faden dient zur Befestigung des Schwammes am Redon-Schlauch sowie als Zugelement. Die Aufsätze sind so verteilt, dass die Vorrichtung je nach Länge des Fistelganges zugeschnitten werden kann. Das Zugelement wird als Führungsfaden verwendet, der an einem Seton oder einer Sonde angebracht wird, um das Einführen der Vorrichtung durch den Fistelgang zu erleichtern.
- Zwischenbajonettverschluss: Besteht aus einer Reduzierverbindung zwischen dem Redon-Schlauch und dem negativen Bajonettverschluss. Dieses Stück ermöglicht den Übergang zwischen den Durchmessern und verhindert ein Abknicken im Verbindungsreich.
- Negativer Bajonettverschluss: Schraubanschluss.

### 3.2.5. Unterdruckpumpe und Kanister ATMOS® S 042 NPWT

ATMOS® S 042 NPWT (ATMOS Medizin Technik GmbH & Co. KG, Lenzkirch, Baden-Württemberg, Deutschland) ist ein mobiles Absauggerät, das bereits auf dem Markt ist (Abb.25). Es ist tragbar, netzwerkunabhängig und verfügt über eine elektronische Überwachungsfunktion mit optischer und akustischer Statusanzeige. Durch kontrollierten Unterdruck werden Wundsekret und infiziertes Material über einen Wundverband mit einem Verbindungsschlauchsystem aus der Wunde in den ATMOS® S 042 NPWT Secretion Canister 300 ml (ATMOS Medizin Technik GmbH & Co. KG, Lenzkirch, Baden-Württemberg, Deutschland) transportiert.

Die Unterdruckeinheit wird von einer wartungsfreien elektromotorisch angetriebenen Membranpumpe betätigt. Die Unterdruckeinheit erstellt, steuert und überwacht automatisch die über einen Touchscreen eingestellten Therapiewerte. Eine spezielle Filtertechnologie verhindert, dass Flüssigkeiten, Bakterien und Gerüche vom Auffangkanister gelangen können. Die Unterdruckeinheit ist mit einem wiederaufladbaren Lithium-Ionen-Akku ausgestattet. Ein mikroprozessorgesteuertes elektronisches Ladesystem in der Unterdruckeinheit sorgt für ein sicheres Aufladen des Akkus.

Die Pumpe ist wiederverwendbar und muss nach jedem Gebrauch desinfiziert werden, während der volle Kanister entsorgt wird. (Abb.26,27).

### 3.2.6. Applizierte Medikamente

Es kamen Standardmedikamente zur Anwendung für veterinärmedizinische Eingriffe, im Anhang aufgeführt (Punkt 9.4.).

## 3.3. Versuchsdurchführung

### 3.3.1. Anästhesie

Die Intubationsnarkose erfolgte nach internationalen Standards mit adäquater Dosierung von zugelassenen Narkotika, Analgetika, sowie Co-Medikation unter ständigem Monitoring sowie dynamischer Anpassung. Die kontinuierliche Volumentherapie und Sauerstoffsufflation erfolgte körperegewichtsentsprechend mit ständiger Adaptierung der Flussrate. Das Protokoll der Anästhesie findet sich im Anhang (Punkt 9.5.).

### 3.3.2. Monitoring und hämodynamische Messungen

#### A. Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte gemäß der geltenden internen CMCiB Verfahrensanleitungen (SOP, Standard Operation Procedures). Es wurden die folgende Laboruntersuchungen durchgeführt: großes Blutbild (Hämatokrit, Hämoglobin, Erythrozyten, mittleres korpuskuläres Volumen (MCV), mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt (MCH), mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC), Leukozyten mit Differentialblutbild (neutrophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten, basophile Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten und Thrombozyten)), sowie serochemische Basisparameter zur Organfunktion (Glucose, Gesamtproteine, Protein-Elektrophorese, Albumin, Alaninaminotransferase (ALT), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), Urea, Kreatinin und Gallensäure).

Die Blutuntersuchungen wurden vor der Fistelerstellungsoperation, vor der ersten Behandlung mit dem Schwamm, nach dem Schließen des Fistelganges, nach der postoperativen Beobachtungsphase und auch bei Bedarf durchgeführt, um mögliche Nebenwirkungen festzustellen.

### ***B. Klinische Beobachtung***

Die klinischen Beobachtungen erfolgten durch eine Werteskala, die durch die Tierärzte im CMCCiB implementiert wurde. Mehrere Variablen wurden erfasst, hierzu gehörten: das Schmerzverhalten, der Appetit und der Futterverbrauch, sowie die Lautäußerung als sekundäres Zeichen des Schmerzes und die Beurteilung der Wunde. Nach dieser Skala konnte man die Gesundheitssituation des Tieres beurteilen und entsprechende Korrekturmaßnahmen einleiten.

Diese Werteskala zu der klinischen Beobachtung ist detailliert im Anhang (Punkt 9.6.) zu finden.

#### ***3.3.3. Ablauf der Operation zur Fistelbildung***

Nach der Vollnarkose wurde durch einen milden Einlauf das Rektum gereinigt und entleert. Das Tier war festliegend in Rückenlage positioniert. Das OP-Gebiet wurde folgendermaßen auf den chirurgischen Eingriff vorbereitet: der gesamte perianale Bereich wurde rasiert, desinfiziert und mit Seife, Alkohol bzw. Jod sterilisiert (Abb.28).

In die Fossa ischiorectalis wurden mit einem Skalpell an 2-, 5-, 8- und 11-Uhrzeigerpositionen in Rückenlage (RL) ca. 2 cm seitlich des Analrandes minimale Inzisionen eingebracht (Abb.29) [85][86].

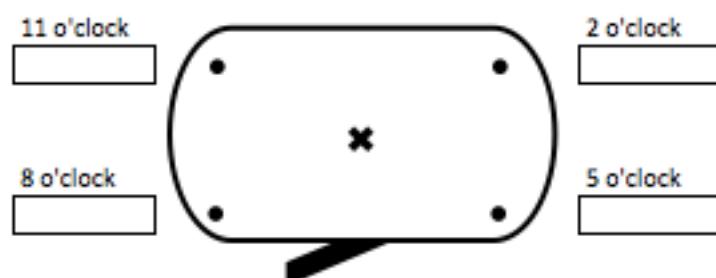


Abb.29: Schema des Fistelerstellungsplans.

Die Incisionen wurden sorgfältig mit einer Präparationsschere durch die perianale Haut, die äußere Muskulatur des analen Schließmuskels, der Linea dentata und durch die Fossa ischiorectalis gesetzt. Sie folgten einer gekrümmten Linie, um die Länge des Schnittes zu erhöhen und jeweils eine Fistel von ca. 8 cm von einem Ende zum anderen anzubringen (Abb.30). Der präparierte Schnitt verband sich mit dem Rektum und bildete einen offenen Kanal zur Bildung des Fistelganges.

Am Ende der Operation zeigten sich im perianalen Bereich vier iatrogene Fistelgänge in 2,5,8 und 11 Uhrzeigerpositionen RL, welche mittels Seton-Drainageschläuchen geschiert wurden (Abb.31).

Die Drainagen wurden 39 bzw. 40 Tage lang in Position gehalten, bis die Fisteln stabil und offen waren. Die makroskopischen und MRT- Untersuchungen bestätigten die Kontinuität des Kanals, und ermittelten den Durchmesser und die Lage in Bezug zum Schließmuskelkomplex.



Abb.31: iatrogene Fistelgänge in 2,5,8 und 11 Uhrzeigerpositionen RL.

Es wurde keine andere medizinische unterstützende Behandlung (Antibiotika oder entzündungshemmende Medikamente) verabreicht, um den normalen Heilungsprozess nicht zu beeinträchtigen.

### 3.3.4. MRT Verfahren und Beobachtungen

Während der Studie wurden insgesamt drei MRT-Bildgebungen durchgeführt, um Folgendes zu dokumentieren:

- Nach der Fistelerstellung, um die Lage der Fisteln in der Analregion nachzuweisen
- Nach der Behandlungsphase, um auf Entzündungsreaktionen, Verschlüsse und/oder Abszessbildungen zu überprüfen
- Am Ende der postoperativen Beobachtungsphase, um mögliche Komplikationen frühzeitig zu erkennen (Abb.32).

Zu diesem Zweck wurden Bilder auf einem 3T-Magnetresonanztomografen mit einer T2-Gewichtung aufgenommen, wie bei Criado et al. [87]. Die MRT diente der Visualisierung von Entzündungen, Infektionen, Abszessen und dem Verschluss des Fistelganges.

Alle Fisteln wurden durch die Radiologen gewertet und in 3 Gruppen klassifiziert:

- **Offen:** wenn das Fistellumen deutlich sichtbar ist;
- **Teilweise verschlossen:** wenn der Durchmesser des Lumens verringert aber teilweise sichtbar ist;
- **Vollständig verschlossen:** Wenn das Lumen ausgelöscht und somit nicht sichtbar ist.

### 3.3.5. Behandlungsphase mit EFVT-Schwamm

Nach der Bestätigung, dass jedes Tier insgesamt vier aktive Analfisteln hatte, wurden **zwei** davon **mit dem EFVT-Schwamm** behandelt, **eine** wurde als **Negativkontrolle** (ohne Drainage, aber regelmäßig mit Kochsalzlösung (NaCl) gereinigt) und **eine** zweite als **Positivkontrolle** (mit Drainage und regelmäßig mit NaCl gereinigt) beibehalten. Das Therapiekonzept verfolgte das beschriebene Konzept von Schniewind B et al. in Ihrer Pilot-Studie [82].

Das Tier „SUS 676“ hat sich nach der Fistelerstellungsoperation von der Narkose nicht erholt und ist verstorben. Der Tierversuch ist im weiteren Verlauf nur mit drei Schweinen („SUS 675“, „SUS 680“ und „SUS 683“) fortgeführt worden.

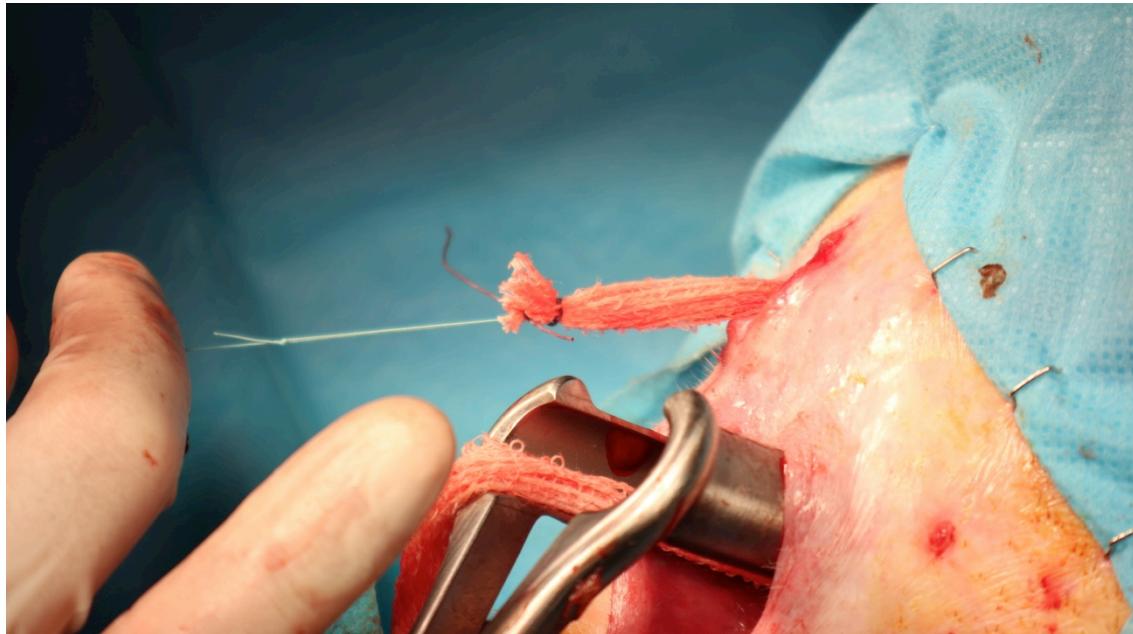
#### A. Ablauf der ersten Anlage

Unter Vollnarkose wurde das Tier festliegend in Rückenlage positioniert. Nach Abwaschen und Abdecken des perianalen Bereiches wurde einen Analspreizer eingesetzt. Bei zwei Fistelgängen wurde die Therapie mittels eines EFVT-Schwammes geplant. Diese wurden in der Tabelle 1 gezeigt.

Tier	EFVT-Schwamm 1	EFVT-Schwamm 2
<b>SUS 675</b>	2 Uhr RL	5 Uhr RL
<b>SUS 680</b>	8 Uhr RL	11 Uhr RL
<b>SUS 683</b>	5 Uhr RL	11 Uhr RL

*Tabelle 1: Positionen der zu behandelnden Fisteln.*

Es erfolgte die simultane Entfernung der Silikondrainagen von den zwei zu behandelnden Fistelgängen und das Einführen einer Komresse, die den Fistelgang reaktivierte (Abb.33).



*Abb.33:Reaktivierung der Analfistel vor Anlage des Schwammes.*

Der Schwamm wurde unter Verwendung des Zugelementes durch das äußere Ostium des Fistelganges in der vorgesehenen Position eingeführt. Der Schwamm wurde bei Bedarf mit einer Pinzette oder einer Sonde eingesetzt (Abb.34).



Abb.34: Anlage des Schwammes.

Sobald sich der Schwamm im Fistelgang befand, wurde die verbleibende Länge des Schwammes und des Entnahmeelementes mit einer Schere auf die Länge bis zum inneren Ostium zugeschnitten. Der Schwamm wurde jeweils 5 mm zurückgezogen, damit er nicht aus der Rektumschleimhaut herausragte. Das Herausragen des Schwammes oder Schlauches in die Rektumschleimhaut kann zu Geschwüren, Undichtigkeiten, teilweisem Verschluss der Fistel und/oder einer lokalen Infektion führen.

Das innere Ostium in der Rektumschleimhaut wurde mit Novosyn® 2/0 (B. Braun Surgical S.A, Rubi, Spain) mit einer transmuralen Nahttechnik verschlossen, wobei darauf geachtet wurde, dass der Schwamm nicht in das Nahtmaterial einbezogen wurde (Abb.35).

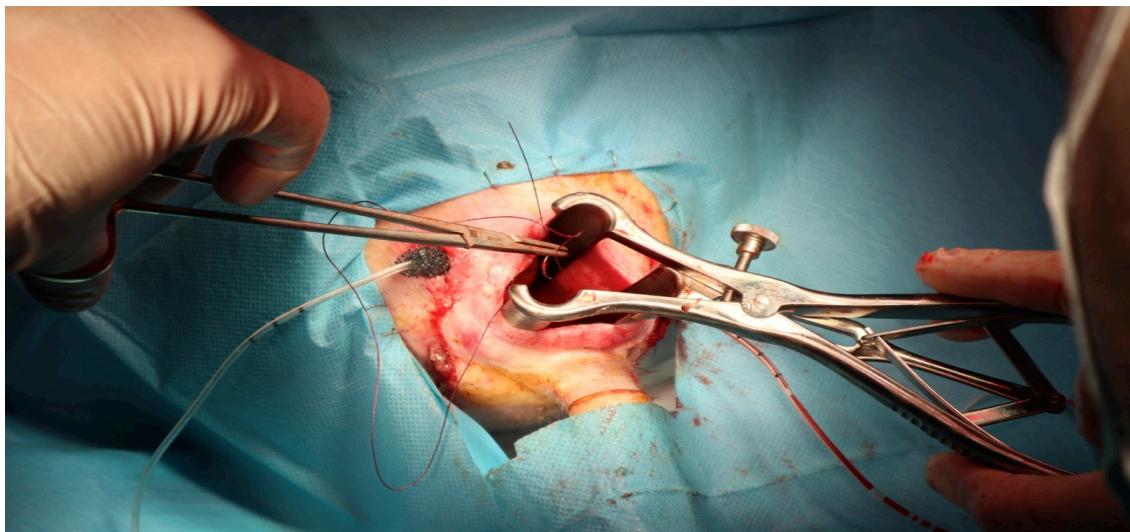


Abb.35: Verschließen des inneren Ostium der Analfistel mit Novosyn® 2/0 Naht.

Das äußere Ostium in der Nähe des Anus wurde mit Dafilon® 2/0 (B. Braun Surgical S.A, Rubi, Spain) verschlossen, um die Abdichtung des Fistelkanals und die Fixierung des Schlauchsystems der Vorrichtung zu gewährleisten (Abb.36).



Abb.36: Verschließen des äußeren Ostium mit Dafilon® 2/0 Nähten.

Über einen Bajonettverschluss wurde das Schlauchsystem des Schwammes mit dem des Kanisters verbunden und durch einen Gurt am Tier fixiert. Dies erlaubte dem Schwein die freie Beweglichkeit in seiner Tierbox, da die Pumpe über eine Federvorrichtung an der

Decke der Tierbox angebracht war. Die Unterdruckpumpe wurde auf eine kontinuierliche Versorgung von 125 mmHg Differenzdruck eingestellt (Abb.37,38).

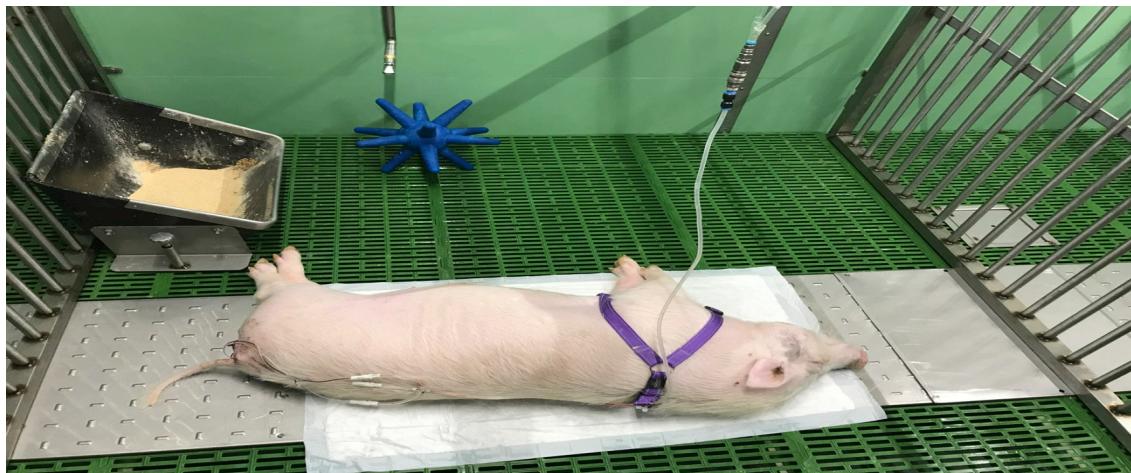


Abb.37:Schwein in der Tierbox postoperativ, EFVT-System an ATMOS eingeschlossen.

Nach der ersten Einführung wurde eine regelmäßige Überwachung der behandelten Tiere unter Sedierung mit EFVT-Schwammwechsel alle 48-72 Stunden, durchgeführt. Der Schwamm wurde bei jedem Wechsel um jeweils 5 bis 10 mm für die geplante Zeit (22 Tage) gekürzt. Die Behandlung endete, sobald die Länge der Fistel 2 cm erreicht hatte. Das äußere Ostium der Fistel blieb dann offen und heilte sekundär.

#### Negative Kontrollgruppe

Die Fistelgänge der Schweine, die als Negativkontrolle behandelt wurden, wurden offen gehalten. Sie wurden nur regelmäßig mit NaCl gereinigt. Die Negativkontrolle stellte die unbehandelte Gruppe dar und wurde verwendet, um die Wirksamkeit der behandelten mit der unbehandelten Gruppe zu vergleichen.

#### Positive Kontrollgruppe

Eine Positivkontrolle wurde auch für die Studie durchgeführt, die aus einer unbehandelten Fistel mit einer einliegenden Seton-Drainage bestand, die ein spontanes Schließen des Ganges verhinderte.

