

Возможности применения биоматериалов в лечении свищей прямой кишки

(Обзор литературы)

А.М. Кузьминов, С.А. Фролов, Д.В. Вышегородцев, В.Ю. Королик, Ш.Т. Минбаев, И.С. Богормистров, М.О. Черножукова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Options of biological substances application in rectal fistulas treatment

(Review of the literature)

A.M. Kuzminov, S.A. Frolov, D.V. Vyshegorodtsev, V.Yu. Korolik, Sh.T. Minbayev, I.S. Bogormistrov, M.O. Chernozhukova

Federal government-financed institution «Ryzhikh state scientific center of coloproctology» Ministry of healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Цель обзора. Ознакомить с данными литературы по лечению неполных свищей прямой кишки с применением биоматериалов.

Основные положения. Лечение свищей прямой кишки остается актуальным вопросом колопроктологии. Это связано с неудовлетворительными результатами выполняемых операций, сопровождающихся высокой частотой рецидива заболевания, как правило, вне зависимости от примененного метода хирургического вмешательства, а также с вероятностью возникновения такого серьезного осложнения, как недостаточность анального сфинктера. Именно по данной причине важна разработка щадящих методов лечения свищей прямой кишки, позволяющих при минимизированном риске возврата заболевания снизить интраоперационную травматизацию анального сфинктера и тем самым избежать развития недостаточности последнего. Применение биоматериалов в лечении свищей прямой кишки дает возможность сократить размеры раны, ускоряет процессы регенерации и уменьшает степень травматизации. Минимизация объема оперативного воздействия на анальный сфинктер создает предпосылки для повторного использования биоматериалов, вплоть до достижения положительного результата.

Заключение. С применением биоматериалов как сфинктеросажающей методики расширились воз-

Aim of review. To present literature data of the treatment of incomplete rectal fistulas with application of biological substances.

Summary. Treatment of rectal fistulas remains burning issue in coloproctology due to unsatisfactory results of surgery resulting in high relapse rate, usually regardless of applied surgical method and high risk of severe complications as anal sphincter incompetence. This is why development of sparing methods of rectal fistula treatment that will allow to decrease intraoperative trauma of the anal sphincter at minimal risk of disease recurrence and, therefore, to prevent development of sphincter incompetence is important. Application of biological materials in rectal fistulas treatment result in reduction of the wound size, accelerates reparative processes and decreases degree of traumatization. Minimization of surgical impact on the anal sphincter allows repetitive application of biological materials up to the achievement of positive effect.

Conclusion. Application of biological materials at sphincter-preserving technique provides decreased risk of development of postoperative anal sphincter incompetence.

Key words: rectum fistula, fibrin glue, collagen implants, platelet-derived growth factor enriched plasma, autologous stem cells.

Королик Вячеслав Юрьевич — кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения общей колопроктологии с группой изучения семейного аденоматоза толстой кишки ФГБУ ГНЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих Минздрава России. Контактная информация: v.korolik@mail.ru. 123423, ул. Саляма Адилы, д. 2

Korolik Vyacheslav Yu. — MD, research associate, department of general coloproctology with familial adenomatosis coli study group, Federal government-financed institution «Ryzhikh State Scientific Center of Coloproctology» Ministry of healthcare of the Russian Federation. Contact information: v.korolik@mail.ru; Moscow, Salyama Adilya str., 2

возможности для исключения развития послеоперационной анальной недостаточности.

Ключевые слова: свищ прямой кишки, фибриновый клей, коллагеновые импланты, плазма, обогащенная тромбоцитарными факторами роста, аутологические стволовые клетки.

Свищи прямой кишки занимают в структуре колопроктологических заболеваний до 25–35% случаев госпитализации в специализированный стационар [4]. По данным различных авторов, распространенность указанной патологии составляет от 8 до 23 случаев на 100 000 взрослого населения [34]. Частота ее развития у мужчин выше, чем у женщин (соотношение колеблется от 2:1 до 5:1). Подавляющее большинство пациентов — лица трудоспособного возраста, что по существу является социально-трудовой проблемой [1, 29].

