

# **UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie  
Direktor: Prof. Dr. med. Prof. h.c. Dr. h.c. Jakob R. Izbicki

## **Effektive Gewebsversiegelung zur Prävention von postoperativen Gallengangsleckagen und Pankreasfisteln mit einem neuartigen biologisch abbaubaren (auf Polyurethan basiertem Sealent Patch- PBSP) Sealing Device**

### **Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades der Humanbiologie  
Doctor rerum biologiae humanae  
(Dr. rer. biol. hum.)  
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:  
Dr. med. Ahmad Soliaman Bahar  
(geboren in Bremen)

Hamburg 2021

**(wird von der Medizinischen Fakultät ausgefüllt)**

**Angenommen von der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 27.06.2022**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

**Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Maximilian Bockhorn**

**Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Udo Schumacher**

**Prüfungsausschuss, dritter Gutachter: Prof. Dr. Guido Sauter**



<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>		<b>S.</b>
<b>1</b>	<b>FRAGESTELLUNG UND ANSPRUCH AM PBSP</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>9</b>
	2.1 Studienziele	9
	2.2 Studienendpunkte	10
	2.3 gesetzliche Vorschriften	11
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>12</b>
	3.1 in vitro Versuche	12
	3.2 in vivo Versuche	14
	3.2.1 Tiermodelle	14
	3.2.1.1 Auswahl der Spezien	14
	3.2.1.2 Behandlung der Tiere	15
	3.2.1.2.1 Identifizierung und Beschaffung der Tiere	15
	3.2.1.2.2 Haltung der Tiere	15
	3.2.1.2.3 Futter und Wasser	16
	3.2.1.2.4 Anästhesie und Analgesie	16
	3.2.1.2.5 Ethisches Komitee	18
	3.2.2 Test -und Kontrollprodukte	18
	3.2.2.1 Testprodukt	18
	3.2.2.1.1 Gebrauchsanweisung des PBSP®	
	3.2.2.2 Kontrollartikel	19
	3.2.2.2.1 Gebrauchsanweisung für Tachosil®	
	3.2.2.2.2 Gebrauchsanweisung für Veriset®	
	3.2.3 Studiendesigns	20
	3.2.3.1 „Galleversuch“ und Kontrollgruppen	20
	3.2.3.2 „Pankreasversuch“ und Kontrollgruppen	21
	3.2.3.3 „Blutungsversuch“ und Kontrollgruppen	23
	3.2.3.4 „Degradationsversuch“ und Kontrollgruppen	24
	3.2.4 Studienverfahren	28
	3.2.4.1 Allgemeine Verfahren	28
	3.2.4.1.1 Vorbereitungen im OP Saal	28

3.2.4.1.2	Vorbereitung der Prämedikation	29
3.2.4.1.3	Vorbereitung der Tiere	29
3.2.4.1.4	Vorbereitung für den chir. Eingriff	29
3.2.4.2	Operationsverfahren	30
3.2.4.2.1	Leberpräparation und Induktion einer Galleleckage	30
3.2.4.2.2	Pankreaspräparation und Induktion einer Pankreasfistel	30
3.2.4.2.3	Leberpräparation und Induktion von Blutungen	31
3.2.4.2.4	Leberpräparation und Induktion von Blutungen (Degradationsversuch)	31
3.2.4.3	Postoperative Versorgung der Tiere	31
3.2.4.4	Blutprobenentnahmen	32
3.2.4.4.1	Galleversuch	32
3.2.4.4.2	Pankreasversuch	33
3.2.4.4.3	Blutungsversuch	33
3.2.4.4.4	Degradationsversuch	33
3.2.4.5	Sekret -und Blutungsanalyse	34
3.2.4.5.1	Billirubinbestimmung	34
3.2.4.5.2	Lipase -und Amylasebestimmung	34
3.2.4.5.3	Blutungsevaluation	35
3.2.4.6	Tägliche Beobachtungen/Visiten	36
3.2.4.7	Terminalverfahren und Autopsie	36
3.2.4.8	Histopathologie	37
<b>3.2.5</b>	<b>Report</b>	<b>38</b>
3.2.5.1	Unerwünschte Ereignisse	38
3.2.5.1.1	System zur Klassifizierung der Verwandtschaft	
3.2.5.1.2	Schweregradklassifizierungssystem	
<b>4</b>	<b>STATISTIK UND BIASKONTROLLE</b>	<b>39</b>
	<b>4.1 Datenanalysen und statistische Methoden</b>	
	<b>4.2 Kontrolle des Bias- Effektes</b>	
<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>40</b>
	<b>5.1 Abweichungen vom Protokoll</b>	
5.1.1	Galleversuch	40
5.1.2	Pankreasversuch	41
5.1.3	Blutungsversuch	41
5.1.4	Degradationsversuch	43