### **B. Ablauf des EFVT-Schwammwechsels**

Für den Schwammwechsel war keine Langzeit-Nüchternheit notwendig. Unter Analgosedierung wurde das Tier festliegend in Rückenlage oder Seitenlage positioniert (Abb.39,40). Die Pumpe wurde währenddessen diskonnektiert. Nach Abwaschen erfolgte die Inspektion des Situs und die Foto-Dokumentation. Die Negativ- und Positivkontroll-Fisteln wurden nur mit NaCl gereinigt. Im Bereich der EFVT-Schwämme wurde die Naht mittels Dailon® 2/0 entfernt. Der Schlauch wurde durch NaCl irrigiert (Abb.41). Hindernisse im Schlauch wurden dokumentiert. Durch mildes Ziehen erfolgte die Entfernung des Schwammes. Entleerung von Sekreten durch den Analkanal wurden beobachtet und dokumentiert. Anschließend erfolgte die Spülung des Fistelganges. Die Länge des Ganges wurde mit einer 8 Charrier Redon-Drainage und/oder einer metallischen Sonde ausgemessen (Abb.42,43). Bei einer Länge des Fistelganges größer als 2cm wurde erneut ein um 5-10 mm verkürzter Schwamm in situ platziert (Abb.44).



*Abb.44: Platzierung eines neuen Schwammes.*

Das äußere Ostium wurde mit Dailon® 2/0 erneut verschlossen. Das System wurde erneut re-konnektiert, gespült und geprüft (Abb.45).



Abb.45: Spülung und Prüfung des Systems

Das Tier wurde zurück in die Tierbox gebracht. Sedastop® (Atipamezol) wurde zur Antagonisierung der Analgosedierung intramuskulär verabreicht.

### 3.3.6. Die Untersuchungsparameter

#### A. Morphologie der Wunden und Inspektion des Systems

Bei jedem Schwammwechsel erfolgte die Inspektion der Wunden, sowie die Foto-Dokumentation (Irritation, inflammatorische Zeichen, Abszesse oder Ischämie). Die Undichtigkeit des Systems, Alarmierungen, der Füllstand der Kanister und Konnektionen wurden dokumentiert. Die Lage des Schwammes wurde geprüft. Nach Entfernung des Schwammes wurde das Fremdmaterial auf Vollständigkeit überprüft. Es wurde dokumentiert, ob ein Teil des Schwammes *in situ* verblieben war.

#### B. Blutwerte

Wie bereits unter Punkt 3.3.2.A. beschrieben, erfolgte die Blutabnahme regelmäßig nach Plan und bei Bedarf als Notfall gemäß der geltenden inneren CMCiB Standard Operating Procedure (SOP).

### ***C. Beobachtungsphase***

Nach Ende der Behandlungsphase, bekamen die Tiere eine MRT-Kontrolle wie in Punkt 3.3.4. erwähnt. Anschließend fing die postoperative Beobachtungsphase an und dauerte ca. einen Monat. Das Ziel war es, mögliche Komplikationen frühzeitig zu erkennen und zu verifizieren.

### ***D. Euthanasie und Nekropsie***

Die Tiere wurden in Übereinstimmung mit der geltenden inneren CMCiB SOP eingeschlafert, dieses erfolgte nach Verabreichung einer Überdosis vom Sodium phenobarbital (50-200 mg/kg) intravenös (i.v.).

Die Nekropsie wurde mit einer makroskopischen Untersuchung der allgemeinen Bauchhöhle durchgeführt.

### ***E. Perianale Exzision und mikroskopische Untersuchung***

Nach der Behandlungsphase und der Beobachtungszeit und während der Nekropsie wurde der gesamte perianale Bereich präpariert und für eine vollständige histologische Begutachtung extrahiert (Abb.46,47). Jedes Präparat wurde mit Wasser gewaschen, dann getrocknet und anschließend in Formalinlösung getaucht. Die Proben wurden dann im Labor in Scheiben von 2 bis 4 mm Tiefe geschnitten. Die Fistelgänge wurde nach Beibehaltung der Uhrzeigerpositionen (2, 5, 8 und 11) und durch die verschiedenen Scheiben und Proben identifiziert und in eine quadratische Form von 1,5 x 1,5 cm geschnitten. Die Proben wurden letztendlich mit Paraffin fixiert. Die Untersuchungen erfolgten aus proximalen, mittleren und distalen Teilen der Fistelgänge.

Die Verarbeitung der Paraffinblöcke umfasst das Schneiden histologischer Schnitte, die Verfärbung mit Hämatoxylin und Eosin (H/E) und das anschließende Scannen der histologischen Präparate.

Die histologischen Untersuchungen wurden gemäß der internen Prozedur der „laboratorio de análisis echervane“ durchgeführt.

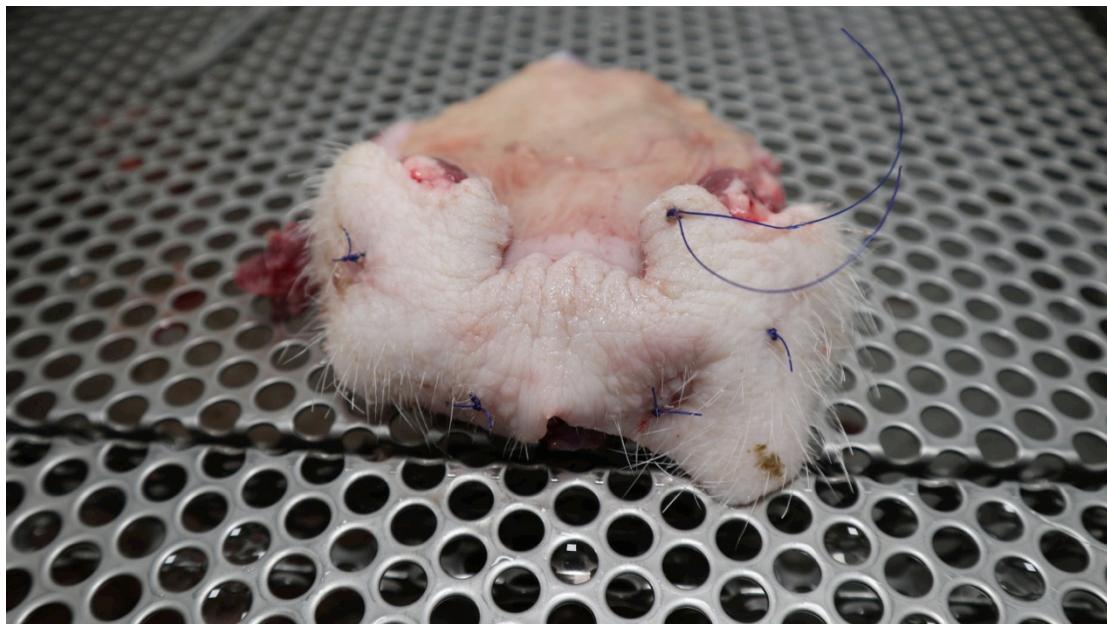


Abb.46: Exzision des perianalen Bereiches.



Abb.47: Paraffinblock.

Zur quantitativen Beurteilung der Ergebnisse wurden die Entzündungsreaktionen sowie die reaktive Fibrose durch Intensität nach der folgenden Skala eingestuft: (0: Abwesend, 1: Mild, 2: Mäßig, 3: Intensiv).

Überwiegender Zelltyp sowie das Vorhandensein von Granulationsgewebe und Keime wurden ebenfalls beurteilt.

## 4. Statistische Auswertung

Die Daten wurden digital anhand einer Microsoft-Excel-Tabelle erfasst und statistisch ausgewertet. Zur Deskription der metrischen Variablen wurden folgende Größen verwendet: Mittelwert, Minimum und Maximum +/- Standard Deviation.

Die Analyse der Sicherheit dieses innovativen Verfahrens wurde quantitativ in Bezug auf den Gewichtsverlauf berechnet. Qualitativ wurde eine Verhaltenscore etabliert.

Die Analyse der makroskopischen Daten wurde durchgeführt, um den Verschluss der Fisteln zu untersuchen. Hier wurden als Faktoren, die Fistelgangslänge, die Anzahl benutzter Schwämme und die MRT-morphologischen Bilder definiert.

Die mikroskopischen Daten wurden deskriptiv und quantitativ ausgewertet. Die Anwesenheit entzündlicher Reaktionen, Fibrose, Granulationsgewebe sowie Fremdkörperreaktionen wurden ausgesucht. Als Signifikanztest wurden der Chi-Quadrat Test, Fischer Exact Test sowie R! Programm verwendet. Als Signifikanzniveau wurde  $p = 0.05$  festgelegt.

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Plan der Phase 1 (Pilotschwein)

Zwischen September und November 2019 erfolgte die Pilotstudie oder Phase 1. Hier konnten wir das Modell etablieren und die Machbarkeit des Versuchs prüfen. Der detaillierte Plan der Phase 1 befindet sich im Anhang (Punkt 9.7.).

#### 5.1.1. Ergebnisse der Phase 1

Die Phase 1 ist wie geplant problemlos verlaufen. Es gab keine Abweichungen vom Plan. Es wurden ein paar Änderungen im Tierversuch vorgenommen. Diese werden im Kapitel 6 diskutiert.

### 5.2. Plan der Phase 2 (Tierversuch)

Der Tierversuch verlief zwischen dem 25.11.2019 und 09.03.2020 nach dem Schema in der Tabelle 2.

	<b>Dauer (Tag)</b>	<b>Anfang</b>	<b>Ende</b>
<b>Tierversuch (Phase 2)</b>	<b>107</b>	<b>25.11.2019</b>	<b>09.03.2020</b>
Quarantäne	17	25.11.2019	11.12.2019
<b>Fistelerstellungszeit</b>	<b>41,42</b>	<b>12&amp;13.12.2019</b>	<b>22.01.2020</b>
Chirurgie	2	12.12.2019	13.12.2019
Fistelerstellung	41,42	12&13.12.2019	22.01.2020
MRT+Bluttest	Montag&Dienstag	<b>20.01.2020</b>	<b>21.01.2020</b>
<b>Fistelbehandlungszeit</b>	<b>20</b>	<b>22.01.2020</b>	<b>10.02.2020</b>
EFVT- Schwammwechsel	20	22.01.2020	10.02.2020
MRT+Bluttest	Freitag&Montag	13.02.2020	17.02.2020
<b>Beobachtungszeit</b>	<b>28</b>	<b>10.02.2020</b>	<b>09.03.2020</b>
MRT+Bluttest	1	09.03.2020	09.03.2020
Euthanasie +Exzision en bloc	1	09.03.2020	09.03.2020

Tabelle 2: Plan der Phase 2.

### 5.2.1. Ergebnisse der Phase 2

Am 12. und 13. Dezember 2019 erfolgten die Operationen zur Fistelbildung. Postoperativ hatte sich das Schwein „SUS 676“ nicht erholt. Ursache war möglicherweise eine Nebenwirkung des Tracrium™ (Atracurium). Im weiteren Verlauf wurde Tracrium™ vom Narkoseprotokoll ausgeschlossen.

Die MRT Untersuchungen zeigten nach 39 Tagen den Nachweis von je vier transssphinktären Analfisteln pro Schwein bei den verbliebenen drei Tieren („SUS 675“, „SUS 680“ und „SUS 683“). Die Analfisteln stellten sich auf 2, 5, 8 und 11 Uhrzeigerpositionen RL dar wie in der Abbildung 29 dargestellt.

Die Behandlungsphase fing am 22.01.2020 an. Zwei der vier Fisteln wurden mit EFVT-Schwamm behandelt (T). Die anderen zwei Fisteln wurden als Kontrolle vorgesehen. Die erste wurde als negative (N) Kontrolle (ohne Redon-Drainage in situ und mit regelmäßiger Spülung) und die zweite als positive (P) Kontrolle (mit der Drainage in situ sowie regelmäßiger Spülung) beschrieben.

Acht feste Termine wurden zum Schwammwechsel festgelegt. Das Schwammwechselsprogramm erfolgte im Abstand vom 48-72h, und endete beim makroskopischen Fistelverschluss, beziehungsweise bei einer gemessenen Fistelgangslänge < 2cm.

Als Heilungskriterium wurde der makroskopische Verschluss des Fistelganges von innen nach außen festgelegt. In der Beobachtungszeit sind alle Fisteln makroskopisch geheilt.

#### *I. Gewichtsverlauf der Tiere*

Das Gewicht der Tiere wurde regelmäßig gemessen. Der Gewichtsverlauf der Tiere befindet sich im Anhang (Punkt 9.8.).

Nach der Operation zur Fistelbildung nahmen alle 3 Tiere ab. Im weiteren Verlauf nahmen alle Tiere über das Ausgangsgewicht hinaus zu. Die Abbildung 48 zeigt einen Überblick des Gewichtsverlaufs der 3 Schweine während der experimentellen Phase.

Trotz der Gewichtsschwankung kam es zu einer signifikanten Steigerung des Gewichtes über alle drei Schweine. Diese wurde bestätigt durch die in Blau verfärbte Trendlinie in der Abbildung 49.

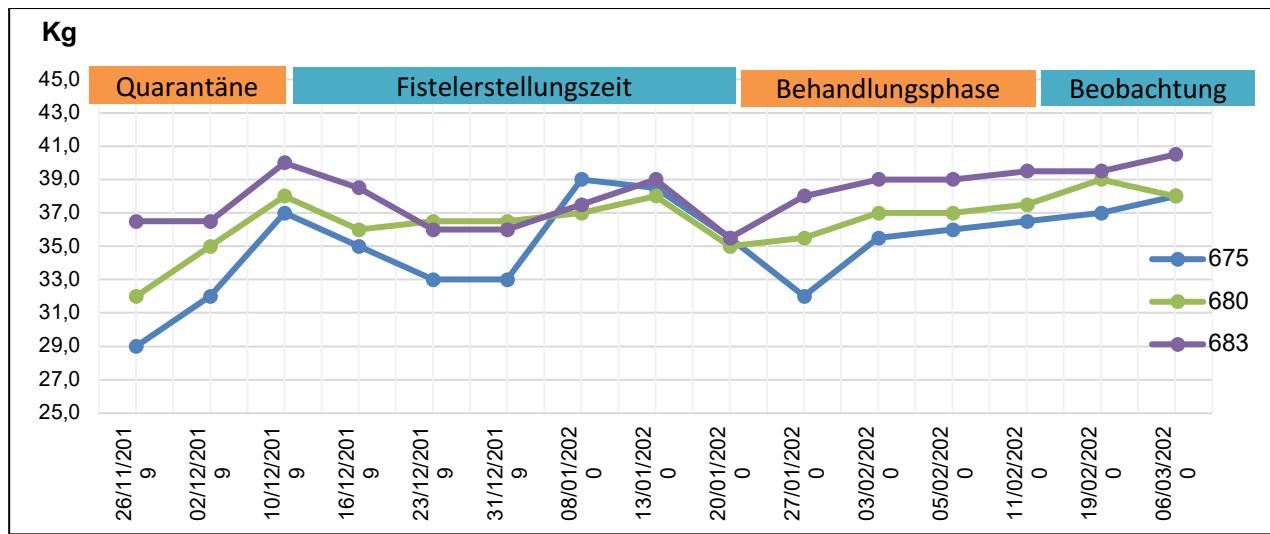


Abb. 48: Gewicht der Tiere im Verlauf des Versuchs.

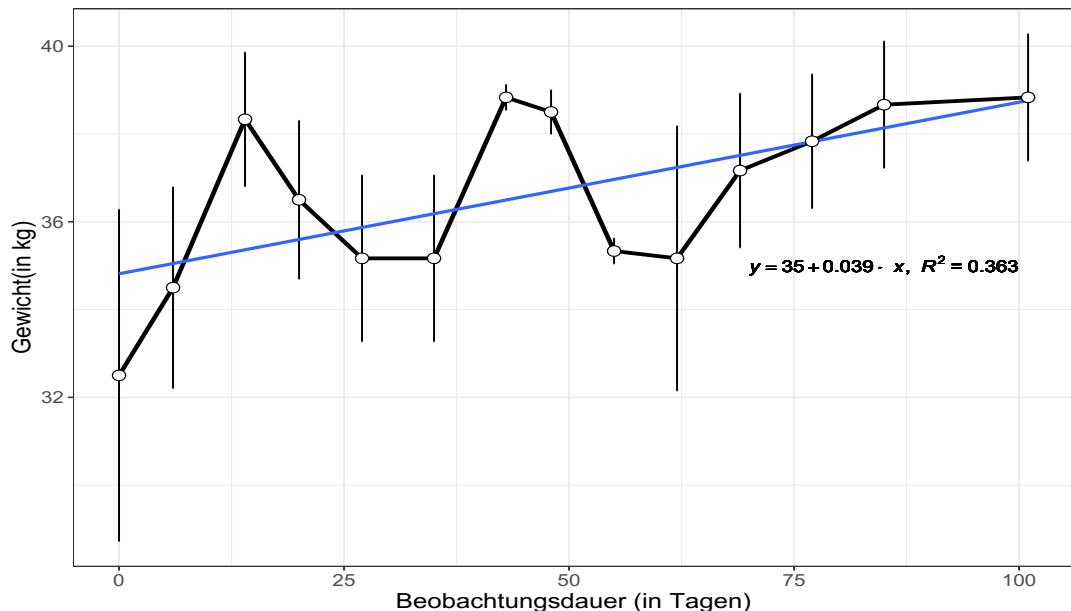


Abb.49: Die Trendlinie (blau) und die signifikante Gewichtssteigerung.

## II. Laborwerte

Die regelmäßigen Blutabnahmen zeigten keine Auffälligkeiten. Diese wurden entsprechend dem Phasenplan durchgeführt. Sie werden im Anhang (Punkt 9.9.) gezeigt und im Kapitel 6 diskutiert.

### III. Klinische Beobachtung

#### A. Werteskala zu den klinischen Beobachtungen

Während der 42 Tagen der Fistelerstellungszeit wurden die Tiere alle drei Tage gemäß des Überwachungsprotokolls bewertet. In 37,5% der Beobachtungszeitpunkte während Fistellerstellungszeit zeigten die Tiere eine Veränderung des Wohlbefindens. Im weiteren Verlauf (Behandlungs- und Beobachtungsphase) zeigten die Tiere keine Verhaltensänderung. Die maximale erreichte Punktzahl betrug 6. Nach der Skala zwischen 3-6 Punkten bedeutet, dass die Tiere möglicherweise Schmerzen zeigten ohne Behandlungsbedarf. Die Ergebnisse sind in die Tabelle 3 detailliert.

Tier	18.12.19	19.12.19	16.01.20	17.01.20	21.01.20
„675“	0	0	5 Punkte	5 Punkte	4 Punkte
„680“	4 Punkte	4 Punkte	5 Punkte	4 Punkte	0
„683“	0	0	6 Punkte	6 Punkte	0

Tabelle 3: Werteskala.

#### B. Makroskopische Untersuchung der Fistelgangslänge

Die Länge der Fistelgänge wurden während der Behandlungs- und Beobachtungszeit vor jedem Wechsel mittels metallischer Probe sowie plastischer Redon gemessen. Die folgende Abbildung (Abb. 50) zeigt den gesamten Verlauf aller Fisteln.