Под свищом прямой кишки подразумевается патологический ход, соединяющий дистальный отдел желудочно-кишечного тракта и кожных покровов, т.е. хронический воспалительный процесс в крипте, межсфинктерном пространстве и параректальной клетчатке с наличием сформированного свищевого хода [1, 31].

Основная цель всех методов лечения свищей прямой кишки — ликвидация свищевого хода и внутреннего его отверстия с сохранением функции держания анального сфинктера, а также сведение к минимуму вероятности рецидива заболевания [12]. При традиционных методах лечения сохраняется высокий риск возникновения недостаточности анального сфинктера, обусловленный травматизацией волокон последнего и большими длительно не заживающими ранами перианальной области [7].

Согласно определению, биоматериалы — это материалы природного или синтетического происхождения, дополняющие или замещающие части тела, органы или ткани, которые утратили свои функции [39]. Биоматериалы бывают биосовместимыми и биodeградируемыми [2].

Биосовместимым называется материал, обладающий способностью встраиваться в организм пациента и не вызывать побочных клинических проявлений, индуцировать клеточный или тканевой ответ, необходимый для достижения терапевтического эффекта. В.И. Севастьянов выделяет следующие основные свойства таких материалов: отсутствие местной и общей воспалительной реакции при их применении, отсутствие токсического и аллергического влияния на организм, канцерогенного действия, сохранение функциональных свойств в течение предусмотренного срока эксплуатации [2].

Биodeградируемые материалы частично или полностью рассасываются, поглощаются макрофагами, включаются в метаболические и биохимические процессы и/или заменяются живой тканью [2].

В колопроктологии для лечения свищей прямой кишки используются биоматериалы как природного, так и синтетического происхождения. Основная цель их применения — снижение травмы анального сфинктера за счет улучшения регенерации тканей, замещения дефекта в области иссеченного внутреннего отверстия свища и свищевого хода биоматериалом, являющимся своеобразной матрицей для прорастания его в дальнейшем аутоканью. Биоматрицы позволяют сократить размеры раны, ускорить процессы регенерации и уменьшить травматизацию анального сфинктера, следовательно, минимизировать риск развития недостаточности анального жома [38].

Использование фибринового клея для лечения свищей прямой кишки обусловлено следующими его свойствами: 1) формирование фибринового сгустка при заполнении свищевого хода; 2) стимуляция репаративных процессов и ускорение заживления ран; 3) отсутствие повреждающего действия на ткани, в том числе на волокна анального сфинктера.

Фибриновый клей состоит из фибриногена, тромбина и ионов кальция. При введении в свищевой ход клей стимулирует миграцию и пролиферацию фибробластов, а также плюрипотентных эндотелиальных клеток. Между 7-м и 14-м днем плазмин, который присутствует в окружающих тканях, лизирует фибриновый сгусток, и свищевой ход заполняется синтезированным коллагеном [20]. Некоторые авторы предлагают дополнять пломбировку свищевого хода ушиванием наружного и внутреннего свищевого отверстия, однако проведенные исследования не показали статистически значимых различий [10, 11, 17].

Первое сообщение о применении биоклея путем заполнения им иссеченного свищевого хода было сделано в 1991 г. А. Hjortrup [22]. В данное исследование было включено 23 пациента со свищами различной этиологии, из них у 8 (34,8%) криптоглангулярного генеза. Период наблюдения составил 26 месяцев. У 12 (52%) больных лечение наступило после первой процедуры. В течение

9 недель у 11 (48%) пациентов отмечен рецидив заболевания. Повторная пломбировка свищевого хода была эффективна у 5 (45%) больных с рецидивом. Побочных эффектов применения фибринового клея не выявлено.