<b>5.2</b>	<b>Verfahrensdaten</b>	<b>44</b>
5.2.1	Galleversuch	44
5.2.2	Pankreasversuch	46
5.2.3	Blutungsversuch	51
5.2.4	Degradationsversuch	56
<b>5.3</b>	<b>Klinische Observationen</b>	<b>58</b>
<b>5.4</b>	<b>Unerwünschte Ereignisse (UE)</b>	<b>59</b>
5.4.1	Galleversuch	59
5.4.2	Pankreasversuch	60
5.4.3	Blutungsversuch	62
5.4.4	Degradationsversuch	63
<b>5.5</b>	<b>Labor -und Drainagesekretparameter</b>	<b>64</b>
5.5.1	Postoperative Galleleckage	64
5.5.2	Postoperative Pankreasfistel (POPF)	65
5.5.3	Postoperative Blutprobenentnahmen (Blutung)	70
5.5.4	Postoperative Blutprobenentnahmen (Degradation)	74
<b>5.6</b>	<b>Nekropsie</b>	<b>76</b>
5.6.1	Galleversuch	76
5.6.2	Pankreasversuch	79
5.6.3	Blutungsversuch	82
5.6.4	Degradationsversuch	85
<b>5.7</b>	<b>Histopathologische Ergebnisse</b>	<b>89</b>
5.7.1	Galleversuch	89
5.7.2	Pankreasversuch	92
5.7.3	Blutungsversuch	96
5.7.4	Degradationsversuch	101
<b>6</b>	<b>DISKUSSION UND SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>107</b>
<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>120</b>
7.1	Abstract	122

<b>8</b>	<b>ANHÄNGE</b>	
	<b>8.1 Galleversuch</b>	
	8.1.1 APPENDIX A: Postoperative Galleleckage Tabelle	123
	8.1.2 APPENDIX B: Histologische Scoring Tabelle	125
	8.1.3 APPENDIX C: Übersicht der unerwünschten Ereignisse	128
	<b>8.2 Pankreasversuch</b>	
	8.2.1 APPENDIX D: OP -und Nekropsiedaten	130
	8.2.2 APPENDIX E: Unerwünschte Ereignisse	133
	8.2.3 APPENDIX F: Computertomographie (CT) Bilder	137
	<b>8.3 (Leber)Blutungsversuch</b>	
	8.3.1 APPENDIX G: OP -und Nekropsiedaten	138
	8.3.2 APPENDIX H: Unerwünschte Ereignisse	140
	8.3.3 APPENDIX I: Postoperative Blutprobengewinnungen	141
	<b>8.4 Degradationsversuch</b>	
	8.4.1 APPENDIX J: Übersicht der entnommenen Blutparameter	147
	8.4.2 APPENDIX K: Übersicht über die entnommenen Organe	148
	8.4.3 APPENDIX L: Histologisches Scoring	149
	8.4.4 APPENDIX M: Übersicht der unerwünschten Ereignisse	157
	8.4.5 APPENDIX N: Postoperative Blutwerte	159
<b>9</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>168</b>
<b>10</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>169</b>
<b>11</b>	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>173</b>
<b>12</b>	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>173</b>
<b>13</b>	<b>EIDESSTAATLICHE VERSICHERUNG</b>	<b>174</b>

