

INYECCIÓN DE TEJIDO ADIPOSO MICRO-FRAGMENTADO PARA EL TRATAMIENTO DE LA FÍSTULA ANAL COMPLEJA: UN ESTUDIO PILOTO QUE ABORDA LA SEGURIDAD Y VIABILIDAD.

*G. Naldini, A. Sturiale, B. Fabiani,
I. Giani & C. Menconi*

RESUMEN:

Antecedentes:

El objetivo de este estudio ha sido evaluar la seguridad y eficacia de la inyección de tejido adiposo autólogo, micro-fragmentado y mínimamente manipulado relacionada con el cierre de la abertura interna en la promoción de la curación de fístula anales complejas.

Métodos

Se realizó un estudio piloto en pacientes con fístulas anales, que fueron remitidos a nuestro centro, de abril de 2015 a diciembre de 2016.

Los criterios de inclusión fueron: mayores de 16 años y un diagnóstico de fístula anal compleja de acuerdo con la clasificación Asociación Americana de Gastroenterología. Los pacientes se dividieron en 2 grupos; el "primer grupo" (Grupo I) en el que la inyección de tejido adiposo micro-fragmentado con el cierre de la abertura interna fuese su primer procedimiento conservador para el esfínter, y el "grupo recurrente" (Grupo II) formado por pacientes en los cuales los procedimientos conservadores para esfínteres habían fallado. El procedimiento se llevó a cabo 4-6 semanas después de la colocación de un sedal. Las visitas de seguimiento se programaron a los 7 días, y 1, 3, 6 y 12 meses después cirugía. La curación de la fístula se determinó como el cierre de las

aberturas internas y externas con la ausencia de descargas.

Resultados:

De los 47 pacientes con fístula anal transesfinteriana compleja, 19 cumplían con los criterios de inclusión y fueron seleccionados para someterse al procedimiento. Doce de estos pacientes (Grupo I) tenían la inyección de tejido adiposo microfragmentado como primera línea de tratamiento, y 7 de los pacientes (Grupo II) habían tenido procedimientos conservadores del esfínter fallidos. El tiempo operatorio promedio fue de 55 ± 6 min (rango 50-70 min). El puntaje promedio de dolor postoperatorio medido con la escala de dolor analógico visual fue de $2 \pm 1,4$ (rango 0-4). No se registraron dificultades intraoperatorias relacionadas con el uso del kit. En el postoperatorio no hubo casos de fiebre o sepsis abdominal relacionada con el procedimiento, tampoco hemorragia perianal posterior al tratamiento o deterioro de la continencia anal. Solo en 3 de los casos se observaron leves hematomas en la pared abdominal los cuales no requirieron ningún tratamiento y 1 caso de absceso perianal. Los pacientes fueron evaluados por un tiempo medio de seguimiento de 9 ± 3.1 meses (rango 3-12 meses). La tasa de curación global fue 73.7, 83.3% para el Grupo I y 57.1% para el Grupo II.

Conclusión:

La inyección de tejido adiposo autólogo, micro-fragmentado y mínimamente manipulado relacionada con el cierre de la abertura interna es un procedimiento seguro, factible y reproducible y puede mejorar la curación de la fístula anal compleja.

Palabras clave

Tejido adiposo · Canal anal · Músculos · Lipogems · Fístula · Lipectomía

INTRODUCCIÓN

La fístula perianal es una de las enfermedades anorrectales más comunes con una incidencia anual de 8-10 casos por cada 100,000 personas. La tasa de incidencia puede alcanzar 13-39% en pacientes con enfermedad de Crohn porque la fístula perianal es uno de los signos clínicos más frecuentes de la enfermedad. Según la clasificación de la Asociación Americana de Gastroenterología (AGA), las fístulas perianales se pueden dividir en dos categorías: **simple y compleja**. La fístula simple incluye: interesfintérica y transesfinterica baja, las cuales involucran al menos el 30% del esfínter anal externo e interno. Las fístulas complejas, en cambio, incluye: las fístulas transesfinterianas altas, las cuales involucran más del 30% del esfínter anal externo e interno, supraesfinteriana, extraesfinteriana, en herradura, múltiples, anteriores en mujeres, enfermedad inflamatoria intestinal recurrente (IBD), radiación, incontinencia preexistente y diarrea crónica. El tratamiento de seton de corte o la fistulotomía es el tratamiento de referencia para tratar las fistulas del tipo simple. El tratamiento para las fistulas del tipo complejo continúa siendo un reto, y no existe ningún procedimiento