Также этой проблеме было посвящено несколько рандомизированных исследований [28, 35]. В исследование, проведенное М. Singer и соавт. в 2005 г., были включены три группы пациентов: в первой ($n=13$) использовали фибриновый клей с применением антибиотиков, во второй ($n=15$) — фибриновый клей с ушиванием внутреннего отверстия и в третьей ($n=17$) — фибриновый клей с ушиванием внутреннего отверстия с применением антибиотиков. Статистически значимых различий в частоте рецидивов между группами получено не было: за период 9-месячного наблюдения в первой группе возврат заболевания отмечен у 6 (54%) человек, во второй — у 8 (47%), в третьей — у 8 (53%) [35].

Следующее рандомизированное исследование включало 29 больных с высокими и 13 больных с низкими трансфинктерными свищами. Пациенты путем случайной выборки были распределены в группу применения фибринового клея и группу иссечения свища в просвет кишки [28]. Из 19 больных, распределенных в группу применения биоматериалов, выздоровление после первичной манипуляции наступило у 8 (42%), еще у 4 этого результата удалось достичь после повторной процедуры с эффективностью 63%. В группе, где выполнялось хирургическое вмешательство, полное выздоровление зарегистрировано у 7 пациентов с низкими свищами, захватывающими лишь подкожную порцию, и всего у 2 пациентов с высокими трансфинктерными свищами. Данные различия между группами оказались статистически достоверными ($p=0,003$). При этом значимой разницы в частоте возникновения анальной инконтиненции (максимальное давление в анальном канале в покое, волевые сокращения) не обнаружено. Авторы пришли к выводу, что при низких свищах прямой кишки очевидных преимуществ в использовании фибринового клея нет, но его эффективность превалирует при высоких трансфинктерных свищах.

По данным рандомизированных исследований с применением фибринового клея при лечении свищей прямой кишки, было проведено несколько мета-анализов [9, 36].

В мета-анализ R. Cirocchi и соавт. было включено два рандомизированных и одно нерандомизированное исследование. Авторы не выявили статистически значимых различий между традиционным хирургическим лечением свищей прямой кишки и лечением с использованием фибринового клея, но отметили тенденцию к более быстрому заживлению ран после хирургического вмешательства ($p=0,68$) и практически полное отсут-

ствие анальной инконтиненции в группе, где применялся фибриновый клей ($p=0,08$) [9].

В мета-анализ, выполненный М.Т. Swinscoe и соавт. в 2005 г., было включено 378 пациентов из 12 научных исследований. Частота выздоровления там, где использовался фибриновый клей, сильно варьировала — от 10 до 78%, при этом авторами отмечены отрицательные стороны в методологии проведенных рандомизированных исследований: группы сравнения были небольшие, неоднородные по этиологии и характеру свищевого хода, а методы лечения не стандартизированы [27, 36].

Фибриновый клей имеет свои недостатки, в числе которых низкая адгезивная способность, что требует предварительного осушения тканей, сложность изготовления и применения, возможность развития аллергических реакций и передачи гематогенных инфекций.

Таким образом, использование фибринового клея — достаточно эффективная процедура, которая позволяет сохранить функцию анального сфинктера, однако показания и противопоказания к его применению в хирургической практике окончательно не определены, что и обуславливает высокий процент рецидивов.