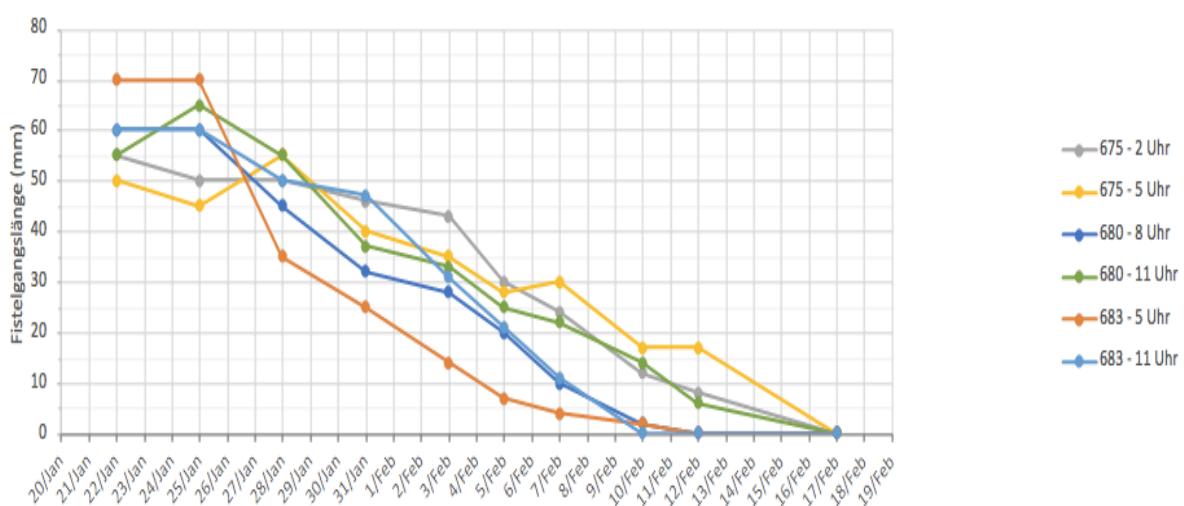


Abb.50: Darstellung der Fistelgangslängen im zeitlichen Verlauf.

### C. Verschlussrate der therapierten Fistelgänge

Um diesen Wert zu generieren, wurden die Behandlungs- sowie die Verschlusszeiten gemessen. Die Behandlungszeit ist die Zeit zwischen der Operation der Fistelbildung und die Entfernung des letzten Schwammes, wobei die Verschlusszeit bei der makroskopischen Heilung der Fistel endete. Zusätzliche Informationen bezüglich der Anzahl der benutzten Schwämme findet sich in der Tabelle 4.

Tier	Position	Behandlungszeit (Tag)	Verschlusszeit (Tag)	Anzahl der benutzten Schwämme	Verschlussrate (mm/Tag)
<b>SUS 675</b>	2 Uhr	21	26	8	2.1
	5 Uhr	21	26	8	1.9
<b>SUS 680</b>	8 Uhr	16	21	6	2.9
	11 Uhr	21	26	8	2.1
<b>SUS 683</b>	5 Uhr	14	21	5	3.3
	11 Uhr	16	19	6	3.2
<b>Mittelwert ± St. Dev</b>		$18 \pm 3$	$23 \pm 3$	$7 \pm 1$ Schwamm	$2.58 \pm 0.57$ mm/Tag

Tabelle 4: Verschlussrate der therapierten Fistelgänge.

Die folgende Abbildung (Abb.51) zeigt, dass die therapierten Fistelgänge nach ca. 12 Tagen zur 50% verschlossen waren, wobei die nach 26 Tagen bei allen Schweinen komplett verschlossen waren.

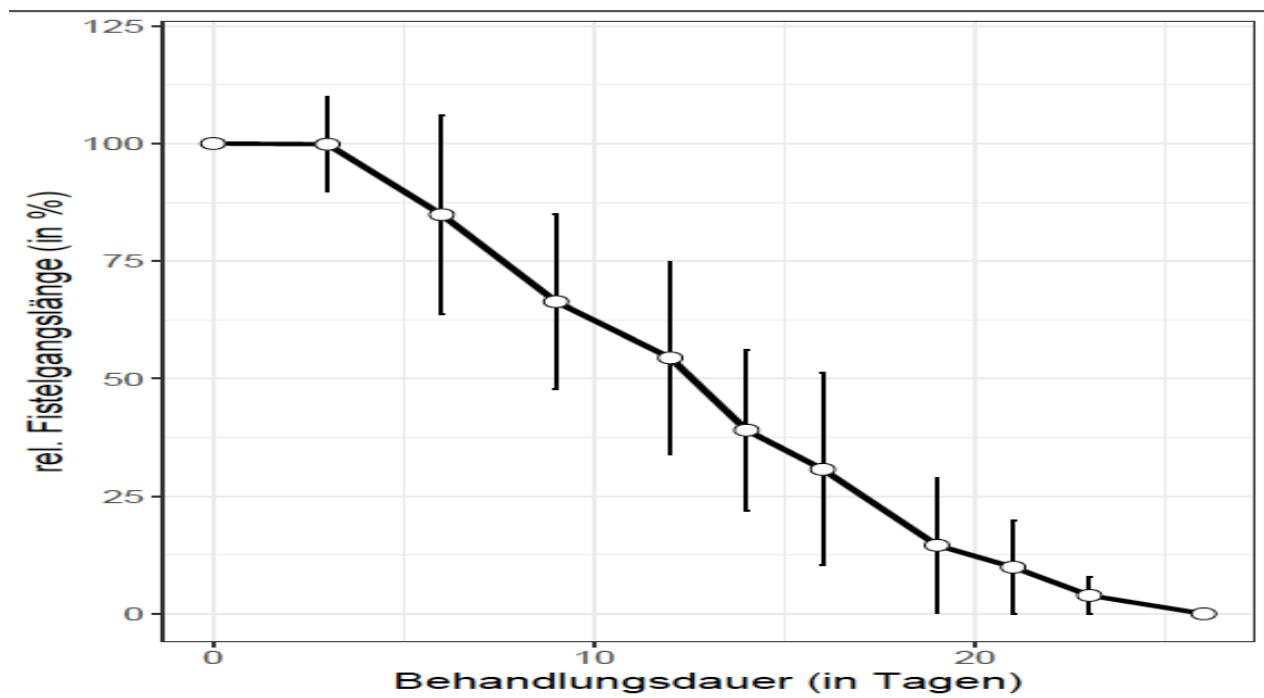


Abb.51: Zeigt die relative Fistelgangslänge zu der Zeit.

#### IV. Radiologische Ergebnisse

Die radiologischen Ergebnisse wurden anhand von drei MRTs dargestellt und nach der Einstufung schon in Punkt 3.3.4. klassifiziert. Zur besseren Abklärung wurden die Fistelgänge mit Farben kodiert (Rot: negative Kontrolle, Grün: positive Kontrolle, Blau und Gelb: therapierte Fistelgänge mit EFVT) (Abb.52).

Diese Ergebnisse sind in der Tabelle 5 zusammengefasst und zeigten bei der ersten Untersuchung, außer der negativen Kontrolle beim „SUS 683“, die teilweise verschlossen war, keine Besonderheiten (Abb.53).

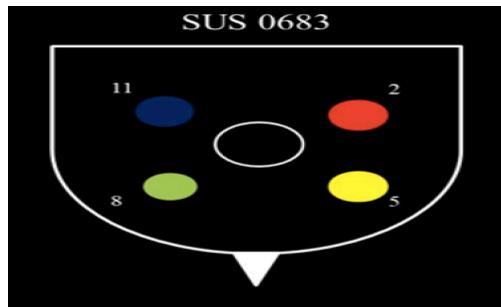


Abb.52: Muster beim „SUS 683“.

Gruppe	Tier	MRT Farbencode	1 MRT Fistelerstellung	2 MRT Behandlung	3 MRT Beobachtung	Komplikation
negative Kontrolle	SUS 675		Offen	Teilweise verschlossen	Vollständig verschlossen	Keine
	SUS 680		Offen	Teilweise verschlossen	Vollständig verschlossen	Keine
	SUS 683		Teilweise verschlossen	Teilweise verschlossen	Vollständig verschlossen	Keine
positive Kontrolle	SUS 675		Offen	Offen	Teilweise verschlossen	Keine
	SUS 680		Offen	Offen	Teilweise verschlossen	Keine
	SUS 683		Offen	Offen	Teilweise verschlossen	Abszess
1.EFVT Fisteln	SUS 675		Offen	Teilweise verschlossen	Vollständig verschlossen	Keine
	SUS 680		Offen	Teilweise verschlossen	Vollständig verschlossen	Keine
	SUS 683		Offen	Vollständig verschlossen	Vollständig verschlossen	Keine
2.EFVT Fisteln	SUS 675		Offen	Teilweise verschlossen	Vollständig verschlossen	Keine
	SUS 680		Offen	Teilweise verschlossen	Vollständig verschlossen	Keine
	SUS 683		Offen	Teilweise verschlossen	Vollständig verschlossen	Keine

Tabelle 5: MRT Befunde.

### MRT vor Behandlung

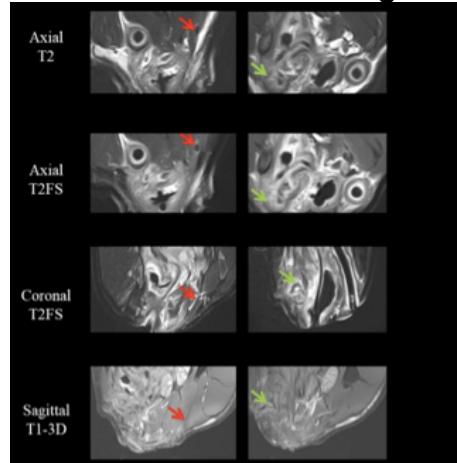


Abb. 53: „SUS 683“, negative Kontrolle.

Nach der Behandlungsphase kam es bei allen Schweinen zu keinen unerwarteten Ergebnissen.

Nach der Beobachtungszeit aber zeigte sich die MRT beim „SUS 683“ vom 17.02.2020 bei 8 Uhrzeigerposition RL (grün) eine Abszessformation von 39x 26,51x35,86mm (Abb.54).

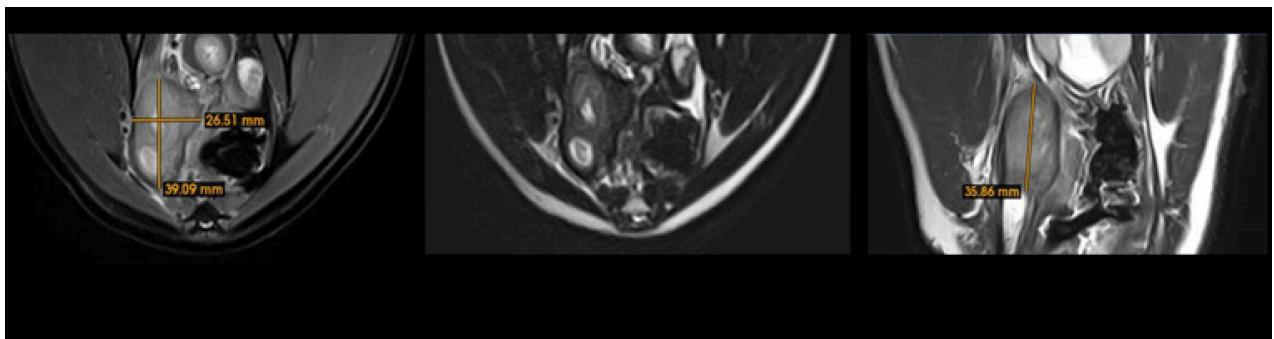


Abb. 54: „SUS 683“, 8 Uhrzeigerposition RL, Abszess.

Im weiteren Verlauf (Follow-up MRT vom 09.03.2020) zeigte die Abszessformation eine Größenprogredienz mit 66,61x42,12x49,73 mm. (Abb.55).

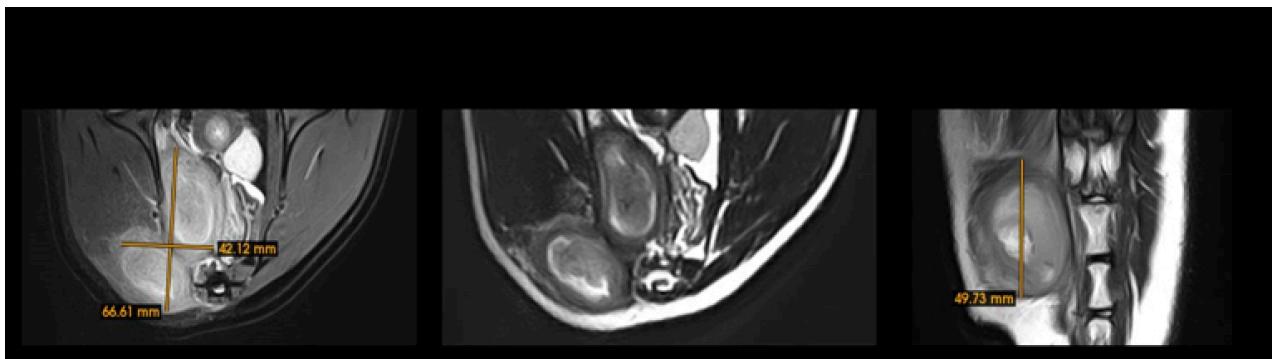


Abb. 55: „SUS 683“, 8 Uhrzeigerposition RL, Follow up.

Ein Muster der radiologischen Ergebnisse beim „SUS 675“ findet sich im Anhang (Punkt 9.11.).

#### **V. Histopathologische Ergebnisse**

Insgesamt wurde bei den meisten Fistelgängen eine leichte bis mittelschwere Entzündung beobachtet. Die Entzündungsreaktion war besonders intensiv bei den positiven Kontrollen „SUS 675“-11 Uhrzeigerposition, „SUS 680“-2 Uhrzeigerposition und „SUS 683“-8 Uhrzeigerposition (Abb.56).

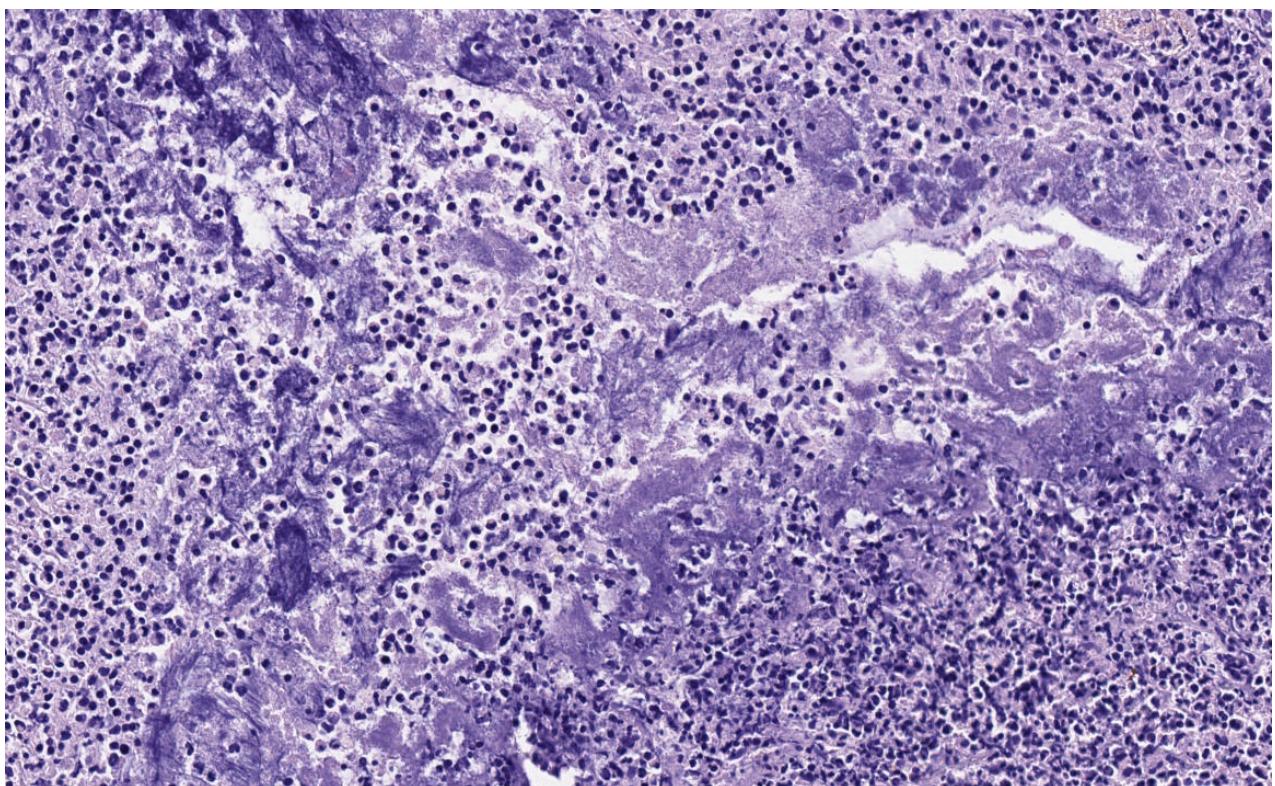


Abb.56: intensive Entzündungsreaktion, „SUS 680“, 2 Uhrzeigerposition RL.

Bei „SUS 683“-2 Uhrzeigerposition und „SUS 683“-5 Uhrzeigerposition war keine signifikante Entzündungsreaktion zu finden (Abb.57). Der überwiegende entzündliche Zelltyp stellte sich lymphoplasmozytisch dar (Muster: „SUS 683“-11 Uhrzeigerposition) (Abb.58).

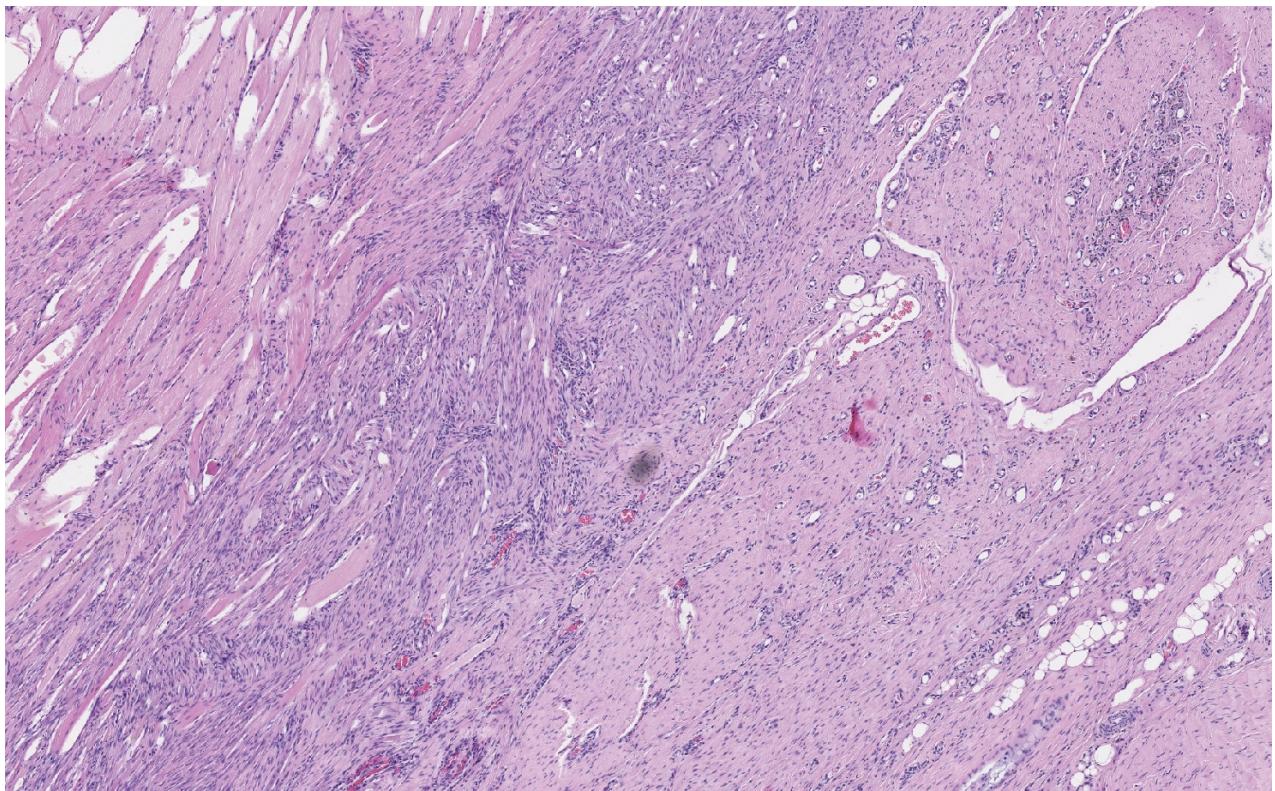


Abb.57: keine signifikante Entzündungsreaktion, „SUS 683“, 2 Uhrzeigerposition RL.