## 1 FRAGESTELLUNG UND ANSPRUCH AM PBSP

Nach einer hepato-pankreato-biliären (HPB) Operation können oberflächenbezogene Komplikationen aus dem Leber-, Gallengangs- oder Pankreasparenchym auftreten. Schwerwiegende Komplikationen sind das Austreten von Galle (Galleleckagen)- und/oder Pankreassäften (postoperative Pankreasfisteln- POPF`s) in die Bauchhöhle, sowie schwere postoperative Blutungen, welche die Mortalität und Morbidität der Patienten steigern können. Darüber hinaus ist der postoperative Austritt dieser eben genannten aggressiven Flüssigkeiten ein entscheidender Faktor für die verlängerte Hospitalisierungsphase und hat einen erheblichen Einfluss auf die Genesungsdauer der Patienten (1-4). Je nach medizinischem Zentrum werden die Raten für Gallenleckage nach Leberteilresektion zwischen 2,6% und 15% angegeben. Der Gallenaustritt sowie die Folgekomplikationen wie Wundheilungsstörungen, Infektionen, Abszessbildungen, Anastomoseninsuffizienzen, Blutvergiftungen, Fistelbildungen usw. werden weiterhin eines der Hauptprobleme in der Leberchirurgie sein (5-10). Diese sehr schicksalhaften, unvermeidbar schwerwiegenden Komplikationen sieht man auch in der Pankreaschirurgie. Zwar wurde die Morbiditäts- und Mortalitätsrate im Zuge der Leber -und Pankreaschirurgie in den letzten Jahren durch eine bessere operative und intensivmedizinische Versorgung verbessert. Das Hauptproblem in der Pankreaschirurgie ist nach wie vor die Pankreasfistelbildung. Obwohl Fortschritte in der modernen Chirurgie gemacht wurden, ist die Inzidenz der Bildung von Pankreasfisteln nach erfolgreicher Operation immer noch hoch (11-14); 22-26% nach Pankreatikoduodenektomie und mehr als 30% nach distaler Pankreatektomie (15). Aufgrund des potenziellen Schweregrads dieser Komplikation hat die International Study Group on Pancreatic Fistula (ISGPF) den Schweregrad dieser Komplikation klinisch klassifiziert, um das Risiko weiterer Komplikationen mit der richtigen Behandlung reduzieren zu können (16-18). Auch diese Komplikationen sind vom Zustand und der Grunderkrankung des Patienten abhängig und für eine weitere operative Verbesserung (Nähtechnik, Clip-Setzung, Ligatur etc.) nur bedingt zugänglich. Daher ist die Verwendung eines Medizinprodukts, das in der Lage ist, die Parenchymwunde (Leber, Gallengänge, Pankreas) abzudecken und insbesondere die Wunde in der postoperativen Phase abzudichten, von entscheidender Bedeutung, um die Morbidität und Mortalität der Patienten zu reduzieren.

Der in einer retrospektiven Analyse beschriebene positive Effekt von Fibrinklebern auf die Inzidenz postoperativer Gallenverluste konnte in einer prospektiven randomisierten Studie nicht bestätigt werden (19–21). Die meisten Studien, die über eine Reduktion des Gallenverlusts berichteten, waren entweder von schlechter Qualität oder zu schwach.

Die weltweit am häufigsten verwendeten Hämostyptika Glubran 2 (GEM), Veriset (Medtronic), Surgicel (Ethicon) und TachoSil (Takeda) erfüllen viele Anforderungen an ein ideales Hämostyptikum nicht (22). Diese haben jedoch nur einen **sehr geringen bis keinen** Einfluss auf den postoperativen Gallenaustritt, POPF sowie Nachblutungen (23-25). Darüber hinaus haben die zuvor genannten Hämostyptika zum Teil gefährliche Nebenwirkungen, wie starke Hitzeentwicklung, anaphylaktische Reaktionen und thromboembolische Ereignisse.