de referencia para tratarla. Los tratamientos actuales propuestos solo tratan el orificio interno (IO) o ambos, el IO y el tracto de la fístula. El colgajo de avance, la ligadura del tracto de fístula interesfintérico (LIFT) y los clips de alcance (OTSC®) pertenecen a la primera categoría. El sellador de cola de fibrina (FGS), el tapón de colágeno anal (ACP), la pasta de colágeno Permacol™, el cierre de la fístula con láser (FiLaC™), el tratamiento de fístula anal asistida por video (VAAFT) y el plasma rico en plaquetas (PRP) pertenecen a la segunda categoría. Recientemente, se han propuesto nuevos enfoques terapéuticos, tales como el uso de células madre mesenquimales (MSC), y se han explorado las capacidades regenerativas de la grasa con propiedades mesenquimales células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo (ASC). Se ha informado que las MSC pueden activar e influir en el microambiente debido a la secreción de factores mitogénicos e inmunomoduladores. El uso de ASCs ya sea expandido u obtenido por digestión enzimática como la fracción vascular estromal (SVF) ha despertado un gran interés, y varios estudios han conseguido demostrar sus propiedades regenerativas e inmunomoduladoras tanto in vitro como in vivo. Sin embargo, el tratamiento enzimático o la expansión celular tiene limitaciones regulatorias complejas. Por lo tanto, sería preferible un tejido adiposo autólogo mínimamente manipulado como una opción terapéutica. El objetivo del presente estudio es evaluar la seguridad y eficacia de la inyección autóloga, micro-fragmentada y mínimamente manipulada del tejido adiposo relacionada con el cierre de la abertura interna para promover la consolidación de la fístula anal compleja.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

De abril de 2015 a diciembre de 2016 se inscribieron consecutivamente para un estudio prospectivo pacientes remitidos a nuestro centro, los cuales eran mayores de 16 años y con un diagnóstico de fístula anal compleja, de acuerdo con la clasificación de la Asociación Estadounidense de Gastroenterología. El diagnóstico de fístula compleja se confirmó mediante resonancia magnética pélvica o ultrasonido transanal tridimensional de 360°. Los pacientes se sometieron a un procedimiento de primer paso con la colocación de un sedal flojo 4-6 semanas antes del procedimiento conservador de esfínteres. Los pacientes se dividieron en dos grupos: el "grupo de primera vez" (Grupo I) en el que este fue el primer procedimiento y el "grupo recurrente" (Grupo II) que había fallado en los procedimientos anteriores. Se recogieron los datos demográficos de los pacientes, así como los datos previos del tratamiento de fístula. Se obtuvieron todos los consentimientos informados por escrito de todos los pacientes incluidos en el estudio.

CRITERIO DE EXCLUSIÓN:

Los criterios de exclusión fueron los siguientes: múltiples fístulas, abscesos, EII, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la hepatitis B (VHB) o infección por el virus de la hepatitis C (VHC), fístula recto vaginal, terapia con anticoagulantes, esteroides o inmunomoduladores, radioterapia pélvica previa, antecedentes de neoplasia dentro de los 5 años posteriores al diagnóstico, embarazo, diabetes no controlada, coagulopatía o enfermedades del tejido conectivo.

TÉCNICA QUIRÚRGICA

El procedimiento conservador para los esfínteres se llevó a cabo en un solo paso quirúrgico.

• Cosecha del tejido adiposo.

Se seleccionó la parte inferior o lateral del abdomen como el sitio donante para la extracción de tejido adiposo. Antes de cosechar la grasa, se inyectó la pared abdominal anterior con 360 ml (180 ml en cada lado derecho e izquierdo) de solución de Klein modificada (500 ml de solución salina, 20 ml de lidocaína 20 mg/ml, 1 ml de adrenalina 1 mg/ml) usando una cánula desechable (17G) (Fig. 1). El tejido adiposo se cosechó usando una cánula roma 13G conectada a una jeringa Vaclock® de 20 ml (figura 2a, b). El tejido aspirado se recogió luego en jeringas de 10 ml y se colocó para decantar (Fig. 2c, d).