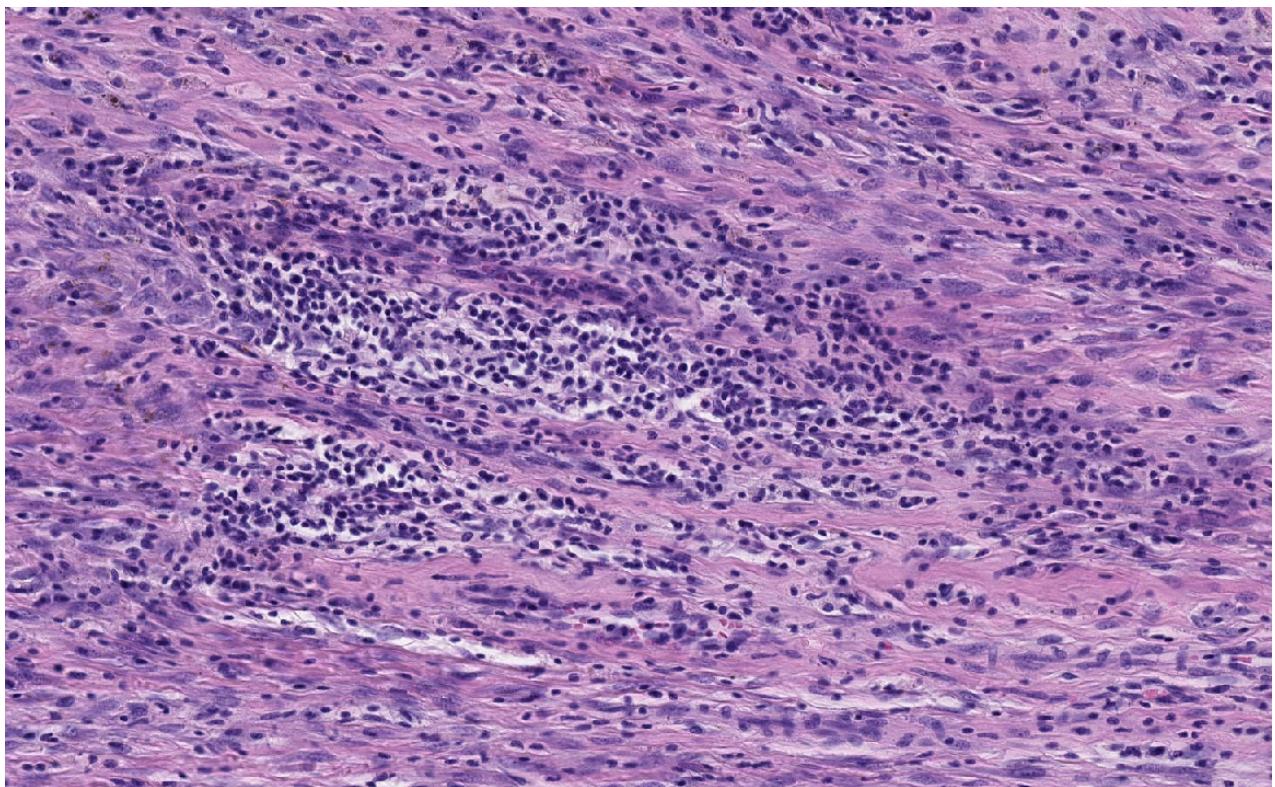


Abb. 58: Lymphoplasmozytische Zellen, „SUS 675“, 11 Uhrzeigerposition RL.

In einigen Abschnitten gab es auch eine granulomatöse Komponente (Abb. 59). In anderen wurden Hämosiderophagen nachgewiesen (Abb. 57,60).

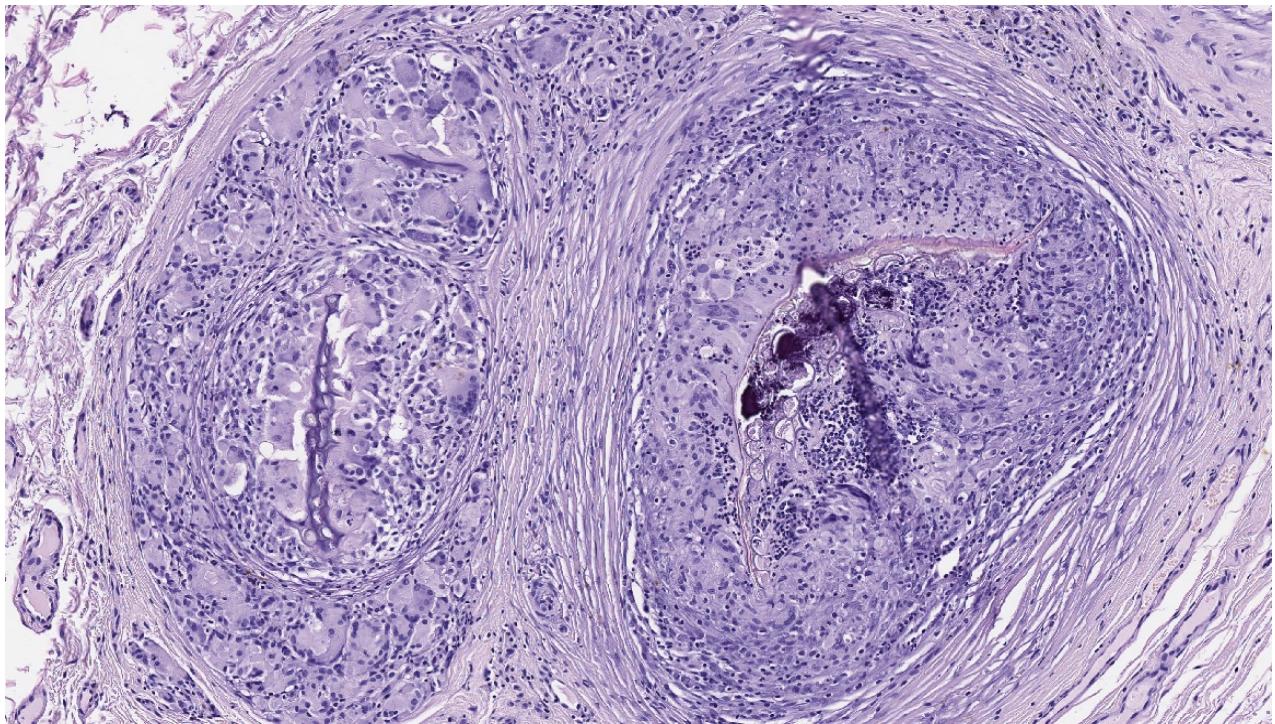


Abb. 59: „SUS 675“, 8 Uhrzeigerposition RL, Fremdkörperreaktion.

Schließlich gab es in „SUS 683“-8 Uhrzeigerposition eine intensive pyogranulomatöse Reaktion (Abb.60).

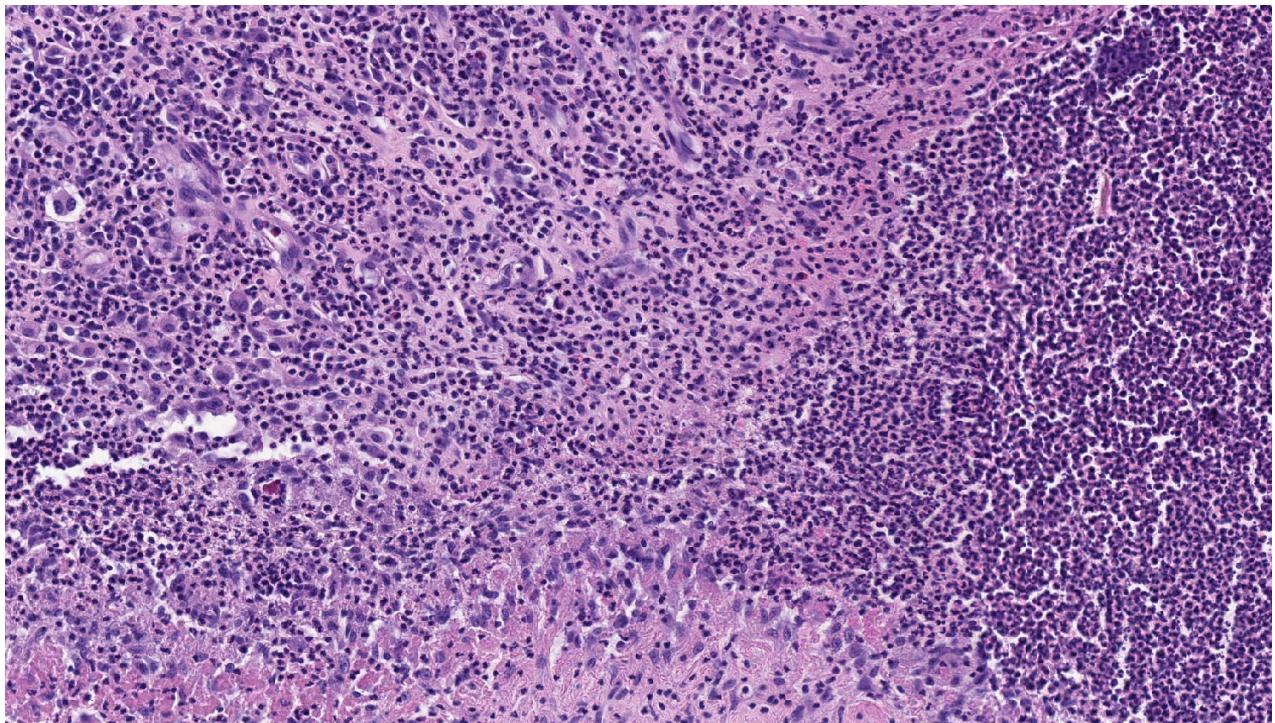


Abb.60: pyogranulomatöse Reaktion, „SUS 683“, 8 Uhrzeigerposition RL.

## 6. Diskussion

### 6.1. Vakuumtherapie

Die Unterdrucktherapie hat in der letzten 20 Jahren eine bedeutende Rolle in der Behandlung von Anastomosenleckagen im Bereich des unteren sowie oberen GI-Traktes gezeigt.

Die Wirksamkeits- und Sicherheitsprofile der EVT wurden 2019 in einem Review über die endoskopische Behandlung bei Anastomoseninsuffizienzen nach kolorektaler Chirurgie bestätigt. Von 14 Studien (Fallserien und Kohortenstudien) mit insgesamt 197 mit EVT behandelten Patienten zeigte sich eine Erfolgsrate von 88,8% bei sehr geringer Komplikationsrate [88]. Ebenfalls lag die bisher publizierte Heilungsrate der EVT bei 60-100% für Leckagen im oberen GI-Trakt [89].

Nach diesen erfolgversprechenden Ergebnissen kam die Idee, diese Therapie bei komplexen Analfisteln anzuwenden. Als Heilversuch wurde die Unterdrucktherapie bei zwei Gruppen von Patienten mit Analfisteln in Kiel und Polen verwendet [82][83]. Hier wurden nur Patienten mit komplizierten Analfisteln behandelt. Die meisten Patienten waren schon mehrfach mit erhöhter Rezidivrate voroperiert worden und wurden als problematisch zu versorgende Patientengruppe gesehen. Die Autoren therapierten gemischte Patientengruppen (Morbus Crohn- sowie kryptoglanduläre Ursache) experimentell im Sinne von Heilversuchen mit selbstgebauten Materialen. Trotzdem waren die ersten veröffentlichten Ergebnisse sehr vielversprechend. Es war aber in der Aussage bei kleiner Fallzahl nicht ausreichend, um sich als Therapieform zu etablieren. Laut der sogenannten Helsinki-Deklaration des Weltärztekongresses: „Medizinische Forschung am Menschen muss den allgemein anerkannten wissenschaftlichen Grundsätzen entsprechen sowie auf einer gründlichen Kenntnis der wissenschaftlichen Literatur, anderen relevanten Informationsquellen, ausreichenden Laborversuchen und, sofern angemessen, auf Tierversuchen basieren“ [90], sollte aus diesem Grund diese Therapie in der vorliegenden Arbeit in Tierversuchen zunächst erforscht werden.

## 6.2. Überprüfung der Methodik

### A. Modelletablierung

Schreiber kam in seiner Arbeit von 2000 zu dem Schluss, dass Tiermodelle zwar oft nur einige Elemente der Pathophysiologie widerspiegeln, aber immer ein wichtiges Instrument für die gastroenterologische und insbesondere chirurgische Forschung darstellen. Die Qualität des Tierversuchs hänge stark von der Qualität und Spezifität der gestellten experimentellen Frage ab [91].

In einem systematischen Rückblick aus dem Jahr 2017 fasste Evers die Modelle zusammen, die bei der Erforschung der Ursprünge und der Behandlung von Stuhlinkontinenz verwendet wurden. Unter ihnen fand er 31 Modelle bei Ratten, 8 bei Hunden, 7 bei Kaninchen und 4 bei Schweinen. Bei den Analfisteln handelte es sich hauptsächlich um Schweine- und Kaninchenmodelle [92].

Trotz der Tatsache, dass der Deutsche Schäferhund und die Affen Analdrüsen haben und diese Arten ideale Modelle für Analfisteln sind, waren diese Arten für experimentelle Studien emotional und ethisch nicht akzeptabel [85][93]. Eine gründliche Untersuchung der Literatur ergab, dass anatomisch gesehen die Anordnung der Analkanalmuskulatur von Schweinen sowie das Vorhandensein von inneren und äußeren Schließmuskeln beim Menschen ähnlich sind [85][93]. Schweinemodelle wurden erfolgreich in anderen gastrointestinalen Studien eingesetzt [94][95].

In der Literatur wurden zwei experimentelle Schweinmodelle etabliert (Buchanan, Aikawa) [85][86]. Die Unterschiede zwischen die beiden Modellen lagen in der Position der iatrogenen Fisteln, Durchmesser der angewendeten Setondrainagen und die Fistelbildungszeiten. Diese waren bei Buchanan: 3, 6 und 12 Uhrzeigerpositionen RL, 14 F und 26 Tagen, beziehungsweise 2, 5, 8 und 11 Uhrzeigerpositionen RL, 19 F und 28 Tagen bei Aikawa [86].

In unserer Arbeit entschieden wir uns für das Modell nach Aikawa, damit bei jedem Schwein 4 iatrogenen Analfisteln in die Versuche eingehen. Der Durchmesser der Setondrainage war 8 mm (24 F). Somit konnte eine sichere Fistelbildung erreicht werden. Außerdem war die Fistelbildungszeit auch länger (39 bzw. 40 Tage). Dies hat sicher auch einen positiven Einfluss auf die sichere Etablierung der Fisteln gehabt. Zusätzlich wurde beschlossen, nur männliche Schweine zu verwenden, da weibliche Schweine einen gut entwickelten Muskelkomplex um den Analkanal und die Vagina haben [85][86]. Sie sind

somit mit Menschen, die ebenfalls weniger ausgeprägte Muskulatur in dem Bereich haben, vergleichbar und sind zudem leichter zu operieren als weibliche Schweine. Insgesamt kann man resümieren, dass sich die Wahl des Modells nach Aikawa für diesen Versuchsaufbau bewährt hat.

## **B. Chirurgie, MRT, Schwamm und Pumpe**

### *Chirurgie*

Im „CMCiB“ konnten die chirurgischen Operationen in modernen Op-Sälen mit neuen technischen Ausrüstungen durchgeführt werden. Dies half dabei, die menschlichen Operationen nachzuahmen. Es wurden kleine technische Änderungen nach der Phase 1 bei der Fistelbildungsoperation implementiert, zum Beispiel die Nutzung einer längeren gebogenen Klemme, um einen längeren Fistelgang zu bilden. Unser Ziel wurde nach dieser Änderung erreicht, da die Fistelgangslänge zwischen 50 und 70 mm im Vergleich zu 30 und 40 mm bei der Phase 1 betrugen.

Während der Studie erfolgte das 24 h/ 7 Tage Monitoring der Tiere durch Kameras, und wechselnder Schicht der Pflegekraft. Damit konnte sichergestellt werden, dass die Versuchstiere zu jeder Zeit überwacht wurden. Somit konnte eine Diskonnektion der Schläuche etc. verhindert werden und die Versuche konnten wie geplant durchgeführt werden.

### *MRT*

Zur Bestätigung der Bildung vier iatrogener Analfisteln pro Schwein erfolgte das MRT Becken mittels eines neuen Gerätes der Firma „Canon“ und das Modell: „Vantage Galan 3 Tesla“. Dieses Gerät wird als Standard in der menschlichen Diagnostik und Therapie verwendet. Ein im MRT spezialisierter Facharzt für Radiologie hat die Bildgebungen im Verlauf der Studie beurteilt, um den höchsten Standard der Auswertung zu erreichen. Im MRT konnte eine hundertprozentige Erfolgsrate für die Etablierung des Schweinefistelmodells in Hinblick auf die erfolgreiche Fistelbildung festgestellt werden.

### *Schwamm*

Der Prototyp EFVT-Schwamm, welcher eingesetzt wurde, wurde im Vorfeld mehrfach geändert. Auf der einen Seite wurde der Schwammdurchmesser verkleinert und der Durchmesser des Redon-Verbindungsschlauches vergrößert. Dies war die Erfahrung aus den Heilversuchen der Kieler Arbeitsgruppe. Vor allem der Durchmesser des Redon-Verbindungsschlauches mit 8-Charrier hat in dieser Studie dazu geführt, dass die Schläuche nicht verstopfen. Auf der anderen Seite wurde ein neues Konnektionsystem etabliert, was dazu führte, dass bei allen Versuchstieren sicher der negative Druck zu jeder Zeit aufrechterhalten werden konnte.

### *Pumpe*

Zur Applizierung des Vakuums wurde die ATMOS® S 042 NPWT Pumpe gewählt. Diese Pumpe ist bei Menschen als Vakuumpumpe zugelassen und hat auch in diesem Versuch ohne Störung zu jeder Zeit die Funktion voll ausgeführt.

## **6.3. Ergebnisse**

Die Schwammwechsel erfolgten nach dem Schema ohne Abweichungen vom Plan. Während dieser ganzen Zeit zeigten die Tiere außer „SUS 675“ keine notleidenden Zeichen. Das oben erwähnte Schwein hatte an Gewicht und Appetit verloren. Die Blutuntersuchungen zeigten keine Auffälligkeiten. Im weiteren Verlauf nahm „SUS 675“ wieder zu und zeigte kein auffälliges Verhalten mehr. Lokal an den Eintrittsstellen des Schwammes zeigten die Tiere einige lokale Reizungen, die möglicherweise mit der Spannung nach dem Nähen der Wunden zusammenhängen.

Bemerkenswert war auch, dass alle Tiere auf dem Rücken lokale kleine Abszesse im Bereich der Fixation der Schläuche zeigten. Diese Abszesse wurden durch lokale Desinfektion und Inzisionen behandelt. Es erfolgte die Umstellung des Nahtmaterials auf Monofilament sowie die Nahtformen vom Z-Naht auf Tabaksbeutelnaht. Am Rücken wurden die Positionen der Nähte gewechselt. Der Einsatz von Antibiotika war nicht erforderlich. Danach heilten die Wunden vollständig ab. Die Blutuntersuchungen zeigten bei den drei Tieren leicht erhöhte Leukozyten, Neutrophilen und Lymphozyten, sowie Abfall des Globulins, was für eine entzündliche Reaktion spricht, diese aber waren beim „SUS

675“ und „SUS 680“ im Verlauf rückläufig. Bei dem Schwein „SUS 683“ konnte die verbliebene Leukozytose sowie die Thrombozytopenie während der Beobachtungszeit mit der vorbeschriebenen Abszessformation vereinbart werden. Der leichte Anstieg der Harnsäure (BUN) könnte mit einer Dehydrierung zusammenhängen, dabei könnte der leichte Anstieg des Kaliums auf eine hämolysierte Probe oder auf eine akute Azidose ggf. Hyperosmolarität zurückzuführen sein. Keine dieser Veränderungen hat eine große klinische Bedeutung gehabt.