Polyganics hat in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Hamburg- Eppendorf ein Versiegelungsprodukt entwickelt, um postoperativen Gallen -und Pankreassaftverlust, sowie Nachblutungen effektiv zu vermeiden. Dieser Patch enthält eine Schaumschicht mit einer reaktiven Polyethylenglykolschicht (weiß), die in bioresorbierbares Polyurethan eingearbeitet ist, mit einer darüber liegenden Sperrschicht (türkis) aus demselben Polyurethan. Die reaktive Polyethylenglykolschicht geht während der Anwendung eine Urethanbindung mit den Proteinen des Gewebes ein. Die Effektivität des Polyurethan based sealant Patches (PBSP) wurde in einer anderen Studie nachgewiesen und der nächste Schritt bestand darin, die Leistung und Kurzzeitsicherheit des Medizinproduktes zunächst in einem Gallenleckagemodell durch Vergleich mit einer Kontrolle zu bewerten. Nachdem wir im Rahmen unserer Arbeit erfolgreich aufzeigen konnten, dass der Patch Galleflüssigkeit in einem Tiermodell aufhalten kann, war der nächste Schritt, die Leistung und kurzfristige Sicherheit des Produktes in einem In-vivo-Pankreasfistelmodell zu bewerten durch Vergleich mit einer chirurgischen Kontrolle. Nachdem auch das erfolgreich nachgewiesen werden konnte galt es das Produkt mit den bislang herkömmlichen Hämostyptika in Hinblick auf intra- und postoperative Blutungen zu untersuchen. Dies wurde in einem heparinisierten Schweineleberblutungsmodell bewertet und ist im Rahmen dieser Arbeit beschrieben.

Das Blutungsmodell ist bereits in der Literatur bekannt (26), wurde jedoch für die Versuchsreihe im Rahmen der Blutungsstudie leicht modifiziert.

Die Leistung und Sicherheit des Produktes müssen in-vivo-Tiermodellen bewertet werden, bevor eine humane klinische Studie durchgeführt werden kann. Neben Leistungstests und Biokompatibilitätstests muss ebenfalls der Abbau des PBSP an einem klinisch relevanten Ort und in Kontakt mit anderen relevanten abbaubaren Materialien untersucht werden, um zu beurteilen, ob mit dem Abbau des Produktes, verbundene Risiken für den Menschen bestehen könnten. Unsere Degradationsstudie beschäftigt sich mit genau diesen Fragestellungen, bevor es an den Menschen geht.

## **2 EINLEITUNG**

### **2.1 Studienziele**

#### **„Galleversuch“:**

Das Ziel dieser Studie war es, die Leistung und die kurzfristige Sicherheit des PBSP (Polyurethan basiertes Sealent Patch) bis zu 7 Tagen in einem „Gallenleckagemodell“ durch Vergleich mit einer Kontrolle zu bewerten.

#### **„Pankreasversuch“:**

Das Ziel dieser Studie war es, ein in vivo Pankreasfistelmodell zu entwickeln und die Leistung des PBSP mit der chirurgischen Kontrollgruppe hinsichtlich der postoperativen Pankreasfistelbildung zu vergleichen. Ein In-vivo-Pankreasfistelmodell ist in der Literatur noch nicht beschrieben und wird im Rahmen dieser Studie erstmalig entwickelt. Da die Bauchspeicheldrüse ein sehr weiches Organ ist, ist ihre Handhabung bei In-vitro-Experimenten sehr kompliziert. Daher liefern In-vitro-Bewertungsmodelle zur Untersuchung der Leistung von Medizinprodukten in einem Pankreasleckagemodell keine wertvollen Daten.

#### **„Blutungsversuch“:**

Das Ziel dieser Studie war es die Leistung und die kurzfristige Sicherheit des PBSP bei der Verhinderung von Nachblutungen und die Blutungskontrolle nach iatrogenen Leberschäden bei leichten bis mittelschwere Blutungen zu bewerten.

### **„Degradationsversuch“:**

Das Hauptziel dieser Studie war es, das Abbauverhalten in Kombination mit den langfristigen lokalen Auswirkungen des PBSP auf einen oberflächlichen Defekt der Leber in einem Mini Pig Modell zu bestimmen.