• Procesamiento del tejido adiposo con el dispositivo Lipogems®.

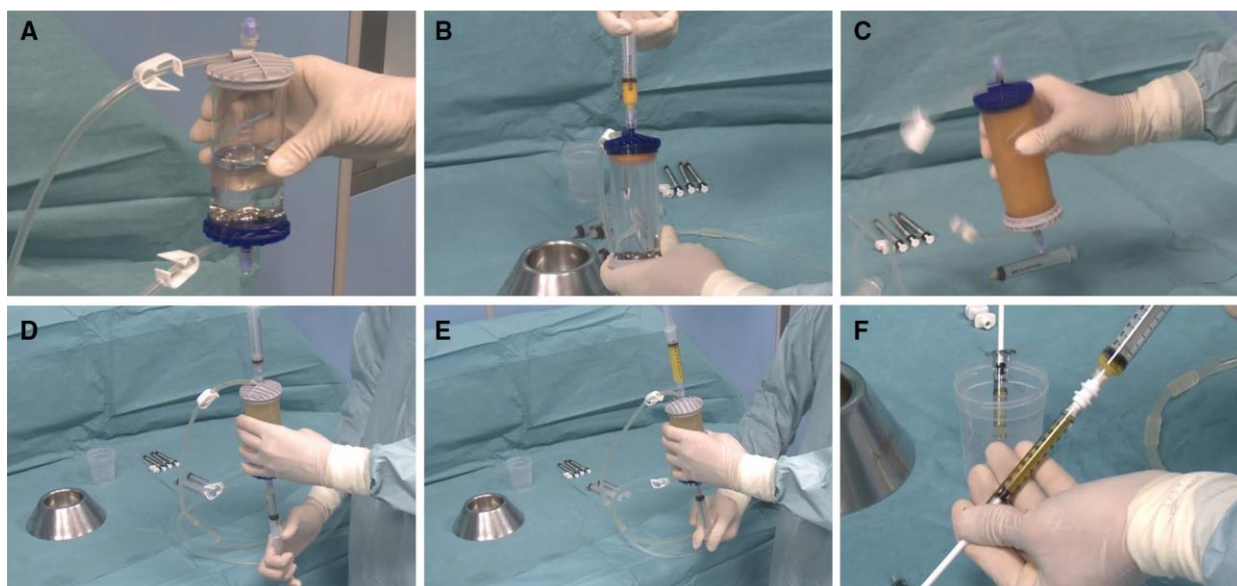
La grasa cosechada se procesó en el kit de procesamiento Lipogems®, un dispositivo desechable que reduce gradualmente el tamaño de los agregados de tejido adiposo y elimina las sustancias oleosas y los residuos de sangre con propiedades proinflamatorias. Todo el proceso se realizó en inmersión completa en solución salina minimizando cualquier acción traumática en los productos celulares. El tejido adiposo microfragmentado resultante se recogió en una jeringa de 10 ml y se colocó para decantar el exceso de solución salina. Al final, el producto se transfirió a varias jeringas de 1 ml con una aguja de 22G 30 mm de longitud para ser inyectadas en el paciente (Fig. 3).



1 a Incisión cutánea a lo largo de la línea axilar anterior 2 cm por encima de la cresta ilíaca. b Infiltración del tejido subcutáneo con solución Klein modificado



Fig. 2 a, b La liposucción se realiza a través de una cánula (13G) conectada a una jeringa Vaclock[®] desde ambos lados del tejido adiposo subcutáneo de la pared abdominal anterior. c El tejido aspirado se transfiere a jeringas de 10 ml y el pistón se voltea hacia arriba. Esta posición permite la estratificación de los fluidos y el tejido. d La parte fluida del aspirado se retira de la jeringa antes de que se utilicen los contenidos