Еще одним материалом, применяемым при лечении свищей, являются коллагеновые биоматериалы, такие как фибриллярные белки [3, 8]. Эти трансплантаты представляют основной компонент костной, хрящевой и соединительной ткани. Согласно ретроспективному исследованию D. Christoforidis [8], эффективность коллагеновых биоматериалов в лечении сложных свищей прямой кишки составляет 43%. В данное исследование вошли 49 пациентов с указанной патологией. Медиана наблюдения составила 6,5 месяца. Лечение осуществляли при помощи коллагенового биоматериала «Surgisis Plug». Данный метод лечения оказался эффективным у 65% (9/14) пациентов со свищами, вовлекающими меньше $\frac{1}{3}$ наружного сфинктера, у 26% (9/34) — при свищах, занимающих от $\frac{1}{3}$ до $\frac{2}{3}$ наружного сфинктера, и у 13% (2/16) — при свищах, захватывающих более $\frac{2}{3}$ анального сфинктера. Проведение лигатуры сопровождалось более частым выздоровлением, чем без него, — соответственно у 15 (42%) и 5 (18%) пациентов, хотя данная разница не была статистически значимой ($p=0,058$).

В систематическом обзоре, выполненном Р. Garg [16], из 25 найденных исследований в анализ были включены только 12 ($n=317$), которые полностью соответствовали критериям, необходимым для оценки результатов лечения. Частота выздоровления при использовании биоматериалов варьировала от 24 до 92%. При сложных свищах прямой кишки в проспективных исследованиях (8 из 12) показатели выздоровления составили 35–87%. У лиц с множественными свищевы-

ми ходами они колебались от 20 до 71%. Число осложнений в виде острого парапроктита составило 4–29%, экстррузия импланта наблюдалась в 19% случаев.

В ГНЦК разработан (2014 г.) и применяется способ хирургического лечения экстрасфинктерных и транссфинктерных свищей прямой кишки с использованием биопластического материала «Коллост», заключающийся в пластике внутреннего свищевого отверстия коллагеновой мембраной и пломбировке ложа иссеченного свищевого хода биопластическим материалом в форме жгута с последующим введением геля «Коллост». В сроки от 5 месяцев до 3 лет, прослежены 45 пациентов; рецидив заболевания отмечен лишь у 4 (9%) больных с экстрасфинктерными свищами 4-й степени сложности [3].

В настоящее время все большее внимание в специализированной литературе, посвященной лечению травматических повреждений тканей, уделяется плазме, обогащенной тромбоцитами, которая производится из цельной крови пациента и содержит супрафизиологическую концентрацию тромбоцитов [5]. Обогащенная тромбоцитами плазма создает благоприятную для регенерации ткани окружающую среду, богатую факторами роста и цитокинами, что оказывает положительное влияние на миграцию и пролиферацию клеток. Тем не менее, в последнее десятилетие использование подобной плазмы в клинической практике ограничено и сосредоточено преимущественно в области стоматологии и челюстно-лицевой хирургии [6].

Появились сообщения о применении обогащенной тромбоцитами плазмы при многоэтапном лечении свищей прямой кишки [25, 26, 37]. Первый этап включает проведение лигатуры через свищевой ход для ликвидации местных воспалительных реакций. Второй этап — введение обогащенной плазмы в свищевой ход как изолированно, так и в комбинации с традиционными методами лечения.

А. Kucharczyk в 2014 г. опубликовал результаты лечения нескольких пациентов с транссфинктерными свищами прямой кишки с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы [25]. По мнению автора, достигнуты обнадеживающие результаты, так как этот метод не оказывает негативного влияния на функцию анального сфинктера.

В исследование S.J. Hagen и соавт. [37] было включено 10 больных с высокими транссфинктерными свищами прямой кишки. В ходе двухэтапного лечения за 2-летний период наблюдения рецидив развился у 10% из них.

В 2015 г. K.W.A. Göttgens провел многоцентровое проспективное исследование, включавшее 60 пациентов со сложными свищами прямой кишки. Период наблюдения составил 24 (11–43) месяца. Оценка эффективности метода осуществ-

лялась при помощи клинического осмотра, магнитно-резонансной терапии малого таза, анкет SF-36, GIQLI. Полное выздоровление отмечено у 66,66% больных, при этом функция держания не была нарушена ни в одном случае [18, 19].