Die negativen Kontrollwunden heilten extrem schnell. Beim ersten Wechsel des Schwammes am Tag 3 waren diese Wunden von außen makroskopisch fast hundertprozentig geheilt. Die Selbstheilung kann mit der Anti-Infektionsfähigkeit des Schweins selbst zusammenhängen, der genaue Mechanismus ist jedoch unklar [96][97]. Als einzige radiologische Komplikation wurde die schon erwähnte Abszessformation im Bereich der positiven Kontrolle beim „SUS 680“ mit 8,33% (1/12Fisteln) erfasst. Diese Formation wurde durch eine zusätzliche MRT-Bildgebung kontrolliert und war großprogradient. Das Schwein hat keine Verhaltensänderung gezeigt, und die Läsion wurde durch die Tierärzte als nicht behandlungsbedürftig bewertet.

Die histologischen Auswertungen bestätigten den Erfolg der Etablierung und Behandlung iatgener Analfisteln in einem Schweinemodell. Qualitativ zeigten die untersuchten Läsionen eine Mischung der Entzündungszelltypen mit führenden Lymphoplasmazellen, was für eine Chronizität spricht. Die nachgewiesene granulomatöse Komponente könnte mit Fremdkörperreaktionen oder mit infektiösen Ursachen zusammenhängen.

In einigen Fisteln wurde Fremdkörperreaktionen dargestellt „SUS 675“-5 Uhrzeigerposition und „SUS 675“-8 Uhrzeigerposition (eine therapierte Fistel und eine positive Kontrolle). Es konnte durch einen Rest des Schwammes bzw. das Vorhandensein der Redon-Drainage erklärt werden. Warum bei den anderen positiven Kontrollen dies nicht nachgewiesen ist, bleibt unklar. Bei „SUS 683“-8 Uhrzeigerposition konnte die pyogranulomatöse Reaktion als infektiöser akuter Typ interpretiert werden. Das Vorhandensein von Hämosiderophagen weist auf frühere lokale Blutungen hin. Diese Blutung war lokalisiert und in vielen Fällen befand sie sich im Reabsorptionsprozess (Abb.57,60).

Aikawa et al. [86] berichteten, dass 58,3 % der Fistelkontrollen spontan verheilt waren. Bei unserer Studie wurden die von der negativen Kontrollgruppe (N) erzeugten Daten auch mit denen, die vom EFVT-Schwamm behandelt (T) wurden, quantitativ und statistisch verglichen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der

Entzündungsreaktionen ( $p=0,32$ ), bzw. der Lymphoplasmazellen ( $p=0,17$ ), oder Siederophagen ( $p=0,41$ ), sowie beim Vorhandensein der Fibrose ( $p=0,27$ ) bzw. Granulationsgewebe ( $p=0,69$ ).

Diese Ergebnisse zeigten somit keinen Unterschied in Hinblick der verwendeten Therapieverfahren.

Das Ziel dieser Studie war, die Machbarkeit und die Sicherheit der Verwendung einer Vakuumtherapie in Analfisteln im Tiermodell zu prüfen. Die Machbarkeit konnte nach zwei Phasen durch die sehr klare Anwendungsmethode bestätigt werden. Die drei Schweine zeigten während der Behandlungszeit eine Gewichtszunahme sowie keine negativen Reaktionen. Radiologisch und histopathologisch zeigten die Ergebnisse keine direkt verbundenen Komplikationen mit der Vakuumtherapie. Diese schon erwähnten Kriterien sprechen für eine sichere Behandlung der vakuumassistierten Therapie von Analfisteln.

#### **6.4. Kritik der Studie**

Es ist sehr schwierig, mit dieser kleinen Kohorte (drei Schweine und sechs therapierte Fisteln) abzuleiten, dass dies die beste Behandlungsmethode für komplizierte Analfisteln ist. Bisher wurden Patienten nur im Rahmen von Heilversuchen mit diesem Verfahren behandelt. Die benutzten Schwämme und Schläuche waren selbst hergestellt und waren sowohl für Chirurg als auch Patient eine große Herausforderung. Der fehlende Vergleich zu etablierten Therapieverfahren ist sicherlich als Schwäche unsere Studie anzusehen.

## 7. Zusammenfassung

Seit der Zeit von Hippokrates sind die Ärzte mit der Heilung der Analfistel beschäftigt. Es wurden über die Jahre mehrere Therapieansätze verwendet. Trotz erheblicher Entwicklungen von Instrumenten sowie neuen chirurgischen Methoden, blieb das Problem ohne endgültige Lösung. Nach den positiven Ergebnissen der Vakuumtherapie bei der Behandlung chronischer Wunden, wurde die Idee zur Implementierung dieses Verfahrens bei Analfisteln geboren. Die ersten Ergebnisse der Heilversuche waren aussichtsvoll. Nach unseren Kenntnissen gab es bisher keine Tierversuche, die die Vakuumtherapie in der Behandlung komplexer Analfisteln geprüft hat. Unsere experimentellen Ergebnisse zeigen, dass diese Therapie sicher und machbar ist und als Alternative der bisherigen bekannten Therapieansätze angesehen werden kann. Diese Pilotstudie bildet die Grundlage für die Planung einer klinischen Studie und gegebenenfalls der Serienproduktion eines endofistulären Schwammes als zugelassenes Produkt.

## 8. Literaturverzeichnis

- [1] A. E. Ortega, A. Gesek, M. Linnebur, and K. G. Cologne, "Selected Techniques of Anal Fistula Surgery from Antiquity Through the Early 20th Century Illustrated," *Dis. Colon Rectum*, vol. 60, no. 6, pp. 636–646, 2017, doi: 10.1097/DCR.0000000000000833.
- [2] M. L. Corman, "Classic articles in colonic and rectal surgery. The classification of cancer of the rectum.," *Dis. Colon Rectum*, vol. 23, no. 8, pp. 605–611, 1980, doi: 10.1002/path.1700350303.
- [3] H. Rohde, *Lehratlas der Proktologie*. Thieme; 1., Aufl. edition (22 Nov 2006), 2006.
- [4] J. Beynon and N. Carr, "Master John of Arderne--surgeon of Newark.," *J. R. Soc. Med.*, vol. 81, no. 1, pp. 43–44, 1988, doi: 10.1177/014107688808100118.
- [5] V. de Parades, "Une fistule royale aux conséquences inattendue...," *Gastroenterol. Clin. Biol.*, vol. 32, no. 6–7, pp. 665–666, 2008, doi: 10.1016/j.gcb.2008.02.021.
- [6] A. W. Elting, "the Treatment of Fistula in Ano," *Annals of Surgery*, vol. 56, no. 5. pp. 726–752, 1912, doi: 10.1097/00000658-191211000-00010.
- [7] S. Stelzner and T. Wedel, "Clinical anatomy of the anorectal region with respect to anal fistulas," *Coloproctology*, vol. 41, no. 6, pp. 390–398, 2019, doi: 10.1007/s00053-019-00398-9.
- [8] P. J. Lunniss and R. K. S. Phillips, "Anatomy and function of the anal longitudinal muscle," *British Journal of Surgery*, vol. 79, no. 9. pp. 882–884, 1992, doi: 10.1002/bjs.1800790908.
- [9] H. Fritsch, E. Brenner, A. Lienemann, and B. Ludwikowski, "Anal sphincter complex: Reinterpreted morphology and its clinical relevance," *Dis. Colon Rectum*, vol. 45, no. 2, pp. 188–194, 2002, doi: 10.1007/s10350-004-6144-x.
- [10] F. Stelzner, "107. Fisteln und AbscesseFistulas and abscesses," *Langenbecks Arch. für Chir.*, vol. 352, no. 1, pp. 379–382, 1980, doi: 10.1007/bf01292070.
- [11] C. Fenger and M. I. Filipe, "Mucin histochemistry of the anal canal epithelium. Studies of normal anal mucosa and mucosa adjacent to carcinoma," *Histochem. J.*, vol. 13, no. 6, pp. 921–930, 1981, doi: 10.1007/BF01002632.
- [12] H. G. Lilius, "Fistula-in-ano, an investigation of human foetal anal ducts and intramuscular glands and a clinical study of 150 patients.," *Acta Chir. Scand. Suppl.*, vol. 383, pp. 7–88, 1968.
- [13] A. G. Parks, "Pathogenesis and treatment of fistula-in-ano," *Br. Med. J.*, vol. 1, no. 5224, pp. 463–469, 1961, doi: 10.1136/bmj.1.5224.463.
- [14] D. Wang, G. Yang, J. Song, L. Wang, J. Gao, C. Wang, "Risk factors for anal fistula: A case-control study," *Tech. Coloproctol.*, vol. 18, no. 7, pp. 635–639, 2014, doi: 10.1007/s10151-013-1111-y.
- [15] C. H, *Über die analen Divertikel der Rektumschleimhaut und ihre Beziehung zu den Analfisteln. Med Jahrbuecher*. Wien, 1878.
- [16] S. Eisenhammer, "The internal anal sphincter and the anorectal abscess.," *Surg. Gynecol. Obstet.*, vol. 103, no. 4, pp. 501–506, 1956.
- [17] F. Seow-Choen and J. M. S. Ho, "Histoanatomy of anal glands," *Dis. Colon Rectum*, vol. 37, no. 12, pp. 1215–1218, 1994, doi: 10.1007/BF02257784.
- [18] A. M. El-Tawil, "Mechanism of non-specific-fistula-in-ano: Hormonal aspects-Review," *Pathophysiology*, vol. 19, no. 1, pp. 55–59, 2012, doi: 10.1016/j.pathophys.2011.07.004.
- [19] M. J. F. X. Rickard, "Anal abscesses and fistulas," *ANZ Journal of Surgery*, vol. 75, no. 1–2. pp. 64–72, 2005, doi: 10.1111/j.1445-2197.2005.03280.x.

- [20] J. W. McElwain, M. D. MacLean, R. M. Alexander, B. Hoexter, and J. F. Guthrie, "Anorectal problems: Experience with primary fistulectomy for anorectal abscess, a report of 1,000 cases," *Dis. Colon Rectum*, vol. 18, no. 8, pp. 646–649, 1975, doi: 10.1007/BF02604266.
- [21] D. R. Read and H. Abcarian, "A prospective survey of 474 patients with anorectal abscess," *Dis. Colon Rectum*, vol. 22, no. 8, pp. 566–568, 1979, doi: 10.1007/BF02587008.
- [22] P. Sainio, "Fistula-in-ano in a defined population. Incidence and epidemiological aspects.," *Ann. Chir. Gynaecol.*, vol. 73, no. 4, pp. 219–224, 1984.
- [23] C. Zanotti, C. Martinez-Puente, I. Pascual, M. Pascual, D. Herreros, and D. García-Olmo, "An assessment of the incidence of fistula-in-ano in four countries of the European Union," *Int. J. Colorectal Dis.*, vol. 22, no. 12, pp. 1459–1462, 2007, doi: 10.1007/s00384-007-0334-7.
- [24] E. T. C. Milligan and C. N. Morgan, "Surgical anatomy of the anal canal. With special reference to anorectal fistula," *Lancet*, vol. 224, no. 5804, pp. 1150–1156, 1934, doi: 10.1016/S0140-6736(00)82376-4.
- [25] A. K. Joos, D. Bussen, and A. Herold, *Abszess, Analfistel, Analfissur, Allgemein- und Viszeralchirurgie up2date Heft 04 2009*: 221-236. 2009.
- [26] A. G. Parks, P. H. Gordon, and J. D. Hardcastle, "A classification of fistula-in-ano," *Br. J. Surg.*, vol. 63, no. 1, pp. 1–12, 1976, doi: 10.1002/bjs.1800630102.
- [27] A. Ommer, A. Herold, E. Berg, S. Farke, A. Fürst, F. Hetzer, A. Köhler, S. Post, R. Ruppert, M. Sailer, T. Schiedeck, O. Schwandner, B. Strittmatter, B.H. Lenhard, W. Bader, S. Krege, H. Krammer, E. Stange, "S3 guidelines: cryptoglandular anal fistulas: 2. revised version, The German Association of Scientific Medical Societies registration number: 088/003," *Coloproctology*, vol. 39, no. 1, pp. 16–66, 2017, doi: 10.1007/s00053-016-0110-7.
- [28] C. G. Marks and J. K. Ritchie, "Anal fistulas at St Mark's Hospital," *Br. J. Surg.*, vol. 64, no. 2, pp. 84–91, 1977, doi: 10.1002/bjs.1800640203.
- [29] D. H. Goodsall and W. E. Miles, "Ano-rectal fistula. In: Goodsall DH, Miles WE, editors. London: Longmans, Green & Co.; 1900. p. .," *Dis. anus rectum.*, vol. 1, pp. 92–137, 1900.
- [30] E. Stein, *Proktologie:Lehrbuch und Atlas.*, 4.Auflage. Springer; 4., vollst. überarb. Aufl. 2003 edition (9 Sep 2002), 2002.
- [31] C. Gonzalez-Ruiz, A. M. Kaiser, P. Vukasin, R. W. Beart, and A. E. Ortega, "Intraoperative physical diagnosis in the management of anal fistula," *American Surgeon*, vol. 72, no. 1. pp. 11–15, 2006, doi: 10.1016/s0739-5930(08)79230-4.
- [32] D. A. Schwartz, M. Wiersema, K. Dudiak, J. Fletcher, J. Clain, W. Tremaine, A. Zinsmeister, I. Norton, L. Boardman, R. Devine, B. Wolff, T. Young-Fadok, N. Diehl, J. Pemberton, W. Sandborn, "A comparison of endoscopic ultrasound, magnetic resonance imaging, and exam under anesthesia for evaluation of Crohn's perianal fistulas," *Gastroenterology*, vol. 121, no. 5, pp. 1064–1072, 2001, doi: 10.1053/gast.2001.28676.
- [33] C. Losonc, C. Podlinski, and W. Bell, "Nicht heilende analfistel: Frühzeitige indikation zur schnittbilddiagnostik," *Chir. Prax.*, vol. 74, no. 2, pp. 305–308, 2011.
- [34] A. Sofic, S. Beslic, N. Sehovic, J. Caluk, and D. Sofic, "MRI in evaluation of perianal fistulae," *Radiol. Oncol.*, vol. 44, no. 4, pp. 220–227, 2010, doi: 10.2478/v10019-010-0046-4.
- [35] Y. Maor, Y. Chowers, M. Koller, O. Zmora, S. Bar-Meir, and B. Avidan, "Endosonographic evaluation of perianal fistulas and abscesses: Comparison of two instruments and assessment of the role of hydrogen peroxide injection," *J. Clin.*

- Ultrasound*, vol. 33, no. 5, pp. 226–232, 2005, doi: 10.1002/jcu.20120.
- [36] I. Moscowitz, M. Baig, J. Nogueras, E. Ovalioglu, E. Weiss, J. Singh, S. Wexner, “Accuracy of hydrogen peroxide enhanced endoanal ultrasonography in assessment of the internal opening of an anal fistula complex,” *Tech. Coloproctol.*, vol. 7, no. 3, pp. 133–137, 2003, doi: 10.1007/s10151-003-0024-6.
- [37] M. Hori, A. Oto, S. Orrin, K. Suzuki, and R. L. Baron, “Diffusion-weighted MRI: A new tool for the diagnosis of fistula in ano,” *J. Magn. Reson. Imaging*, vol. 30, no. 5, pp. 1021–1026, 2009, doi: 10.1002/jmri.21934.
- [38] J. Garcia-Aguilar, C. Belmonte, W. Douglas Wong, S. M. Goldberg, and R. D. Madoff, “Anal fistula surgery: Factors associated with recurrence and incontinence,” *Dis. Colon Rectum*, vol. 39, no. 7, pp. 723–729, 1996, doi: 10.1007/BF02054434.
- [39] A. Y. Mason, “Surgical access to the rectum—a transsphincteric exposure.,” *Proc. R. Soc. Med.*, vol. 63 Suppl, pp. 91–94, 1970.
- [40] S. Athanasiadis, A. Köhler, and A. Ommer, “Management der perianalen Crohn-Fistel: Ein Plädoyer für die kontinente Fistulektomie,” *Dtsch Arztbl*, vol. 95, no. 48, pp. B2373–B2375, 1998.
- [41] I. E. Kronberger, “Surgery of anal fistula with primary sphincter-repair: A solution for all fistula types?,” *Coloproctology*, vol. 41, no. 6, pp. 405–408, 2019, doi: 10.1007/s00053-019-00403-1.
- [42] G. N. Buchanan, H. A. Owen, J. Torkington, P. J. Lunniss, R. J. Nicholls, and C. R. G. Cohen, “Long-term outcome following loose-seton technique for external sphincter preservation in complex anal fistula,” *Br. J. Surg.*, vol. 91, no. 4, pp. 476–480, 2004, doi: 10.1002/bjs.4466.
- [43] A. Hjortrup, F. Moesgaard, and J. Kjærgård, “Fibrin adhesive in the treatment of perineal fistulas,” *Dis. Colon Rectum*, vol. 34, no. 9, pp. 752–754, 1991, doi: 10.1007/BF02051064.
- [44] L. Patrlj, B. Kocman, M. Martinac, S. Jadrijević, T. Šoša, B. Šebećić, B. Brklijačić, “Fibrin glue-antibiotic mixture in the treatment of anal fistulae: Experience with 69 cases,” *Dig. Surg.*, vol. 17, no. 1, pp. 77–80, 2000, doi: 10.1159/000018804.
- [45] R. Lougnarath, D. W. Dietz, M. G. Mutch, E. H. Birnbaum, I. J. Kodner, and J. W. Fleshman, “Fibrin Glue Treatment of Complex Anal Fistulas Has Low Success Rate,” *Dis. Colon Rectum*, vol. 47, no. 4, pp. 432–436, 2004, doi: 10.1007/s10350-003-0076-8.
- [46] D. F. Altomare, V. Greco, N. Tricomi, F. Arcanà, S. Mancini, M. Rinaldi, A. Pulvirenti D'Urso, F. La Torre, “Seton or glue for trans-sphincteric anal fistulae: A prospective randomized crossover clinical trial,” *Color. Dis.*, vol. 13, no. 1, pp. 82–86, 2011, doi: 10.1111/j.1463-1318.2009.02056.x.
- [47] B. J. Champagne, L. M. O'Connor, M. Ferguson, G. R. Orangio, M. E. Schertzer, and D. N. Armstrong, “Efficacy of anal fistula plug in closure of cryptoglandular fistulas: Long-term follow-up,” *Dis. Colon Rectum*, vol. 49, no. 12, pp. 1817–1821, 2006, doi: 10.1007/s10350-006-0755-3.
- [48] E. K. Johnson, J. U. Gaw, and D. N. Armstrong, “Efficacy of anal fistula plug vs. fibrin glue in closure of anorectal fistulas,” *Dis. Colon Rectum*, vol. 49, no. 3, pp. 371–376, 2006, doi: 10.1007/s10350-005-0288-1.
- [49] D. G. Jayne, J. Scholefield, D. Tolan, R. Gray, R. Edlin, C.T. Hulme, A. Sutton, K. Handley, C. Hewitt, M. Kaur, L. Magill., “Anal fistula plug versus surgeon's preference for surgery for trans-sphincteric anal fistula: The FIAT RCT,” *Health Technol. Assess. (Rockv.)*, vol. 23, no. 21, pp. 1–75, 2019, doi: 10.3310/hta23210.
- [50] A. Kirschniak, T. Kratt, D. Stüker, A. Braun, M. O. Schurr, and A. Königsrainer, “A