Als sekundäres Ziel wurde die Wechselwirkung zwischen des PBSP und zusätzlichen Patches in der paravertebralen Muskulatur im selben Tier wie im primären Ziel beschrieben zu bewerten.

## **2.2 Studienendpunkte**

### **„Galleversuch“**

Die Studienziele dieser Studie werden bewertet von:

- Verfahrensdaten
- Bilirubinkonzentration in der Drainage
- Farbe und Volumen der Abflussflüssigkeiten
- Klinische Beobachtungen
- Autopsie
- Histologie

### **„Pankreasversuch“:**

Die Studienziele dieser Studie werden in erster Linie bewertet von:

- Verfahrensdaten
- Postoperative Pankreasfistel (Amylase -und Lipasekonzentration aus Serum und Drainagebeutel)
- Klinische Beobachtungen
- Autopsie
- Histologie

Sekundäre Endpunkte:

- Hämatologie
  - o Hb
  - o Hkt



- Serum
  - o LDH, Laktat
  - o Kreatinin
  - o CRP
  - o Leukozyten
  - o Elektrolyte
  - o Bilirubin (optional)

- Optional:
  - o Intra- und postoperativer Blutverlust
  - o AST / ALT-Verhältnis

**„Blutungsversuch“:**

Die Studienziele dieser Studie werden bewertet von:

- Verfahrensdaten
- Bilirubinkonzentration in der Drainage
- Farbe und Volumen der Abflussflüssigkeiten
- Klinische Beobachtungen
- Autopsie
- Histologie

**„Degradationsversuch“:**

Die Studienziele dieser Studie wurden bewertet von:

- Verfahrensdaten
- Klinische Beobachtungen
- Grobe Autopsie
- Histologie (Muskeltaschen und Leber)

Sekundäre Endpunkte:

- Intra- und postoperativer Blutverlust und (Galleleckage)
- Hämatologie
- Biochemie

### **2.3 gesetzliche Vorschriften**

Alle Studien wurden gemäß den FDA-Vorschriften gemäß des „good clinical practice“ (GLP) für nichtklinische Laborstudien CFR Titel 21 Part 58 und ISO 10993-6 durchgeführt. Alle Studiendaten wurden aufgezeichnet und Protokollabweichungen und Änderungen wurden dokumentiert.

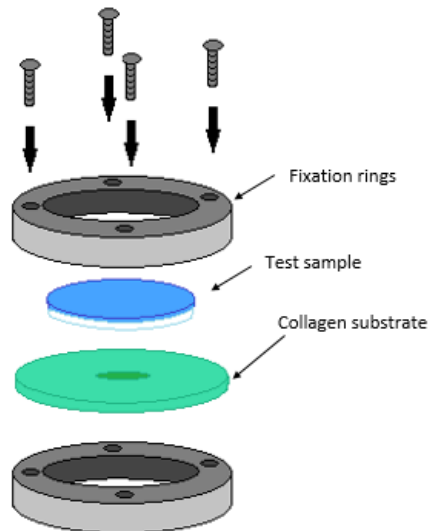
### **3 MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1 in vitro Versuche**

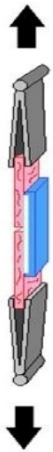
Um die Funktionalität des PBSP's zu testen, wurden mehrere in vitro Testmethoden entwickelt und durchgeführt. Im Rahmen der Produktentwicklung und der klinischen Chargenfreigabe wurden zahlreiche Druckkraftprüfungen und Zugkraftprüfungen auf den PBSP durchgeführt. Im Rahmen der Druckkraftprüfung wurde ein Prüfkörper mit einem Durchmesser von 30 mm auf ein mit Polylysin vorbehandeltes Kollagensubstrat mit einem 3 mm Loch gelegt, siehe Testaufbau unten. Der maximale Druck auf das Device wurde gemessen, indem der Wasserdruck unterhalb der Probe langsam erhöht wurde, der Zeitpunkt bei welchem Druck die jeweilige Probe perforiert/platzt wurde daraufhin notiert.