*Fig. 3 a La manguera del filtro azul está conectada a la bolsa de solución salina. El cilindro gira con el filtro gris hacia arriba. Ambas mangueras se encuentran abiertas El cilindro se llena con la solución salina mientras se mantiene verticalmente Una vez que el cilindro está completamente lleno, ambas mangueras están cerradas. **b** El cilindro se reemplaza con el filtro azul hacia arriba. La manguera del filtro azul se cierra y la gris abierta. La jeringa con el tejido adiposo el aspirado de tejido está conectado al filtro azul empujándolo dentro del procesamiento cilindro. **c** Ambas mangueras se abren para permitir un flujo continuo de solución salina y la eliminación de residuos grasos y sanguinolentos. El cilindro se agita hasta que la solución salina dentro de este se vuelve clara y entonces ambas mangueras se cierran. La acción de las esferas de acero emulsiona y microfractura el tejido adiposo. **d** Se conectan dos jeringas Luer-lock a los filtros para retirar el producto Lipogems®. se voltea el cilindro de procesamiento para que el filtro gris esté en la parte superior. La manguera del filtro azul se abre y se saca una jeringa llena de solución salina, y luego, la manguera se cierra. **e** El cilindro se sostiene verticalmente con el filtro gris hacia arriba, se empuja la solución salina desde la jeringa conectada al filtro azul dentro del cilindro. El producto final fluirá a través del filtro gris en la jeringa conectada a este. **f** El producto se transfiere a varias jeringas de 1 ml con una aguja 22G para inyectar en el paciente.*



*Fig. 4 a Desbridamiento del tracto de fístula. **b** Cierre de la abertura interna usando puntos de pólidioxanona 2/0 para la capa muscular. **c** Inyección del producto final de Lipogems ® a través de jeringas de 1 ml alrededor de la abertura interna.*



Fig. 5 a Aleta mucosa cerrada con puntos Vicryl 2/0. b Inyección final del producto Lipogems a través de jeringas de 1 ml alrededor del colgajo de la mucosa. c Inyección del producto final Lipogems ® a través de jeringas de 1 ml alrededor del tracto de la fístula

Curetaje del trayecto de la fístula y cierre de la abertura interna.

El primer paso fue el desbridamiento de la abertura interna, y luego, el cierre de la capa muscular mediante puntadas de pólidioxanona 2/0 (PDS) después de socavar los bordes de la mucosa con el fin de elevar una cantidad de tejido 1 cm más ancha que el tamaño del ensanchamiento del orificio. Por otro lado, se cerró el colgajo de la mucosa por encima de la capa muscular mediante puntos Vicryl 2/0 (Fig. 4).

● Inyección de tejido adiposo micro-fragmentado.

El producto se inyectó en las capas de la mucosa y muscular alrededor de la abertura interna (6 ml alrededor del IO en la capa muscular y 4 ml alrededor del colgajo mucosal) y alrededor del tracto de la fístula desde la abertura interna a la externa. La cantidad de producto inyectado pudo variar dependiendo de la cantidad total cosechada, no siendo menor de 6 ml, al menos 2 ml por cm de fístula (figura 5).

EVALUACIONES PERIOPERATORIAS

El tiempo operatorio, el volumen de grasa micro-fragmentada inyectada y las dificultades intraoperatorias relacionadas

con el uso del kit de procesamiento se evaluaron al final del procedimiento quirúrgico. Las complicaciones postoperatorias, incluido el dolor [0-10 escala visual analógica (EAV)], fiebre, hemorragia, hematoma abdominal o perineal y abdominal o perineal se evaluaron prospectivamente en cada visita de seguimiento. El deterioro de la continencia (puntuación de incontinencia de Wexner) se evaluó antes de la cirugía y después de la cirugía en cada visita de seguimiento y luego se comparó con la prueba t de Student. Las visitas de seguimiento se programaron a los 7 días, y 1, 3, 6 y 12 meses después de la cirugía. La curación de la fístula se definió como el cierre de las aberturas internas y externas con la ausencia de descargas.

RESULTADOS

Demografía

Desde abril de 2015 hasta diciembre de 2016, 47 pacientes se sometieron a procedimientos conservadores para el esfínter para tratamiento de fístulas anales transesfinterianas complejas, pero solo 19 (7 hombres y 12 mujeres) con una edad promedio de 48 años (rango 28-77 años) se inscribieron en el presente estudio. Veintiocho fueron

excluidos debido a enfermedad de Crohn (n = 11 pt), tractos múltiples (n = 7), terapia anticoagulante (n = 7 pt), coagulopatía (n = 2), (n = 7) e infección por VHC (n = 1). Siete de estos pacientes habían sido sometidos a procedimientos conservadores del esfínter previamente (tapón de fístula del Grupo II-2, 1 LIFT, 1 tapón (plug) y LIFT, 1 pasta Permacol, 2 colgajos de avance). Doce pacientes estaban en el Grupo I porque se sometieron a esta cirugía como primera línea de tratamiento.