- new endoscopic over-the-scope clip system for treatment of lesions and bleeding in the GI tract: first clinical experiences," *Gastrointest. Endosc.*, vol. 66, no. 1, pp. 162–167, 2007, doi: 10.1016/j.gie.2007.01.034.
- [51] R. L. Prosst, A. Herold, A. Joos, D. Bussen, M. Wehrmann, T. Gottwald, M. Schurr, "The anal fistula claw: The OTSC clip for anal fistula closure," *Color. Dis.*, vol. 14, no. 9, pp. 1112–1117, 2012, doi: 10.1111/j.1463-1318.2011.02902.x.
- [52] S. Blaumeiser, J. Lutonsky, M. Maurus, U. Nitsche, and W. Kauer, "Klinische Erfahrung mit dem OTSC Proctology: eine Multicenter -Analyse.," in *45. Deutscher Koloproktologenkongress der Deutschen Gesellschaft für Koloproktologie (DGK)*, 2019, pp. 1–2.
- [53] A. Rojanasakul Md, J. Pattanaarun Md, C. Sahakitrungruang Md, and K. Tantiphlachiva, "Case Report Total Anal Sphincter Saving Technique for Fistula-in-Ano; The Ligation of Intersphincteric Fistula Tract," *J Med Assoc Thai*, vol. 90, no. 3, pp. 581–586, 2007, [Online]. Available: <http://www.thaiscience.info/journals/Article/JMAT/10402053.pdf>.
- [54] C. N. Ellis, "Outcomes with the use of bioprosthetic grafts to reinforce the ligation of the intersphincteric fistula tract (BioLIFT procedure) for the management of complex anal fistulas," *Dis. Colon Rectum*, vol. 53, no. 10, pp. 1361–1364, 2010, doi: 10.1007/DCR.0b013e3181ec4470.
- [55] A. M. E. Sirany, R. M. Nygaard, and J. J. Morken, "The ligation of the intersphincteric fistula tract procedure for anal fistula: A mixed bag of results," *Dis. Colon Rectum*, vol. 58, no. 6, pp. 604–612, 2015, doi: 10.1097/DCR.0000000000000374.
- [56] A. L. Lightner, Z. Wang, A. C. Zubair, and E. J. Dozois, "A systematic review and meta-analysis of mesenchymal stem cell injections for the treatment of perianal Crohn's disease: Progress made and future directions," *Diseases of the Colon and Rectum*, vol. 61, no. 5, pp. 629–640, 2018, doi: 10.1097/DCR.0000000000001093.
- [57] I. Ben Amor, P. Lainas, R. Kassir, H. Chenaitia, I. Dagher, and J. Gugenheim, "Treatment of complex recurrent fistula-in-ano by surgery combined to autologous bone marrow–derived mesenchymal stroma cells and platelet-rich plasma injection," *Int. J. Colorectal Dis.*, vol. 34, no. 10, pp. 1795–1799, 2019, doi: 10.1007/s00384-019-03367-2.
- [58] P. G. Kotze, A. Spinelli, J. Warusavitarne, F. Di Candido, K. Sahnan, S. Adegbola, S. Danese, "Darvadstrocel for the treatment of patients with perianal fistulas in Crohn's disease," *Drugs of Today*, vol. 55, no. 2, pp. 95–105, 2019, doi: 10.1358/dot.2019.55.2.2914336.
- [59] R. Gustafsson, J. Sjögren, and R. Ingemansson, "Was unter einer lokalen Unterdrucktherapie zu verstehen ist.," in *European Wound Management Association (EWMA). Positionsdokument: Lokale Unterdrucktherapie im Wundmanagement*. London: MEP Ltd, 2007., 2007, pp. 2–4.
- [60] P. E. Banwell and L. Téot, "Topical negative pressure (TNP): the evolution of a novel wound therapy.," *Journal of wound care*, vol. 12, no. 1, pp. 22–28, 2003, doi: 10.12968/jowc.2003.12.1.26451.
- [61] W. Fleischmann, W. Strecker, M. Bombelli, and L. Kinzl, "[Vacuum sealing as treatment of soft tissue damage in open fractures].," *Unfallchirurg*, vol. 96, no. 9, pp. 488–92, 1993, [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8235687>.
- [62] M. J. Morykwas, L. C. Argenta, E. I. Shelton-Brown, and W. McGuirt, "Vacuum-assisted closure: A new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation," *Ann. Plast. Surg.*, vol. 38, no. 6, pp. 553–562, 1997, doi:

- 10.1097/00000637-199706000-00001.
- [63] L. C. Argenta and M. J. Morykwas, "Vacuum-assisted closure: A new method for wound control and treatment: Clinical experience," *Ann. Plast. Surg.*, vol. 38, no. 6, pp. 563–577, 1997, doi: 10.1097/00000637-199706000-00002.
- [64] D. T. H. de Moura, B. de Moura, M. Manfredi, K. Hathorn, A. Bazarbashi, I. Ribeiro, E. de Moura, C. Thompson, "Role of endoscopic vacuum therapy in the management of gastrointestinal transmural defects," *World J. Gastrointest. Endosc.*, vol. 11, no. 5, pp. 329–344, 2019, doi: 10.4253/wjge.v11.i5.329.
- [65] H. Ptok, F. Marusch, F. Meyer, D. Schubert, I. Gastinger, and H. Lippert, "Impact of anastomotic leakage on oncological outcome after rectal cancer resection," *Br. J. Surg.*, vol. 94, no. 12, pp. 1548–1554, 2007, doi: 10.1002/bjs.5707.
- [66] W. S. Lee, S. Yun, Y.-N. Roh, H.-R. Yun, H.-R., W.Y. Lee, , Y. B. Cho, H. -K Chun, "Risk factors and clinical outcome for anastomotic leakage after total mesorectal excision for rectal cancer," *World J. Surg.*, vol. 32, no. 6, pp. 1124–1129, 2008, doi: 10.1007/s00268-007-9451-2.
- [67] T. E. Pakkastie, P. E. Luukkonen, and H. J. Jarvinen, "Anastomotic leakage after anterior resection of the rectum," *Eur. J. Surgery, Acta Chir.*, vol. 160, no. 5, pp. 293–297, 1994.
- [68] R. Weidenhagen, K. U. Gruetzner, F. Spelsberg, R. A. Lang, and K.-W. Jauch, "A new method for sepsis control caused by anastomotic leakage in rectal surgery-THE ENDO-VAC®," *Shock*, vol. 21, no. Supplement, p. 152, 2004, doi: 10.1097/00024382-200403001-00608.
- [69] R. Weidenhagen, K. U. Gruetzner, T. Wiecken, F. Spelsberg, and K. W. Jauch, "Endoscopic vacuum-assisted closure of anastomotic leakage following anterior resection of the rectum: A new method," *Surg. Endosc. Other Interv. Tech.*, vol. 22, no. 8, pp. 1818–1825, 2008, doi: 10.1007/s00464-007-9706-x.
- [70] F. Kuehn, F. Janisch, F. Schwandner, G. Alsfasser, L. Schiffmann, M. Gock, E. Klar, "Endoscopic Vacuum Therapy in Colorectal Surgery," *J. Gastrointest. Surg.*, vol. 20, no. 2, pp. 328–334, 2016, doi: 10.1007/s11605-015-3017-7.
- [71] H. Lang, P. Piso, C. Stukenborg, R. Raab, and J. Jähne, "Management and results of proximal anastomotic leaks in a series of 1114 total gastrectomies for gastric carcinoma," *Eur. J. Surg. Oncol.*, vol. 26, no. 2, pp. 168–171, 2000, doi: 10.1053/ejso.1999.0764.
- [72] A. Glitsch, W. von Bernstorff, U. Seltrecht, I. Partecke, H. Paul, and C. D. Heidecke, "Endoscopic transanal vacuum-assisted rectal drainage (ETVARD): An optimized therapy for major leaks from extraperitoneal rectal anastomoses," *Endoscopy*, vol. 40, no. 3, pp. 192–199, 2008, doi: 10.1055/s-2007-995384.
- [73] J. Wedemeyer, A. Schneider, M. P. Manns, and S. Jackobs, "Endoscopic vacuum-assisted closure of upper intestinal anastomotic leaks," *Gastrointest. Endosc.*, vol. 67, no. 4, pp. 708–711, 2008, doi: 10.1016/j.gie.2007.10.064.
- [74] M. Ahrens, T. Schulte, J. Egberts, C. Schafmayer, J. Hampe, A. Fritscher-Ravens, D. Broering, B. Schniewind, "Drainage of esophageal leakage using endoscopic vacuum therapy: A prospective pilot study," *Endoscopy*, vol. 42, no. 9, pp. 693–698, 2010, doi: 10.1055/s-0030-1255688.
- [75] M. G. Laukoetter, R. Mennigen, P. Neumann, S. Dhayat, G. Horst, D. Palmes, N. Senninger, T. Vowinkel, "Successful closure of defects in the upper gastrointestinal tract by endoscopic vacuum therapy (EVT): a prospective cohort study," *Surg. Endosc.*, vol. 31, no. 6, pp. 2687–2696, 2017, doi: 10.1007/s00464-016-5265-3.
- [76] E. Virgilio, D. Ceci, and M. Cavallini, "Surgical endoscopic vacuum-assisted closure therapy (EVAC) in treating anastomotic leakages after major resective surgery of

- esophageal and gastric cancer," *Anticancer Research*, vol. 38, no. 10. pp. 5581–5587, 2018, doi: 10.21873/anticanres.12892.
- [77] D. J. Pournaras, R. Hardwick, P. Safranek, V. Sujendran, J. Bennett, G. Macaulay, A. Hindmarsh, "Endoluminal Vacuum Therapy (E-Vac): A Treatment Option in Oesophagogastric Surgery," *World J. Surg.*, vol. 42, no. 8, pp. 2507–2511, 2018, doi: 10.1007/s00268-018-4463-7.
- [78] B. Schniewind, C. Schafmayer, G. Voehrs, J. Egberts, W. von Schoenfels, T. Rose, R. Kurдов, A. Arlt, M. Ellrichmann, C. Jürgensen, S. Schreiber, T. Becker, J. Hampe, "Endoscopic endoluminal vacuum therapy is superior to other regimens in managing anastomotic leakage after esophagectomy: A comparative retrospective study," *Surg. Endosc.*, vol. 27, no. 10, pp. 3883–3890, 2013, doi: 10.1007/s00464-013-2998-0.
- [79] G. Loske and T. Schorsch, "Endoscopic intraluminal vacuum therapy of complete esophageal-jejunal anastomotic rupture: A case report," *Visz. Gastrointest. Med. Surg.*, vol. 27, no. 2, pp. 166–168, 2011, doi: 10.1159/000328082.
- [80] G. Loske, T. Schorsch, H. Schmidt-Seithe, and C. Müller, "Intraluminal endoscopic vacuum therapy in a case of ischemia of the blind end of the jejunal loop after Roux-en-Y gastrectomy," *Endoscopy*, vol. 46. pp. E575–E576, 2014, doi: 10.1055/s-0034-1390913.
- [81] C. S. L. Müller, B. Burgard, M. Zimmerman, T. Vogt, and C. Pföhler, "On the significance of negative-pressure wound therapy with instillation in dermatology," *JDDG - J. Ger. Soc. Dermatology*, vol. 14, no. 8, pp. 786–795, 2016, doi: 10.1111/ddg.13038.
- [82] B. Schniewind, C. Schafmayer, W. von Schönfels, N. Heits, T. Kucharzik, G. Klein, J. Hampe, "Treatment of complicated anal fistula by an endofistular polyurethane-sponge vacuum therapy: A pilot study," *Dis. Colon Rectum*, vol. 61, no. 12, pp. 1435–1441, 2018, doi: 10.1097/DCR.0000000000001233.
- [83] J. Hermann, T. Banasiewicz, and B. Kołodziejczak, "Role of Vacuum-Assisted Closure in the Management of Crohn Anal Fistulas," *Adv. Ski. Wound Care*, vol. 32, no. 1, pp. 35–40, 2019, doi: 10.1097/01.ASW.0000547411.16017.58.
- [84] B. K. Russell WMS, "The principles of humane experimental technique.," *UFAW, London*, no. October 1959, p. Available from: <http://altweb.jhsph.edu/>, 1992.
- [85] G. N. Buchanan *et al.*, "Experimental model of fistula-in-ano," *Dis. Colon Rectum*, vol. 48, no. 2, pp. 353–358, 2005, doi: 10.1007/s10350-004-0769-7.
- [86] M. Aikawa, M. Miyazawa, K. Okada, N. Akimoto, I. Koyama, S. Yamaguchi, Y. Ikada, "A newly designed anal fistula plug: Clinicopathological study in an experimental iatrogenic fistula model," *Int. Surg.*, vol. 98, no. 2, pp. 122–128, 2013, doi: 10.9738/CC180.
- [87] J. de M. Criado, , L. del Salto, P. Rivas, L. del Hoyo, L. Velasco, M. de las Vacas, A. Marco Sanz, M. Paradela, E. Moreno, "MR imaging evaluation of perianal fistulas: Spectrum of imaging features," *Radiographics*, vol. 32, no. 1, pp. 175–194, 2012, doi: 10.1148/rg.321115040.
- [88] R. E. Clifford, H. Fowler, N. Govindarajah, D. Vimalachandran, and P. A. Sutton, "Early anastomotic complications in colorectal surgery: a systematic review of techniques for endoscopic salvage," *Surgical Endoscopy*, vol. 33, no. 4. pp. 1049–1065, 2019, doi: 10.1007/s00464-019-06670-9.
- [89] G. Loske, "Endoscopic negative pressure therapy of the upper gastrointestinal tract. German version," *Chirurg*, vol. 89, no. 12, pp. 952–959, 2018, doi: 10.1007/s00104-018-0728-9.
- [90] JAMA, "Declaration of Helsinki World Medical Association Declaration of Helsinki,"

- Bull. World Heal. Organ.*, vol. 310, no. 20, pp. 2191–94, 2013.
- [91] S. Schreiber, “Animal models: Are they useful for the investigation of gastrointestinal disease?,” *Int. J. Colorectal Dis.*, vol. 15, no. 3, p. 126, 2000, doi: 10.1007/s003840000238.
- [92] J. Evers, J. F. X. Jones, and P. R. O’Connell, “Systematic Review of Animal Models Used in Research of Origins and Treatments of Fecal Incontinence,” *Diseases of the Colon and Rectum*, vol. 60, no. 6, pp. 614–626, 2017, doi: 10.1097/DCR.0000000000000841.
- [93] M. M. T. J. A. Babai-Kere, H. Chen, X. Liu, and Y. H. Wang, “Experimental porcine model of complex fistula-in-ano,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 23, no. 10, pp. 1828–1835, 2017, doi: 10.3748/wjg.v23.i10.1828.
- [94] A. O’Bichere, P. Sibbons, C. Doré, C. Green, and R. K. S. Phillips, “Experimental study of faecal continence and colostomy irrigation,” *Br. J. Surg.*, vol. 87, no. 7, pp. 902–908, 2000, doi: 10.1046/j.1365-2168.2000.01444.x.
- [95] H. J. Wagner, B. Stinner, P. Barth, and K. J. Klose, “Are covered stents really effective at closing esophagotracheal fistulas? Results of an animal study,” *Cardiovasc. Intervent. Radiol.*, vol. 23, no. 4, pp. 291–297, 2000, doi: 10.1007/s002700010071.
- [96] J. M. O’Riordan, I. Datta, C. Johnston, and N. N. Baxter, “A systematic review of the anal fistula plug for patients with Crohn’s and non-Crohn’s related fistula-in-ano,” *Dis. Colon Rectum*, vol. 55, no. 3, pp. 351–358, 2012, doi: 10.1097/DCR.0b013e318239d1e4.
- [97] O. Schwandner, F. Stadler, O. Dietl, R. P. Wirsching, and A. Fuerst, “Initial experience on efficacy in closure of cryptoglandular and Crohn’s transsphincteric fistulas by the use of the anal fistula plug,” *Int. J. Colorectal Dis.*, vol. 23, no. 3, pp. 319–324, 2008, doi: 10.1007/s00384-007-0398-4.

## 9. Anhang

### 9.1. Nationale- und EU Richtlinie

- **Spanische Richtlinien:**
  - Gesetz 5/1995 zum Labortierschutz
  - Dekret 214/1997 zur Regelung der Verwendung von Labortieren
  - Dekret Nr. 53/2013 über die Grundregeln für die Verwendung von Labortieren zu Forschungs- und Ausbildungszwecken
  - Gesetz 6/2013 für die Pflege von Tieren in den entsprechenden Anlagen, im Transport und in der Forschung, sowie für die Sterbehilfe
- **EU-Richtlinien:**
  - Die Richtlinie des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 22. September 2010 (2010/63/EU) zur Überarbeitung der Richtlinie 86/609/EWG zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere, wurde am 22. September 2010 verabschiedet. Die Richtlinie stützt sich fest auf den Grundsatz der Drei R (replace, reduce, refine): zu ersetzen, zu reduzieren und die Verwendung von Tieren für wissenschaftliche Zwecke zu verfeinern.
  - Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 21. Oktober 2009 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 (Verordnung über tierische Nebenprodukte).
- **Sonstige, internationale:**
  - ISO 10993: 2:2006 Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 2: Tierschutzbestimmungen.

### 9.2. Detail der Tiere

Nummer	Geburtsdatum	Ohrmarke	Geschlecht	Gewicht (kg)	Farbe
1	19.08.2018	„675“	männlich	29,5	weiß mit kleinen Flecken

<b>2</b>	10.08.2018	„680“	männlich	33	weiß mit kleinen Flecken
<b>3</b>	26.07.2018	„683“	männlich	36,5	
<b>4</b>	10.08.2018	„676“	männlich	30	

### 9.3. Nahtmaterial

- von B. Braun Surgical S.A, (Rubi, Barcelona, Spanien)
- 1. Dafilon® 2/0: nicht-resorbierbares synthetisches Monofilament-Nahtmaterial aus Polyamidpolymeren 6/6.6)
- 2. Novosyn® 2/0: mittelfristig reißfestes, resorbierbareres, geflochtenes Nahtmaterial aus Poly (glycolic-co-L-lactid 90/10)
- 3. Dagrofil® 3/0: nicht-resorbierbares, unbeschichtetes, geflochtenes Multifilament aus Polyesterfasern

### 9.4. Applizierte Medikamente

- Atropina®: Atropin 1mg/ml (B. Braun Medical Lda, Barcarena, Portugal)
- Butomidor®: Butorphanol 10 mg/ml (Richter Pharma, Feldgasse, Österreich)
- Dexdomitor®: Dexmedetomidin 0.5 mg/ml (Ecuphar, Barcelona, Spanien)
- Dolethal®: Sodium phenobarbital 200 mg/ml (Vetoquinol, Madrid, Spanien)
- Fentadon®: Fentanyl 50 microgram/ml (Dechra, Balmes, Spanien)
- Isoflutek®: Isofluoran 1000 mg/g (Laboratorios Karizoo S.A, Barcelona, Spanien)
- Ketamidor®: Ketamine 100 mg/ml (Richter Pharma, Feldgasse, Österreich)
- Lactato-Ringer Vet: Ringer laktatserum 500 ml (B. Braun Vetcare, Rubi, Spanien)
- Midazolam®: Midazolam 15mg/3ml (Laboratorios Normon, Madrid, Spanien)
- Propovet™: Propofol 10 mg/ml (Zoetis, Ecuphar, Barcelona, Spanien)
- Sedastop®: Atipamezol 5mg/ml (B. Braun Medical Lda, Barcarena, Portugal)
- Tracrium™: Atracurium Besylat (ASPEN PHARMACARE ESPAÑA, S.L, Spanien)
- Xilonibsa Spray: Lidocaine Spray 10% (Inibsa Dental S.L.U, Barcelona, Spanien)
- Agua Oxigenada 6%: H2O2 6% (Laboratorios Vaza, Alcalá de Henares, Madrid, Spanien)

- Desinpow iodine: Povidona Iodada 10% (Alcoholes MONTPLET, S. A, Barcelona, Spanien)
- Aquasonic 100: Ultrasound transmission gel (Parker Laboratories, INC, New Jersey, USA)
- Buprelieve: Buprenophine hydrochloride 0,3 mg/ml (jurox, UK)

## 9.5. Protokoll der Anästhesie

### **Analgesie / Anästhesie:**

Atropin (0,04 mg/kg) zur Vermeidung von übermäßigem Speichelfluss und Bradykardie sowie eine Kombination aus drei Arzneimitteln, Dexmedetomidin + Midazolam + Butorphanol, (Dosen 0.02-0.04 mg/kg, 0.3 mg/kg bzw. 0.2-0.4 mg/kg), wobei letzteres eine sedierende/analgetische Wirkung auslöst, wurden intramuskulär (i.m.) in die Nackenmuskulatur verabreicht. Bei Bedarf wurde Fentanyl intraoperativ mit 0.75 mg/kg i.v. als Analgetikum eingesetzt. Die Anästhesie wurde dann intravenös in die zentrale oder ventrolaterale Vene des Ohrs nach dem Einführen eines Katheters (24G) durch eine langsame Injektion von Propofol (0.5-1 mg/kg) eingeleitet und aufrechterhalten.