Der Druck wurde unmittelbar nach dem Auftragen, aber auch nach Konditionierung der Proben in Sörensen-Puffer für 7 Tage bei 37 °C gemessen, um die Langzeitfunktionalität des PBSP zu überprüfen. Bei der klinischen Designüberprüfung mussten die sofort getesteten Proben im Durchschnitt einen Druck von > 40 mbar mit einer 95-prozentigen Zuverlässigkeit aufweisen. Die nach 7 Tagen getesteten Proben müssen einen durchschnittlichen Druck von >30 mbar und eine Zuverlässigkeit von 95 % aufweisen.

Auch der Zugkraftversuch wurde durchgeführt, um die Funktionsfähigkeit des PBSP zu überprüfen. Bei diesem Test wurde ein relativ großes rechteckiges Stück Polylycin-vorbehandeltes Kollagen (5 x 2 cm) halbiert. Beide Hälften sind teilweise mit einem 2x 2cm großen Prüfmuster mittig über dem Schnitt bedeckt. Anschließend wurden die Hälften an beiden Enden im Zugprüfgerät eingespannt und die maximale Scherkraft gemessen, der die Probe standhalten kann, bevor die Adhäsion zwischen dem Kollagensubstrat und der Testprobe (dem PBSP) versagt. Um den Test zu bestehen, muss diese Kraft mit 95 % Vertrauen und 95 % Zuverlässigkeit höher als 1 N/2 cm<sup>2</sup> sein. Die klinische Relevanz dieses Tests wurde in der in Abschnitt 3.2 angegebenen in vivo Studien zur Leistung von Gallenflüssigkeit bei Tieren und der Leistungsstudie zu Pankreassaft bei Tieren validiert.



**Abbildung 1 Grafische Darstellung des Berstdruckaufbaus (burst pressure Test)**



**Abbildung 2 Grafische Darstellung des Zugversuchsaufbaus (tensile Test)**

Vergleichende Integritätsanalyse verschiedener Fibrin-/Thrombin-Dichtstoffe in vitro Humaner Pankreassaft wurde von Patienten über eine intraabdominale Drainage und POPFs nach partiellen Pankreatikoduodenektomien gewonnen und verwendet, um die In-vitro-Wirkung von Proteasen auf verschiedene Versiegelungspatches zu bewerten. Die Enzymaktivitäten von Pankreas-Amylasen zusammen mit Lipasen wurden vor In-vitro-Tests analysiert. Ein Protease-Inhibitor-Cocktail (PIC) wurde von Sigma-Aldrich® (Taufkirchen, Deutschland) bezogen. Der Abbau von Tachosil® (fibrin- und thrombinhaltiger hämostatischer Dichtstoff), Surgicel® (passiver zellulosehaltiger Hämostatikum), Veriset® und PBSP wurde durch Anbringen kleiner Stücke (~10 mm) jedes Dichtstoffes am Boden eines 24-Well-Mikrotiters bewertet Platte. Ein Blatt jedes

Dichtmittels wurde vorsichtig für 2 s in eine mit normaler Kochsalzlösung (0,9%) gefüllte Petrischale gelegt, um die Oberflächen von Tachosil® und Surgicel® zu befeuchten. Die 24-Well-Platte wurde dann auf den Kopf gestellt und das Dichtmittel an der Unterseite der Platte befestigt. Nach 10 min leichtem Druck unter Verwendung eines Objektträgers waren die Pflaster fest angebracht. Nach der Anheftung wurden entweder 100 µl Kochsalzlösung (0,9%) (Kontrolle), frisch isolierter humaner Pankreassaft oder eine Kombination aus Pankreassaft und PIC in jede Vertiefung gegeben und die Platten bei 37 °C inkubiert. Um 0 h und nach 24 h wurden die Dichtstoffstücke untersucht und nach kurzer Inkubation mit Bromphenolblau (BpB-) Farbstoff (0,03%; Sigma-Aldrich®, Deutschland) von oben und unten fotografiert, um die Integrität der jeweiligen Dichtmittel.