Особое место среди биоматериалов нового поколения занимают полимеры микробиологического происхождения — так называемые полигидроксикапаноаты. Один из них GORE Bio-A применяется при лечении свищей и состоит из биорассасывающихся монофиламентов, соединенных с полигликолиевой кислотой.

Техника операции воспроизводима и имеет достаточно простую кривую обучения. После идентификации свищевого хода его края обрабатывают острым путем. Наружное свищевое отверстие раскрывают для более адекватного дренирования. Осторожно иссекают внутреннее свищевое отверстие и мобилизуют слизистую оболочку прямой кишки. Свищевой ход пломбируют биоматериалом, а внутреннее отверстие укрывают слизистым лоскутом [30].

На сегодняшний день опубликовано всего несколько исследований, оценивающих эффективность метода с применением GORE Bio-A [23, 32, 33].

В исследование W.J. Hodgson [23] были включены 25 пациентов с транссфинктерными свищами. Кумулятивная эффективность метода составила 76,9%. Мигрирования или выпадения биопластического материала не отмечалось. Период динамического наблюдения составил 6 месяцев.

Собственный опыт в лечении свищей прямой кишки при помощи метода GORE Bio-A представили А. Ommer и соавт. [30]. В исследовании приняли участие 5 больных с высокими передними транссфинктерными свищами и 6 пациентов с задними транссфинктерными свищами высокого уровня, все прошли через двухэтапное хирургическое вмешательство. Медиана наблюдения составила 5 месяцев. Явлений анальной инконтиненции не отмечено. У 8 человек удалось добиться полного излечения (72,7%). Авторы пришли к выводу, что метод Gore Bio-A® Fistula Plug простой, сравнительно малоинвазивный, безопасный и потенциально эффективный в лечении свищей прямой кишки. Однако для дальнейшей оценки необходимо проведение рандомизированных исследований.

Еще одним перспективным направлением является использование стволовых клеток, которые за счет своих биологических свойств подавляют воспаление и стимулируют дифференцировку, что помогает ускорить заживление ран. В лечении свищей прямой кишки в последнее десятилетие стали применяться стволовые клетки, полученные из жировой ткани [40].

Наибольший опыт в изучении роли стволовых клеток в лечении свищей прямой кишки принадлежит D. Garcia-Olmo [13–15]. В многоцентро-

вое, рандомизированное клиническое исследование III фазы были включены 200 пациентов из 19 центров, которые были рандомизированы на три группы: в группе А ($n=64$) назначали инъекцию стволовых клеток, в группе В ($n=60$) — стволые клетки и пломбировку свищевого хода фибриновым клеем, в группе С ($n=59$) — только пломбировку фибриновым клеем после закрытия внутреннего свищевого отверстия. После 1 года наблюдения выздоровление достигнуто в 57, 52 и 37% соответственно. При сравнении этих трех групп статистически значимых различий не получено. В том же исследовании было убедительно доказано, что использование стволовых клеток весьма безопасно с точки зрения развития анальной инконтиненции в послеоперационном периоде [21].

Заключение

Применение биоматериалов — достаточно эффективный сфинктеросохраняющий метод лечения свищей прямой кишки. Ограничением для их широкого использования в клинической практике остается высокая стоимость, существенно увели-

чивающая затраты на лечение. Цена полимеров микробиологического происхождения колеблется в диапазоне 500–1500 \$. Экономического анализа применения обогащенной тромбоцитарными факторами роста плазмы в контексте лечения свищей прямой кишки на сегодняшний момент не проводилось.

Современные биотехнологии расширили арсенал колопроктологов в данной области. При использовании биоматериалов, благодаря их способности стимулировать регенерацию тканей, удастся решить основные задачи лечения пациентов с рассматриваемой патологией: снизить частоту рецидивов и сохранить функцию держания анального сфинктера. Однако для каждого из методов должны быть строгие показания. Таким образом, существует необходимость в качественных, рандомизированных исследованиях, сравнивающих различные хирургические подходы к лечению свищей прямой кишки. Учитывая высокую стоимость расходных материалов в указанных исследованиях должен быть проведен анализ не только клинической, но и экономической эффективности каждого из методов.