### **Unterstützende Pflege:**

Die Flüssigkeitstherapie wurde durch eine Erhaltungsdosis mit Ringer-Laktatserum (3-5 ml/kg/h) i.v. geleistet, das bei Bedarf zur Aufrechterhaltung des Blutdruckes durch einen Bolus verabreicht wurde. Thermische Unterstützung wurde bereitgestellt, um Unterkühlung zu verhindern. Andere kristalloide und kolloidale Lösungen konnten verwendet werden, um das Blutvolumen aufrechtzuerhalten.

### **Mechanische Beatmung:**

Sobald das Tier schlief, wurde ein Lidocain-Spray auf den Epiglottis-Bereich aufgetragen, begleitet von einer Laryngoskop-Bildgebung. Ein geeigneter Endotrachealtubus (Nr. 3-6) wurde zur Intubation des Tieres verwendet und mit einem geschlossenen Anästhesiegerät unter Verwendung von Isofluoran mit Mindestalveolarkonzentration (MAC) von 1.2-2.4 % und 50 % Sauerstoff mit 50 % medizinischer Luft verbunden.

### Behandlung der neuromuskulären Blockade:

Um den den Analkanal umgebenden Muskelkomplex zu entspannen wurde Atracuronium besylat (Tracrium™) einmal mit 0,5-2,5 mg/ kg dosiert, wobei eine Wirkungsdauer von 30-60 Minuten erwartet wurde.

Dieses Medikament wurde bei den beiden ersten Tieren angewendet und aufgrund negativer Sekundäreffekte im weiteren Verlauf aus dem Protokoll gestrichen.

### Maßnahmen zur Unterstützung und Kontrolle des Anästhesieplans während des Eingriffs:

Eine thermische Aufrechterhaltung (mit einer Heizdecke) wurde angewendet, um eine Hypothermie zu vermeiden. Gleichzeitig wurden eine Kapnographie (Ausatmen von CO<sub>2</sub>) und Pulsoximetrie (Sättigung mit O<sub>2</sub>) durchgeführt, ein kontinuierliches Elektrokardiogramm erstellt, der Blutdruck (systolisch und diastolisch) und die Ösophagustemperatur nicht-invasiv gemessen. Darüber hinaus wurden Reflexe und Herzfrequenz regelmäßig ausgewertet und bei Bedarf Herz/Lungenindikatoren entnommen.

### Narkose Aufrechterhaltung:

Die Tiere wurden mindestens zehn Minuten lang mit reinem Sauerstoff beatmet, um Hypoxie zu vermeiden. Gegebenenfalls wurde Atipamezol in einer Dosis von 0.1 mg/kg i.m. verwendet, um die Wirkung von Dexmedetomidin bei Bedarf zu antagonisieren.

### 9.6. Werteskala zu den klinischen Beobachtungen

Variablen		Bewertung
Schmerzverhaltensscorewerte	Aktiv, wachsam, lebhaft und verspielt	0
	Traurig, untätig	1
	Leicht depressiv, aber wachsam und reaktionsfähig	2
	Ungewöhnlich nervös	3

Variablen	Bewertung
	Intensiv depressiv, reaktionsschwach, regungslos, niedergeworfen 4

Variablen	Bewertung
Wundaspekt	Leichte Entzündung 0
	Entzündung, eitrige Exsudation 1
	Hohe Entzündung, eitrige Exsudationsblutung, Autopsie 3

Variablen	Bewertung
Appetit und Futterverbrauch	Richtig 0
	Futterreste weniger als 40 % 1
	Futterreste 40-70 % 2
	Futterreste > 70 % 3

Variablen	Bewertung
Lautäußerungen und Selbstverstümmelungen, die auf Schmerz hindeuten	NEIN 0
	JA 3

Totale Bewertung	Korrekturmaßnahmen
Wenn eine zweite Variable den Wert 3 annimmt, so soll jeder nachfolgende 3-Wert zu einem 4-Wert umgewandelt werden.	
0-3 Punkte	Gesundes Tier. Keine Maßnahmen erforderlich.
4-6 Punkte	Tier zeigt Schmerzen. Überwachungs- und Behandlungsverordnung: fiebersenkende, entzündungshemmende, analgetische und/oder antibiotische Maßnahmen
7-16 Punkte	Tier zeigt extreme Schmerzen. Das Verfahren wird abgebrochen und die Sterbehilfe angewendet.

## 9.7. Plan der Phase 1

	Dauer (Tag)	Anfang	Ende
<b>Pilotschwein (Phase1)</b>	<b>61</b>	<b>12.09.2019</b>	<b>11.12.2019</b>
Quarantäne	7	12.09.2019	19.09.2019
<b>Fistelerstellungszeit</b>	<b>34</b>	<b>19.09.2019</b>	<b>23.10.2019</b>
Chirurgie	1	19.09.2019	19.09.2019
Bluttest	1	23.09.2019	23.09.2019
<b>Fistelbehandlungszeit</b>	<b>20</b>	<b>23.10.2019</b>	<b>12.11.2019</b>
EFVT-Schwammwechsel	19	23.10.2019	11.11.2019
MRT+Bluttest	1	12.11.2019	12.11.2019
<b>Euthanasie +Exzision en bloc</b>	<b>1</b>	<b>12.11.2019</b>	<b>12.11.2019</b>

## 9.8. Gewichtsverlauf der Tiere

Datum/Tier	SUS 675	SUS 680	SUS 683	Durchschnitt	Deviation %
26.11.19	29.0 kg	32.0 kg	36.5 kg	33.6	7.2
02.12.19	32.0 kg	35.0 kg	36.5 kg	37.0	10.0

10.12.19	37.0 kg	38.0 kg	40.0 kg	36.5	-1.4
16.12.19	35.0 kg	36.0 kg	38.5 kg	35.2	-3.7
23.12.19	33.0 kg	36.5 kg	36.0 kg	35.2	0.0
31.12.19	33.0 kg	36.5 kg	36.0 kg	37.8	7.6
08.01.20	39.0 kg	38.5 kg	39.0 kg	38.5	1.8
13.01.20	38.5 kg	38.0 kg	39.0 kg	35.3	-8.2
20.01.20	35.5 kg	35.0 kg	35.5 kg	35.2	-0.5
27.01.20	32.0 kg	35.5 kg	38.0 kg	37.2	5.7
03.02.20	35.5 kg	37.0 kg	39.0 kg	37.3	0.5
11.02.20	36.5 kg	37.5 kg	39.5 kg	37.8	1.3
19.02.20	37.0 kg	39.5 kg	39.5 kg	38.5	1.8
06.03.20	38.0 kg	38.0 kg	40.5 kg	38.8	0.9

## 9.9. Ergebnisse der Blutabnahme

### A. „SUS 675“

	Bezugswerte		Quarantäne	Fistelerstellung	Behandlung	Beobachtung
			03/12/2019	03/01/2020	02/03/2020	03/09/2020
Packet Cell Volume (%)	32.0	53.0	42.83	41.5	39.34	35.02
Hemoglobin (g/dL)	7.8	16.2	14.5	13.8	11.5	10.1
Red Blood Count ( $10^6$ cel/uL)	3.6	7.8	6.71	6.56	5.55	4.87
MCV (fL)	55.0	71.0	64	66	71	72
MCH (pg)	18.0	24.0	21.6	23	20.7	20.7
MCHC (g/dL)	31.0	36.0	33.9	35	29.2	28.8
White Blood Count ( $10^3$ cel/uL)	5.2	17.9	18.76	20.7	39.29	19.37
Lymphocytes (%)	15.0	55.0	25.3	63.2	83.1	21.7
Monocytes (%)	0.0	13.0	0.7	3.5	0.4	0.6
Neutrophiles (%)	0.0	63.0	73.9	33.2	16.5	77.7
Platelets count ( $10^3$ cel/uL)	204.0	518.0	367	321	247	207
Glucose (mg/dL)	59.8	175.2	108	98	89	77
ALT (U/L)	10.9	95.1	40	37	22	24
Total Bilirubin (mg/dL)	0.2	0.5	0.2	0.32	0.3	0.2
Amylase (U/L)	-	-	2134	2098	1221	1635
BUN (mmol/L)	1.5	3.2	3.7	3.4	2.7	2.2

<b>Creatinine (mg/dL)</b>	1.0	2.3	0.9	8.8	0.5	0.7
<b>iCalcium (mmol/L)</b>	1.8	2.9	2.61	2.54	2.62	2.62
<b>Phosphorus (mmol/L)</b>	1.7	3.1	2.2	2.37	2.54	2.89
<b>Sodium (mmol/L)</b>	139.0	148.0	142	145	135	143
<b>Potassium (mmol/L)</b>	3.7	5.0	6	5.7	5.2	4.8
<b>Total Protein (g/L)</b>	5.4	7.5	7.4	7.7	7.6	7.7
<b>Albumin (g/L)</b>	36.0	50.0	52	43	33	48
<b>Globulins (g/L)</b>	53.0	64.0	22	51	43	29
<b>Alb/glob</b>	0.9	3.5	2.36	0.84	0.76	1.65

### B. „SUS 680“

	Bezugswerte		Quarantäne	Fistellerstellung	Behandlung	Beobachtung
			03/12/2019	03/01/2020	02/03/2020	03/09/2020
<b>Packet Cell Volume (%)</b>	32.0	53.0	38.63	36.7	33.45	34.17
<b>Hemoglobin (g/dL)</b>	7.8	16.2	13.1	12.8	10.1	10.3
<b>Red Blood Count (<math>10^6</math> cel/uL)</b>	3.6	7.8	6.38	5.12	4.94	5.4
<b>MCV (fL)</b>	55.0	71.0	61	63	68	63
<b>MCH (pg)</b>	18.0	24.0	20.5	21	20.4	19
<b>MCHC (g/dL)</b>	31.0	36.0	33.9	35	30.1	30.1
<b>White Blood Count (<math>10^3</math> cel/uL)</b>	5.2	17.9	14.02	15.8	22.81	15.32
<b>Lymphocytes (%)</b>	15.0	55.0	34.1	28	17.6	25.3
<b>Monocytes (%)</b>	0.0	13.0	0.7	0.9	0.7	0.5
<b>Neutrophiles (%)</b>	0.0	63.0	65.1	71.1	81.6	74.1
<b>Platelets count (<math>10^3</math> cel/uL)</b>	204.0	518.0	230	245	321	296
<b>Glucose (mg/dL)</b>	59.8	175.2	94	110	113	82
<b>ALT (U/L)</b>	10.9	95.1	43	38	32	27
<b>Total Bilirubin (mg/dL)</b>	0.2	0.5	0.2	0.18	0.2	0.2
<b>Amylase (U/L)</b>	-	-	1162	1100	1020	1102
<b>BUN (mmol/L)</b>	1.5	3.2	4.1	5.3	3.8	2.3
<b>Creatinine (mg/dL)</b>	1.0	2.3	1	1.3	1.1	0.9
<b>iCalcium (mmol/L)</b>	1.8	2.9	2.67	2.63	2.57	2.57

		Quarantäne	Fistellerstellung	Behandlung	Beobachtung
	Bezugswerte	03/12/2019	03/01/2020	02/03/2020	03/09/2020
<b>Phosphorus (mmol/L)</b>	1.7	3.1	2.26	2.76	2.33
<b>Sodium (mmol/L)</b>	139.0	148.0	138	138	135
<b>Potassium (mmol/L)</b>	3.7	5.0	6.3	6.4	6.8
<b>Total Protein (g/L)</b>	5.4	7.5	7.4	7.7	7.8
<b>Albumin (g/L)</b>	36.0	50.0	53	48	39
<b>Globulins (g/L)</b>	53.0	64.0	21	37	39
<b>Alb/glob</b>	0.9	3.5	2.52	1.29	1
					1.75

### C. „SUS 683“

			Quarantäne	Fistellerstellung	Behandlung	Beobachtung
	Bezugswerte	03/12/2019	03/01/2020	02/03/2020	03/09/2020	
<b>Packet Cell Volume (%)</b>	32.0	53.0	40.8	38.4	32.98	37.3
<b>Hemoglobin (g/dL)</b>	7.8	16.2	13.8	12.5	10.6	11.4
<b>Red Blood Count (<math>10^6</math> cel/uL)</b>	3.6	7.8	7.1	6.5	5.13	5.66
<b>MCV (fL)</b>	55.0	71.0	57	58	64	66
<b>MCH (pg)</b>	18.0	24.0	19.4	19.7	20.7	20.1
<b>MCHC (g/dL)</b>	31.0	36.0	33.7	33.4	32.2	30.5
<b>White Blood Count (<math>10^3</math> cel/uL)</b>	5.2	17.9	17.15	19.4	21.5	22.79
<b>Lymphocytes (%)</b>	15.0	55.0	49.2	37.4	29.2	55.9
<b>Monocytes (%)</b>	0.0	13.0	0.7	5.4	3.1	0.6
<b>Neutrophiles (%)</b>	0.0	63.0	50	57.2	67.7	43.5
<b>Platelets count (<math>10^3</math> cel/uL)</b>	204.0	518.0	311	428	626	182
<b>Glucose (mg/dL)</b>	59.8	175.2	81	118	120	143
<b>ALT (U/L)</b>	10.9	95.1	33	45	29	37
<b>Total Bilirubin (mg/dL)</b>	0.2	0.5	0.2	0.2	0.2	0.3
<b>Amylase (U/L)</b>	-	-	2017	1874	1858	1998
<b>BUN (mmol/L)</b>	1.5	3.2	4.4	3.7	2.9	4.7
<b>Creatinine (mg/dL)</b>	1.0	2.3	0.8	0.5	0.7	1

iCalcium (mmol/L)	1.8	2.9	2.81	2.65	2.77	2.68
Phosphorus (mmol/L)	1.7	3.1	2.49	2.47	2.54	2.76
Sodium (mmol/L)	139.0	148.0	141	140	142	138
Potassium (mmol/L)	3.7	5.0	6.7	5.7	5	4.7
Total Protein (g/L)	5.4	7.5	7.4	7.7	8	6.7
Albumin (g/L)	36.0	50.0	54	43	45	42
Globulins (g/L)	53.0	64.0	20	32	34	42
Alb/glob	0.9	3.5	2.7	1.34	1.32	1

## 9.10. Histopathologische Tabellen

	Entzündungsreaktion			
	0 Keine	1 Mild	2 Mäßig	3 Intensiv
T	2	11	5	0
P	0	0	1	8
N	3	5	1	0

Tvs.N:P=0.32 → keine sig. Unterschiede in der Verteilung der Entzündungsreaktionen

	Lymphplasmozyten	Gran. Ent*	Neutrophilen	Siderophagen	Eosinophilen	Pyogran**
T	15	2	0	12	0	0
P	8	0	4	4	1	1
N	5	3	0	4	0	0

\* granulomatöse Entzündung, \*\*Pyogranulomatosen

Anteil Lymphplasmozyten Tvs.N: P=0.17 → keine sig. Unterschiede

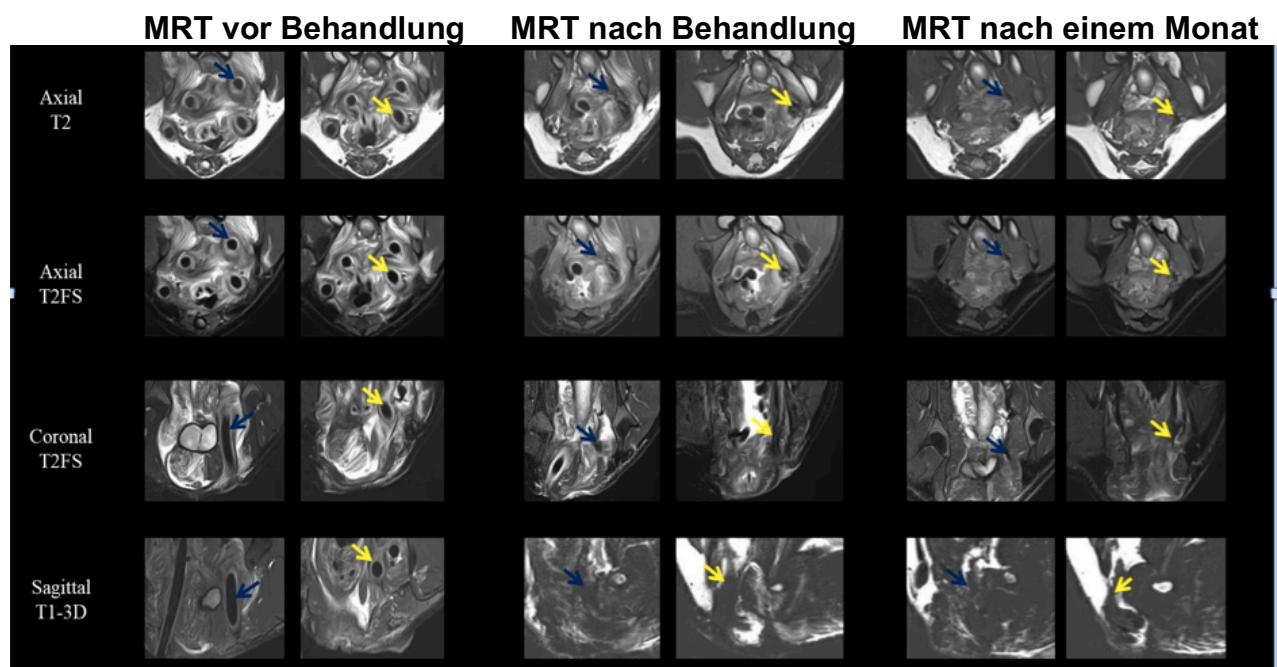
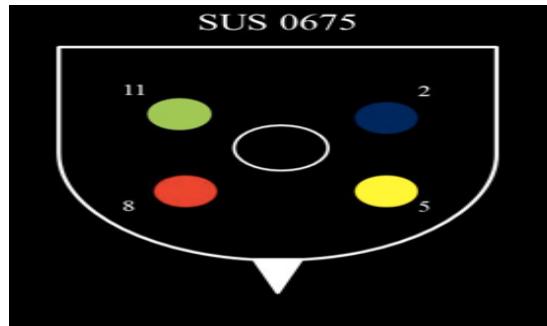
Anteil Siderophagen Tvs.N: P=0.41 → keine sig. Unterschiede

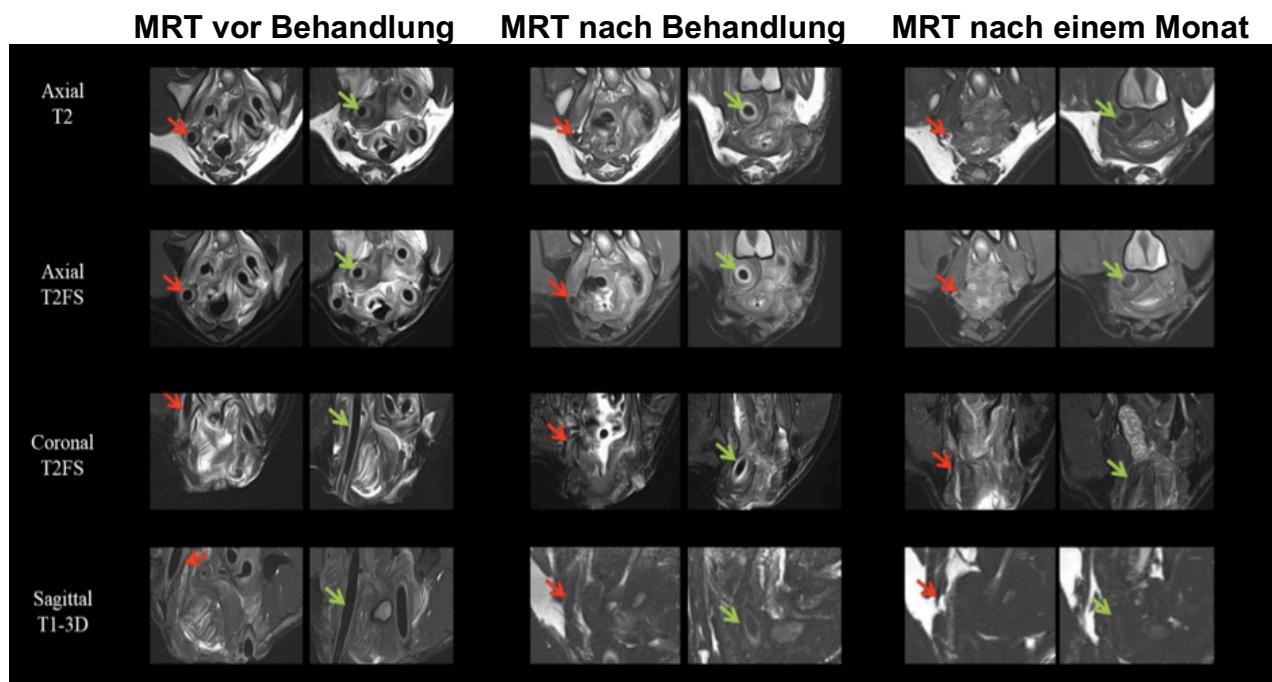
	Fibrose				Granulationsgewebe		Keime	
	0 Keine	1 Mild	2 Mäßig	3 Intensiv	Keine	Anwesend	Nein	Ja
T	2	6	7	3	8/18	10/18		0
P	0	0	1	8	5/9	4/9		2
N	2	5	2	0	5/9	4/9		0

Tvs.N Fibrose: P=0.27 → keine sig. Unterschiede

Tvs.N Granulationsgewebe: P=0.69 → keine sig. Unterschiede

## 9.11. Radiologisches Beispiel





## 10. Abbildungen



Abb.13: *Sus scrofa domesticus*.