## **3.2 in vivo Versuche**

### **3.2.1 Tiermodelle**

#### **3.2.1.1 Auswahl der Spezies**

Das Ziel dieser Studien erfordert eine Bewertung unter Verwendung unterschiedlicher standardisierter in vivo-Modelle, da die voraussichtliche Anwendung des PBSP beim Menschen erfolgen wird. Das deutsche Landschwein wurde als Modell für diese Bewertung ausgewählt, da es aufgrund der anatomischen und physiologischen Ähnlichkeiten mit dem Menschen weit verbreitet ist. Die Durchblutung und insbesondere die Anatomie des Herzens einschließlich der herznahen Gefäße und großen Organe wie Leber, Pankreas und Nieren sind Menschen ähnlich und daher geeignet, ein für den Menschen relevantes Gallenleckagemodell, Pankreasfistelmodell sowie ein Leberblutungsmodell zu entwickeln und um die Leistung und die kurzfristige Sicherheit zu bewerten (27). Darüber hinaus zeigen die plasmatische Koagulation sowie die Zusammensetzung der Gallenflüssigkeit und der Pankreassekrete eine hohe Ähnlichkeit mit dem Menschen, die bei anderen kleineren Säugetieren wie Nagetieren nicht vorhanden ist (28). Rheologie, Strömungsgeschwindigkeiten und mögliche gerätebedingte Komplikationen können in Gefäßen mit kleinerem Durchmesser bei kleineren Tieren nicht effektiv untersucht werden. Landschweine mit einem

Körpergewicht von 40-60 kg haben ein Blutvolumen, das mit dem des Menschen vergleichbar ist. In diesen Studien wurden nur gesunde Tiere einbezogen.

Für die Degradationsstudie (Langezeitstudie > 15 Monate) wurde das Aachener Mini-Pig ausgewählt. Aufgrund der anatomischen und physiologischen Ähnlichkeiten mit Menschen ist es ein weit verbreitetes Modell, und die Schweine sind im Vergleich zu Landschweinen leichter zu handhaben, da sie nicht zu schnell an Größe und Gewicht zunehmen und daher in einem Langzeitexperiment leichter zu kontrollieren sind. Die Organanatomie der Minischweine unterscheidet sich nicht von der Anatomie der Landschweine.

Aachener Minischweine mit einem Körpergewicht von 35-45 kg wurden ausgewählt. In die Studie wurden nur gesunde Tiere einbezogen.

### 3.2.1.2 Behandlung der Tiere

#### 3.2.1.2.1 Identifizierung und Beschaffung der Tiere

Der Ursprung der Tiere ist eine kommerzielle Schweinefarm in der Nähe von Hamburg. Die Tiere im Rahmen des Degradationsversuches (Langzeitversuches) sind aus einer speziellen Zuchtfarm in Aachen. Bei der Ankunft wurden die Tiere vom Tierarzt auf klinische Anzeichen von Krankheiten oder Beschwerden untersucht und entsprechend behandelt. Sie wurden mit einer speziellen Tierkennzeichnungsfarbe gekennzeichnet, um jedes Tier eindeutig identifizieren zu können. Jedes Tier wurde in einem elektronischen Programm registriert und erhält eine eigene Behandlungsdatei. Die Tiere kamen mindestens zwei Wochen vor der Operation an, um sich stressfrei an die neue Umgebung gewöhnen zu können.

#### 3.2.1.2.2 Haltung der Tiere

Im Großtierbereich der Forschungstierhaltung wurden die Tiere ohne spezielle oder besondere hygienische Maßnahmen gehalten. Der Zugang der Tiere war auf das Personal der Labortieranlage beschränkt. Es gab ein Team von vier Tierpflegern und einen auf Großtiere spezialisierten Tierarzt, welche kontinuierlich im Rahmen der