Complicaciones intraoperatorias y postoperatorias

El tiempo operatorio promedio fue de 55 ± 6 min (rango 50-70 min). El volumen medio de grasa micro-fragmentada inyectada fue de $16 \pm 2,9$ ml (rango 12-22 ml). No se registraron dificultades intraoperatorias relacionadas con el uso del kit.

El grado medio de dolor postoperatorio medido con la escala de dolor VAS fue de $2 \pm 1,4$ (rango 0-4) a la semana y al mes de la cirugía. El valor medio de la puntuación VAS fue 0 en las siguientes visitas de seguimiento. Solo dos casos de incomodidad perianal duraron 2 meses después de la cirugía. No hubo casos de fiebre posoperatoria o sepsis abdominal relacionada con el procedimiento, hemorragia perianal o continencia anal deteriorada después de la cirugía. (La puntuación Wexner media preoperatoria y postoperatoria fue de 1.) Solo se observaron 3 casos de hematoma menor de pared abdominal que no requirieron ningún tipo de tratamiento y 1 caso de absceso perianal. El absceso perianal se desarrolló 3 meses después de la cirugía y se debió a recurrencia de la fístula.

Resultados

Los pacientes fueron evaluados por un tiempo medio de seguimiento de 9 ± 3.1 meses (rango 3-12 meses). La tasa de curación global fue de 73.7, 83.3% (10 pacientes) en el Grupo I y 57.1% (4 pacientes) en el Grupo II. En general, solo se observó 1 caso de absceso y 4 casos de secreción persistente sin cierre de las aberturas internas y externas. En 10 pacientes, la curación de la fístula ocurrió entre 3 y 6 meses después de la cirugía y se observó durante la visita de seguimiento de 6 meses. En 2 casos, la fístula ya se curó en la visita de seguimiento de 3 meses.

Discusión

El tratamiento de la fístula anal compleja sigue siendo un reto y se han propuesto diferentes técnicas de tratamiento. La tasa de éxito de cada técnica es en realidad variable, como se informó en revisiones sistemáticas recientes, debido a la falta de uniformidad y comparabilidad entre diferentes estudios y técnicas. El creciente interés en encontrar nuevos enfoques para mejorar los resultados quirúrgicos, el tiempo de recuperación y la calidad de vida del paciente ha llevado al desarrollo de enfoques innovadores, incluido el uso de MSCs. Es bien sabido que, además de ser multipotentes, estas células pueden promover la reparación de los tejidos mediante la liberación de moléculas bioactivas e inmunomoduladoras. El tejido adiposo es una fuente óptima de MSC debido a un acceso más fácil y una mayor abundancia que otras fuentes, como la médula ósea. Además, la capacidad de diferenciación de la médula ósea disminuye con la edad del donante. Los documentos anteriores han informado sobre el uso de MSC para el tratamiento de la fístula criptoglandular