Список литературы

1. Аминев А.М. Руководство по проктологии. Куйбышев, 1971.
2. Aminev A.M. Guide to proctology. Kuibyshev, 1971.
3. Севастьянов В.И., Кирпичников М.П. Биологические материалы: Учебное пособие. М.: МИА, 2011. 544 с.
4. Sevastyanov V.I., Kirpichnikov M.P. Biological materials: manual. M.: MIA, 2011. 544 p.
5. Фролов С.А., Кузьминов А.М., Минбаев Ш.Т. и др. Лечение свищей прямой кишки с применением нереконструированного коллагена. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктотол 2014; 24(5):65-72.
6. Frolov S.A., Kuzminov A.M., Minbayev Sh.T., et al. Treatment of rectal fistulas with application of unreconstructed collagen. Ros zhurn gastroenterol gepatol koloproktol 2014; 24(5): 65-72.
7. Шешаберидзе М.С. Оперативное лечение сложных экстрафинктерных и трансфинктерных свищей прямой кишки. Хирургия 2001; 10:43-6.
8. Sheshaberidze M.S. Surgery of extrasphincter and transsphincter rectal fistulas. Khirurgiya 2001; 10:43-6.
9. Alsousou J., et al. The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration. Platelets 2012; 24(3):173-82.
10. Andrade M.G., et al. Evaluation of factors that can modify platelet-rich plasma properties. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 2008; 105(1):5-12.
11. Bleier J., Moloo H. Current management of cryptoglandular fistula-in-ano. World J Gastroenterol 2011; 17(28):3286-91.
12. Christoforidis D., et al. Treatment of complex anal fistulas with the collagen fistula plug. Dis Colon Rectum 2008; 51(10):1482-7.
13. Cirocchi R., Santoro A., Trastulli S., Farinella E., di Rocco G., et al. Meta-analysis of fibrin glue versus surgery for treatment of fistula-in-ano. Ann Ital Chir 2010; 81:349-56.
14. De Parades V., Far H.S., et al. Seton drainage and fibrin glue injection for complex anal fistulas. Colorectal Dis 2010; 12:459-63.
15. Dietz D.W. Role of fibrin glue in the management of simple and complex fistula in ano. J Gastrointest Surg 2006; 10(5):631-2.
16. Garcia-Aguilar J., Belmonte C., et al. Anal fistula surgery. Factors associated with recurrence and incontinence. Dis Colon Rectum 1996; 39:723-9.
17. Garcia-Olmo D., et al. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. Dis Colon Rectum 2005; 48(7):1416-23.
18. Garcia-Olmo D., et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. Dis Colon Rectum 2009; 52(1):79-86.
19. Garcia-Olmo D., Garcia-Arranz M., Herreros D. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula including Crohn's disease. Expert Opin Biol Ther 2008; 9(8):1417-23.
20. Garg P., et al. The efficacy of anal fistula plug in fistula in ano: a systematic review. Colorectal Dis 2010; 12(10):965-70.
21. Gisbertz S.S., et al. Treatment of fistulas in ano with fibrin glue. Dig Surg 2005; 22(1-2):91-4.
22. Göttgens K.W.A., et al. Long-term results of mucosal advancement flap combined with platelet-rich plasma for high cryptoglandular perianal fistulas. Dis Colon Rectum 2014; 57(2):223-7.
23. Göttgens K.W.A., et al. Treatment of Crohn's disease-related high perianal fistulas combining the mucosa advancement flap with platelet-rich plasma: a pilot study. Tech Coloproctol 2015:1-5.
24. Hammond T.M., Grahm M.F., Lunniss P.J. Fibrin glue in the management of anal fistulae. Colorectal Dis 2004; 6(5):308-19.
25. Herreros M.D., et al. Autologous expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex cryptoglandular perianal fistulas: a phase III randomized clinical trial (FATT 1: fistula Advanced Therapy Trial 1) and long-term evaluation. Dis Colon Rectum 2012; 55(7):762-72.
26. Hjortrup A., Moesgaard F., Kjærgård J. Fibrin adhesive in the treatment of perineal fistulas. Dis Colon Rectum 1991;34(9):752-4.