Abb.14: CMCiB, Can Ruti, Badalona, Barcelona, Spanien.

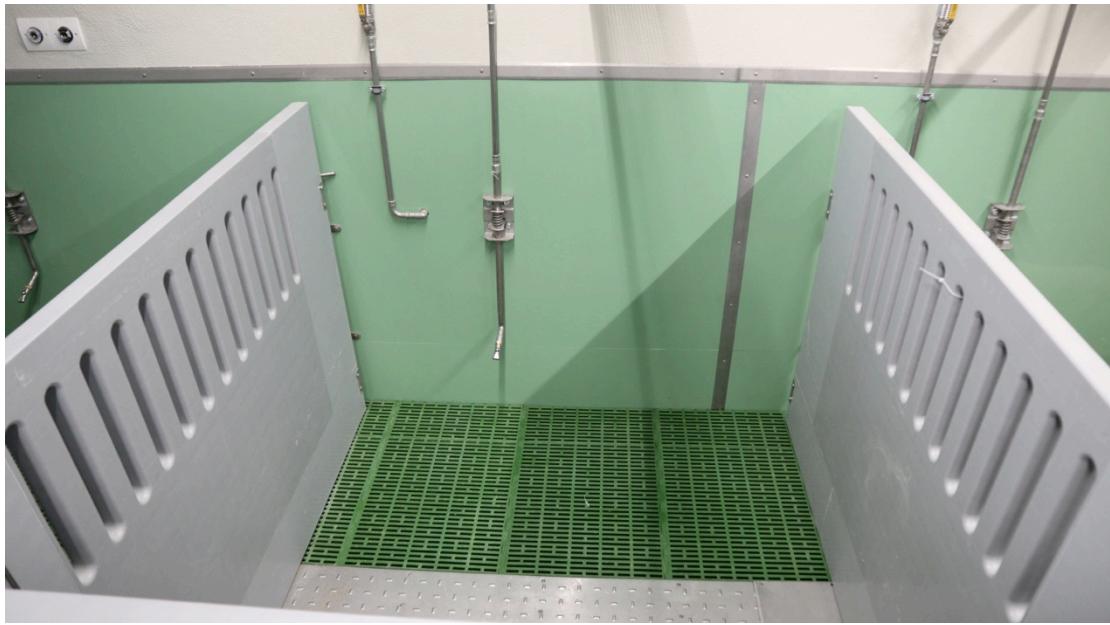


Abb.15: Tierbox.



Abb.16: Op Saal.



Abb.17: Anästhesiegerät.



Abb.18: Vantage Galan, Canon 3T MRT.



Abb.19



Abb.20

Abb.19,20: angewendete Instrumente bei der Fistelerstellungsoperation.



Abb.21: angewendete Instrumente beim Schwammwechsel.

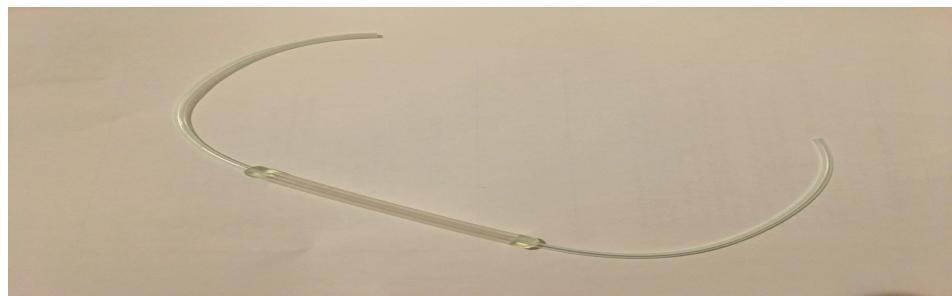


Abb.22: angewendete Redon bei der Fistelerstellungsoperation.



Abb.25: ATMOS® S 042 NPWT.



Abb.26: Komponente des ATMOS® S 042 NPWT.



Abb.27: ATMOS® S 042 NPWT Mit dem Schlauchsystem.

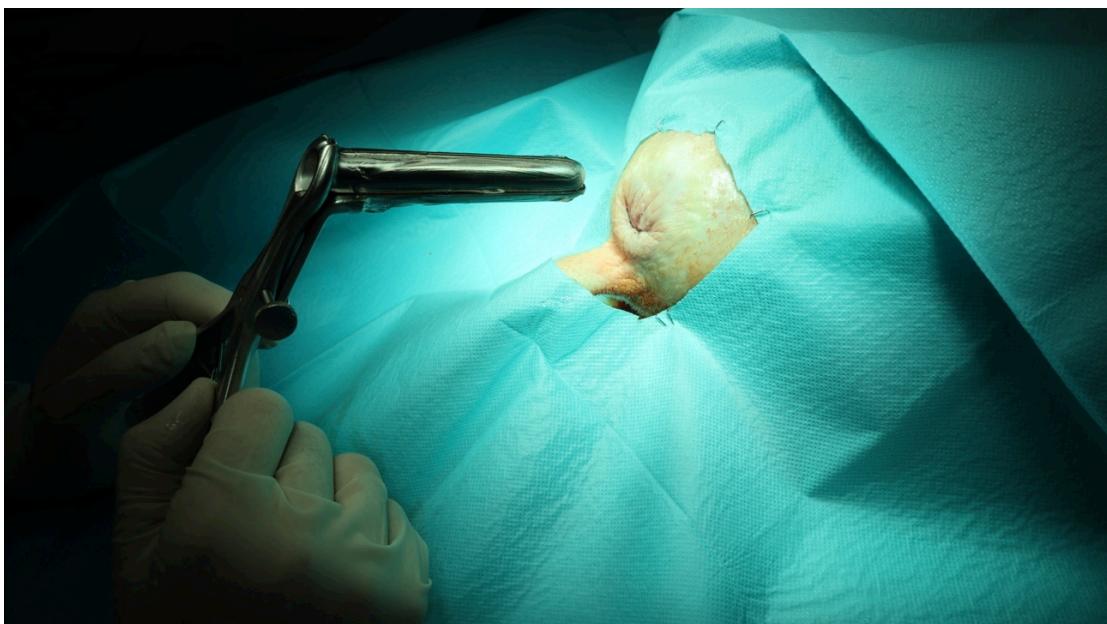


Abb.28: Vorbereitung und Untersuchung mit Anal-Spreizer.

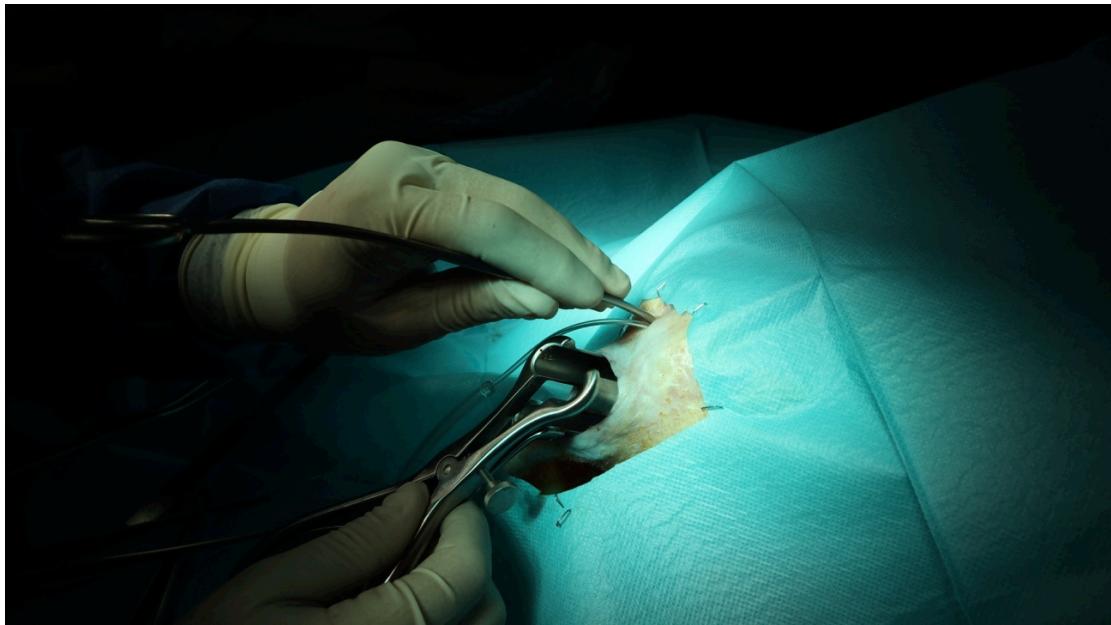


Abb.30: Fistelgangserstellung und Anlage der Seton-Drainage.



Abb.32: Schwein Am Ende der Beobachtungsphase.



Abb.38: Rohrleitung und Unterbringung der Pumpe.



Abb.39: Schwein nach Sedierung in Rückenlage.



Abb.40: Schwein nach Sedierung in Seitenlage.



Abb.41: Irrigation des Schwammes nach der Entfernung der äußeren Nähte.



Abb.42: Messung des Fistelganges mit Redon 8.Charrier.



Abb.43: Messung des Fistelganges mit metallischer Sonde.

## 11. Tabellarischer Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name	Imad Kamaleddine
Geburtsdatum	01.Sept.1979
Geburtsort	Srifa, Libanon
Nationalität	Libanesisch
Zivilstand	Verheiratet

### Beruflicher Werdegang

- **Seit Juni 2016–heute:** Assistenzarzt / Facharzt für Viszeralchirurgie in der Abteilung für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Transplantationschirurgie der Universitätsmedizin Rostock.

- **Sept. 2015- Juni 2016:** Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Transplantationschirurgie der Universitätsmedizin Rostock.

- **Mai 2014 - Mai 2015:** "DFMSA" Stelle in der Viszeralchirurgie.

La pitié Salpêtrière Universitätsklinikum- Universität Pierre et Marie Curie (Paris VI),  
Boulevard de l'hôpital, 83, 75013, Paris (Frankreich).

- **Nov. 2013 – Mai 2015:** "DFMSA" Stelle in der Viszeralchirurgie.

Hôpital Saint Joseph- Universität Pierre et Marie Curie (Paris VI),  
Rue Raymond Losserand 185, 75014, Paris (Frankreich).

*DFMSA: Französisches Diplom für eine vertiefte Spezialisierung der  
Medizinausbildung im Bereich: Viszeralchirurgie.*

- **Juni 2010 – Okt. 2013:** Facharzt für Allgemeinchirurgie in der Abteilung für Allgemeinchirurgie,

Clemenceau Medical Center, *in Affiliation with Johns Hopkins international*, Beirut (Libanon).

## **Studium**

- **14.Nov.2018:** Anerkennung als Facharzt für Viszeralchirurgie,  
Ärztekammer Mecklenburg-Vorpommern, Rostock (Deutschland).
- **18 Mai 2016:** Deutsche Approbation als Arzt,  
Landesamt für Gesundheit und Soziales, Rostock (Deutschland).
- **Januar 2015:** Universitätsdiplom in hepatobiliärer Chirurgie,  
Paul Brousse Universitätsklinikum, Universität Paris XI, Paris, (Frankreich).
- **Juni 2015:** DFMSA in Viszeralchirurgie,  
Universität Pierre et Marie Curie (Paris VI), Paris, (Frankreich).
- **Nov. 2004 - Nov. 2009:** Weiterbildung in der Allgemeinchirurgie,  
Damaskus Universität, Damaskus (Syrien).
- **Sept. 1999- Juli 2004:** Medizinisches Studium,  
Damaskus Universität, Damaskus (Syrien).
- **Sept. 1998 - Juli 1999:** Wissenschaftlichen Fakultät - Bereich: Biologie,  
Libanese Universität, Beirut (Libanon).
- **Sept. 1994 - Juli 1998:** Naturwissenschaftliche Gymnasium,  
College Cadmous, Tyre (Libanon).

## **Publikationen**

- Laurent Genser, Claude tayar, Imad kamaleddine, "Trans-Umbilical single incision laparoscopic Sleeve Gastrectomy in a patient with Situs Inversus Totalis with Kartagener Syndrom: Video Report". Obesity Surgery, 2015 Oct;25(10):1985-6 doi: 10.1007/s11695-015-1820-6.

## 12. Danksagung

Ich möchte mich hiermit bei meinem Doktorvater, Herrn Univ. Prof. Dr. med. Clemens Schafmayer, für die Betreuung dieser Arbeit sowie der freundlichen Hilfe und Unterstützung bedanken. Insbesondere der konstruktive Austausch und die regelmäßigen Gespräche auf fachlicher und persönlicher Ebene waren stets eine große Hilfe für mich und haben mich stets positiv beeinflusst und ermutigt.

Auch danke ich meine leitende Oberärztin Frau PD. Dr. med. habil. Maria Witte für Ihre Bemerkungen, Vorschläge und unendliche Unterstützung.

Besonderen Dank auch an die gesamte Arbeitsgruppe des CMCiB-Instituts in Barcelona für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, vielen wertvollen Anregungen und stete Hilfsbereitschaft, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn PD. Dr. rer. nat. Michael Linnebacher für seine Zeit und wissenschaftliche Unterstützung bedanken.

Mein Dank gilt auch den folgenden Personen, ohne deren Hilfe die Anfertigung dieser Doktorarbeit niemals zustande gekommen wären: Frau Dr. med. Greta Burmeister, Herrn Dr. med. Frank Schwandner, Herrn Dr. med. Florian Bürtin, Herrn OA. PD. Dr. med. habil. Guido Alsfasser und unsere Sekretärin Frau Grit Malchow.

Vielen Dank für meine Kolleginnen und Kollegen, die mich während meiner Zeit in Spanien unterstützt haben.

Bei meiner Familie in Deutschland: „Ali, Adonis, Sara, Khodor, Ahmad, Elissa und Loulou“ und in Rostock „Sigrid und Harald“ möchte ich mich ganz besonders herzlich bedanken für die uneingeschränkte, liebevolle und vielseitige Unterstützung während der gesamten Zeit seit Juni 2015, ohne die diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre.

### **13. Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig angefertigt habe und mir darüber hinaus keine weitere Hilfe zuteilgeworden ist.

Ich versichere, dass ich bei der Anfertigung der Dissertation keine anderen als die in der Arbeit genannten Hilfsmittel benutzt habe.

Rostock, den 01.04.2021

## 14. Thesen zur Dissertation

1. Die klassische Analfistel wird als Fistel kryptoglandulären Ursprungs bezeichnet.
2. Hiervon abzugrenzen sind Fisteln im Rahmen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung (perianaler Morbus Crohn), hohe Analfisteln nach perforierter Sigmadivertikulitis, Fisteln nach Bestrahlung, bakterielle Infektionen (z. B. Tuberkulose), immunsupprimierende Erkrankungen (z. B. HIV, Leukämie), Malignome und Zustände nach operativer Behandlung im Bereich des Beckenbodens (z. B. tiefe anteriore Rektumresektion).
3. Die Analfisteln wurden anhand der Beziehung zum Sphinkterapparat nach Parks 1976 klassifiziert.
4. Man kann die Analfisteln in 5 Typen unterteilen:
  - Typ I: intersphinktär
  - Typ II: transsphinktär
  - Typ III: suprasphinktär
  - Typ IV: extrasphinktär
  - Typ V: subanodermalTyp IV und Typ V zählen nicht zu den klassischen Analfisteln.
5. Die Behandlung komplexer Analfisteln mit Beteiligung des Schließmuskels stellt sich als eine chirurgische Herausforderung dar.
6. Verschiedene operative Therapiemöglichkeiten sind beschrieben: Fistelspaltung, Fadendrainage, Exzision und Verschluss des inneren Ostiums mittels Lappenplastik, plastische Rekonstruktion mit Sphinkternaht, LIFT-Methode und Okklusion mit Biomaterialien. Der Einsatz des sogenannten Cutting Seton ist heutzutage obsolet.
7. Komplikationen der Fisteltherapien sind ein Fistelrezidiv, eine Inkontinenz und die Wundheilungsstörung.

8. Bei der Vakuumtherapie handelt sich um ein nicht-invasives, jedoch aktives System, und dient zur Beschleunigung der Wundheilung durch einen intermittierenden oder kontinuierlichen Sog.
9. Die Vakuumtherapie ist heutzutage eine standardmäßige Therapie bei Insuffizienzen im oberen und unteren Gastrointestinaltrakt.
10. Ein Einsatz der Vakuumtherapie zur Behandlung der Analfistel bei Menschen ist bisher nur als Heilversuch durchgeführt worden.
11. Unsere Arbeit hat die Machbarkeit und die Sicherheit dieser minimalinvasiven Therapie in der Behandlung iatgener transsphinktären Analfisteln in einem porcinen Modell untersucht.
12. Drei Schweine wurden in unsere Studie eingeschlossen. Bei jedem Schwein wurden 4 iatogene Analfisteln in Uhrzeigerpositionen 2,5,8 und 11 gesetzt. Die Fisteln wurden in 3 Gruppen (negative Kontrolle, positive Kontrolle und Therapiegruppe) randomisiert. Die Therapie erfolgte durch Schwammwechsel alle 2-3 Tage.
13. Im Verlauf der Studie wurden Laborkontrollen, MRT- und histopathologischen Untersuchungen nach einem standardisierten Protokoll verwendet.
14. Die erhobenen Daten zeigten keine klinisch relevante Gewichtsabnahme, Verhaltensänderungen oder entzündliche Reaktionen bei den untersuchten Schweinen.
15. Die MRT- und histopathologischen Untersuchungen der therapierten Analfisteln mit Vakuumtherapie zeigten erfolgreiche Heilungsprozesse mit keinen verbundenen Komplikationen.
16. Die negativen Kontrollwunden heilten extrem schnell. Die Selbstheilung kann mit der Anti-Infektionsfähigkeit des Schweines selbst zusammenhängen, der genaue Mechanismus ist jedoch unklar.

17. Durch die Ergebnisse der Studie konnte gezeigt werden, dass die Vakuumtherapie am Tiermodell zur Behandlung der Analfistel ein komplikationsarmes, sicheres und vielversprechendes Verfahren ist.
18. Eine klinische Studie ist erwünscht und notwendig.

## 15. Geplante Publikation

Die Ergebnisse dieser Arbeit sind noch nicht veröffentlicht, jedoch ist eine Publikation angestrebt und bereits in Vorbereitung.