relacionada con la enfermedad de Crohn o de la fístula anal crónica. García-Olmo et al. en un ensayo clínico de fase II en 35 participantes informó una tasa de curación de 71% en 1 año mediante la asociación de ASCs expandidas y cola de fibrina. Herreros y sus colegas, en cambio, en un ensayo clínico aleatorizado de fase III en 200 participantes informaron una tasa de curación del 57.1% utilizando ASCs expandidas solas y una tasa de curación del 52.4% usando ASCs expandidas asociadas con cola de fibrina. En ambos casos, hubo cierre de la apertura interna. Panès y colegas en un estudio aleatorizado, doble ciego, grupo paralelo, controlado con placebo informaron una remisión combinada del 50% en el grupo de intención de tratar (intention-to-treat) tratado con MSCs frente al 34% de tasa de éxito en aquellos tratados con placebo. los eventos adversos relacionados con el tratamiento fueron del 17% en el grupo tratado con MSC frente al 29% en los tratados con placebo. Las MSC también se han usado para tratar las fístulas recto-vaginales. Garcia-Arranz y sus colegas en un ensayo clínico fase I-II en 10 pacientes con fístula recto vaginal relacionada con la enfermedad de Crohn informaron una tasa de curación del 60%. En algunos pacientes, la inyección de MSCs se asoció con un colgajo. En todos los estudios mencionados anteriormente, las ASCs se aislaron por tratamiento enzimático y, en la mayoría de los casos, se sometieron a una expansión adicional ex vivo. Además de la gran cantidad de pasos de procesamiento, los costos significativos y las restricciones relacionadas con las buenas prácticas de fabricación (GMP), la tasa de éxito informada fue variable. Por lo tanto, la disponibilidad de un tejido adiposo autólogo mínimamente manipulado rico en estas ASCs regenerativas tendría una notable

relevancia clínica. Por estas razones, aprovechamos una técnica innovadora disponible comercialmente (Lipogems®) que intraoperatoriamente proporciona tejido adiposo micro-fragmentado en muy poco tiempo, sin expansión ni tratamiento enzimático. Con la ayuda de esta tecnología, el tejido adiposo se microfragmenta suavemente y se lava hasta que quede libre de aceite proinflamatorio y restos de sangre. Los resultados de nuestro estudio demuestran que el procedimiento seleccionado es factible, reproducible y seguro. De hecho, no se registraron complicaciones mayores ni eventos adversos. Solo se observaron 3 casos de hematoma de pared abdominal menor que no requirieron ningún tipo de tratamiento. Todas las fases del procedimiento son importantes, pero un paso fundamental para un buen resultado es el cierre de doble capa del orificio interno, que impide el paso continuo de los residuos de heces a través de la fístula. Esto da como resultado la exclusión de un tracto de fístula del cual se eliminó el tejido inflamatorio y en el cual se mejora la curación mediante la aplicación de una inyección de tejido adiposo micro-fragmentado. Por esta razón, a diferencia de otros procedimientos, la abertura externa se deja abierta para permitir cualquier descarga y garantizar un cierre desde la parte interna a la externa. El tejido adiposo micro-fragmentado se inyectó en todas las capas alrededor de la abertura interna y alrededor del tracto de la fístula. No inyectamos el tejido dentro del tracto porque no tiene actividad de carga ya que las ASC actúan solo como agentes inmunomoduladores para estimular la regeneración tisular que sostiene el proceso de curación natural.

Nuestros resultados preliminares son muy prometedores, con una tasa de curación del 83,3% en el Grupo I. En el Grupo II, la tasa de curación solo alcanzó el 57,1%. Esto puede explicarse por el hecho de que en este "grupo recurrente", debido a la abundancia de tejido fibrótico en las fístulas crónicas y recurrentes, el estímulo regenerativo no logró promover la curación. Por el contrario, el tejido nunca tratado anteriormente, como en el Grupo I, tiene el potencial de lograr una curación completa y estable si se estimula adecuadamente.

Un posible sesgo de este estudio es la dificultad para discriminar entre la contribución del cierre del procedimiento de apertura interna y la inyección de tejido adiposo micro-fragmentado. El cierre de la abertura interna difiere de un colgajo de avance ya que la mucosa se eleva lateralmente y en ambos lados del defecto. Sin embargo, si consideramos una tasa de éxito promedio de AF del 66,7% (rango 20-100%), con base en datos publicados, una contribución importante a la tasa de curación, en el Grupo I particularmente, es proporcionada por la inyección de tejido adiposo micro-fragmentado. La tasa de curación del Grupo II es incluso más baja que el colgajo de avance, posiblemente debido al proceso inflamatorio crónico que genera una cicatriz inerte. Sin embargo, no es posible hacer una comparación adecuada entre nuestra técnica y el colgajo de avance solo en estas 2 poblaciones de pacientes.

CONCLUSIONES

La inyección de tejido adiposo autólogo, micro-fragmentado y mínimamente manipulado relacionada con el cierre de la abertura de la fístula es un procedimiento seguro, factible y reproducible que puede mejorar la

curación de la fístula anal compleja. De acuerdo con nuestros resultados preliminares, sugerimos el uso de esta técnica combinada en pacientes con fístula anal compleja en el cual se realice el primer procedimiento conservador del esfínter.