23. *Hodgson W.J.B.* Gore® Bio-A® Fistula plug for treatment of anal fistulas. www.goremedical.com
24. *Jordán J., Roig J.V., García-Armengol J., et al.* Risk factors for recurrence and incontinence after anal fistula surgery. *Colorectal Dis* 2010; 12(3):254-60.
25. *Kucharczyk A., et al.* Autologous growth factors used for the treatment of recurrent fistula-in-ano preliminary results. *Tech Coloproctol* 2014; 18(3):317-8.
26. *Lara F.J.P., et al.* Platelet-Rich Fibrin Sealant as a Treatment for Complex Perianal Fistulas: A Multicentre Study. *J Gastrointest Surg* 2014; 19(2):360-8.
27. *Lewis R., Lunniss P.J., Hammond T.M.* Novel biological strategies in the management of anal fistula. *Colorectal Dis* 2012; 14(12):1445-55.
28. *Lindsey I., Smilgin-Humphreys M.M., Cunningham C., et al.* A randomized controlled trial of fibrin glue vs conventional treatment for anal fistula. *Dis Colon Rectum* 2002; 45:1608-15.
29. *Lohsiriwat V., Yodying H., Lohsiriwat D.* Incidence and factors influencing the development of fistula-in-ano after incision and drainage of perianal abscesses. *J Med Assoc Thai* 2010; 93(1):61-5.
30. *Ommen A., et al.* Gore BioA Fistula Plug in the treatment of high anal fistulas-initial results from a German multicenter-study. *GMS Ger Med Sci* 2012:10.
31. *Parks A.G., Gordon P.H., Hardcastle J.D.* A classification of fistula-in-ano. *Br J Surg* 1976; 63(1):1-12.
32. *Portilla F.* Gore Bio-A® Fistula Plug for complex anal fistula: the results should be interpreted cautiously. *Colorectal Dis* 2013; 15(5):628-9.
33. *Ratto C., et al.* Gore Bio-A® Fistula Plug: a new sphincter-sparing procedure for complex anal fistula. *Colorectal Dis* 2012; 14(5):264-9.
34. *Sainio P.* Fistula-in-ano in a defined population. Incidence 23 and epidemiological aspects. *Ann Chir Gynaecol* 1984; 73:219-24.
35. *Singer M., et al.* Treatment of fistulas-in-ano with fibrin sealant in combination with intra-adhesive antibiotics and/or surgical closure of the internal fistula opening. *Dis Colon Rectum* 2005; 48(4):799-808.
36. *Swinscoe M.T., Ventaksubramaniam A.K., Jayne D.G.* Fibrin glue for fistula-in-ano: the evidence reviewed. *Tech Coloproctol* 2005; 9(2):89-94.
37. *Van der Hagen S.J., et al.* Autologous platelet-derived growth factors (platelet-rich plasma) as an adjunct to mucosal advancement flap in high cryptoglandular perianal fistulae: a pilot study. *Colorectal Dis* 2011; 13(2):215-8.
38. *Venkatesh K.S., Ramanujam P.* Fibrin glue application in the treatment of recurrent anorectal fistulas. *Dis Colon Rectum* 1999; 42(9):1136-9.
39. *Von Recum A.F., LaBerge M.* Educational goals for biomaterials science and engineering: prospective view. *J Appl Biomater* 1995; 6(2):137-44.
40. *Zuk P.A., et al.* Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13(12):4279-95.