Cumplimiento de estándares éticos

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

Aprobación ética Todos los procedimientos realizados en estudios con participantes humanos se realizaron de acuerdo con los estándares éticos del comité de investigación institucional y / o nacional y con la declaración de Helsinki de 1964 y sus posteriores enmiendas o estándares éticos comparables.

Consentimiento informado

El consentimiento informado se obtuvo de todos los participantes individuales incluidos en el estudio.

Referencias

1. Zanotti C, Martinez-Puente C, Pascual I, Pascual M, Herreros D, Garcia-Olmo D (2007) An assessment of the incidence of fistula-in-ano in four countries of the European Union. *Int J Colorectal Dis* 22(12):1459–1462
2. American Gastroenterological Association (2003) American Gastroenterological Association medical position statement: perianal Crohn's disease. *Gastroenterology* 125(5):1503–1507
3. Farmer RG, Hawk WA, Turnbull RB Jr (1975) Clinical patterns in Crohn's disease: a statistical study of 615 cases. *Gastroenterology* 68(4 Pt 1):627–635
4. Sandborn WJ, Fazio VW, Feagan BG, Hanauer SB (2003) AGA technical review on perianal Crohn's disease. *Gastroenterology* 125(5):1508–1530
5. Amato A, Bottini C, De NP et al (2015) Evaluation and management of perianal abscess and anal fistula: a

consensus statement developed by the Italian Society of Colorectal Surgery (SICCR). *Tech Coloproctol* 19(10):595–606

6. Kontovounisios C, Tekkis P, Tan E, Rasheed S, Darzi A, Wexner SD (2016) Adoption and success rates of perineal procedures for fistula-in-ano: a systematic review. *Colorectal Dis* 18(5):441–458
7. Limura E, Giordano P (2015) Modern management of anal fistula. *World J Gastroenterol* 21(1):12–20
8. Gimble JM, Guilak F, Bunnell BA (2010) Clinical and preclinical translation of cell-based therapies using adipose tissue-derived cells. *Stem Cell Res Ther* 1(2):19
9. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P et al (2002) Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 13(12):4279–4295
10. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H et al (2001) Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 7(2):211–228
11. Caplan AI, Correa D (2011) The MSC: an injury drugstore. *Cell Stem Cell* 9(1):11–15
12. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J (2007) Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells* 25(11):2739–2749
13. Mennigen R, Laukotter M, Senninger N, Rijcken E (2015) The OTSC(R) proctology clip system for the closure of refractory anal fistulas. *Tech Coloproctol* 19(4):241–246
14. Prosst RL, Joos AK, Ehni W, Bussen D, Herold A (2015) Prospective pilot study of anorectal fistula closure with the OTSC Proctology. *Colorectal Dis* 17(1):81–86
15. Prosst RL, Ehni W, Joos AK (2013) The OTSC(R) Proctology clip system for anal fistula closure: first prospective clinical data. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 22(5):255–259
16. Dubois A, Carrier G, Pereira B et al (2015) Therapeutic management of complex anal fistulas by installing a nitinol closure clip: study protocol of a multicentric randomised controlled trial–FISCLOSE. *BMJ Open* 5(12):e009884
17. Giordano P, Sileri P, Buntzen S et al (2016) A prospective multicentre observational study of Permacol collagen paste for anorectal fistula: preliminary results. *Colorectal Dis* 18(3):286–294
18. Hammond TM, Porrett TR, Scott SM, Williams NS, Lunniss PJ (2011) Management of idiopathic anal fistula using crosslinked collagen: a prospective phase 1 study. *Colorectal Dis* 13(1):94–104
19. Narang SK, Keogh K, Alam NN, Pathak S, Daniels IR, Smart NJ (2017) A systematic review of new treatments for cryptoglandular fistula in ano. *Surgeon* 15(1):30–39
20. Fabiani B, Menconi C, Martellucci J, Giani I, Toniolo G, Naldini G (2017) Permacol collagen paste injection for the treatment of complex anal fistula: 1-year follow-up. *Tech Coloproctol* 21(3):211–215