Versuche die Experimente begleitet haben. Die Tiere wurden immer in Gruppen gehalten. Wenn ein Experiment ein einzelnes Gehäuse erforderte, wurden die Tierställe durch teilweise geschlossene Trennwände getrennt. Der obere Teil mit horizontalen Balken ermöglichte immer einen gewissen Grad an physischem Kontakt und immer Augenkontakt mit den anderen umgebenden Tieren. Die Tierställe wurden täglich gereinigt. Während der täglichen Reinigung durften die Tiere auf dem Flur herumlaufen und haben im Sommer Zugang zu einem Außenbereich gehabt. Sie hatten verschiedene Spielsachen, mit denen sie spielten und die sie beschäftigten. Die Bedingungen entsprachen den europäischen Anforderungen (Richtlinie EU / 2010/63) und dem deutschen Tierschutzgesetz. Die Forschungstierhaltung (FTH) befindet sich im Bereich der UKE (Martinistraße 52, Gebäude N 67, 20246 Hamburg).

#### 3.2.1.2.3 Futter und Wasser

Die Tiere hatten freien Überschuss an Wasser und Stroh. Die Fütterung war auf zwei Mahlzeiten am Tag beschränkt. Das Heu wurde aufgrund einer möglichen Verstopfung auf eine bestimmte Menge pro Tag beschränkt. Neben der möglichen Verstopfung sollten sich die Tiere nicht an das Heu als Nahrungsquelle gewöhnen, da die Aufenthaltsdauer der Tiere an der FTH nicht von vorneherein klar war und die Nahrungsquelle in externen Einrichtungen durch Heu meistens nicht gewährleistet werden konnte.

#### 3.2.1.2.4 Anästhesie und Analgesie

Die Tiere fasten bis zu 16 Stunden vor der Operation. Der Beginn der Anästhesie beginnt im bekannten Tierstall mit 15 mg /kg Ketamin und intramuskulär verabreichtem Xylazin 2 mg / kg. Sobald das Tier eingeschlafen ist, wird ein peripherer Venenverweilkatheter in die Ohrvene eingeführt. Die Tiere werden in den Operationssaalbereich transportiert, wo sie nach intravenöser Verabreichung von Propofol 5 mg/ kg orotracheal in Bauchlage intubiert werden. Sobald das Tier intubiert ist, wird es an ein Narkosegerät angeschlossen. Die Anästhesie läuft mit Sevofluran (2,5- 3% Expiration) und einem Sauerstoff (40%) Luftgemisch. Das Atemzugvolumen

betrug 10 ml / kg mit einer Häufigkeit von 12 Hüben pro Minute. Die Überwachung besteht aus EKG, NIBP (nicht invasiver Blutdruckmessung), CO<sub>2</sub> Messung und einem Pulsoximeter.

Um eine ausreichende Sauerstoffversorgung sicherzustellen, wurde die periphere Sauerstoffsättigung unter Verwendung eines an der Zunge oder dem Schwanz angebrachten Pulsoximeters gemessen. Durch die regelmäßige Überwachung der Blutgase und Elektrolyte konnte bei dezitärem Natriumbicarbonat, Calcium oder Kalium, diese substituiert werden.

Die Temperatur wurde über eine rektal eingesetzte Sonde gemessen und mittels einer Wärmematte während der OP bei 38 ° C konstant gehalten. Kristalloide (NaCl 0,9%) und erforderlichenfalls kolloidale Lösungen (HAES) wurden infundiert, um das Herz-Kreislauf-System zu stabilisieren und das Volumendefizit zu ersetzen, welches im Rahmen des chirurgisch gesetzten Traumas verloren ging. Das EKG wurde kontinuierlich mit einem 5-Kanal-Monitor aufgezeichnet.

Das analgetische Regime war Fentanyl 10 - 40 & ug/ kg, welches intraoperativ intravenös verabreicht wurde.

Metamizol 50 mg/ kg i.v., Carprofen 4 mg/ kg i.v. und Amoxicillin/ Clavulan 10 mg/ kg i.m., wurden präoperativ verabreicht.

Postoperativ erhalten die Tiere einmal täglich Carprofen 4 mg / kg oral. Wenn dies nicht ausreicht und die Tiere Anzeichen von Unbehagen zeigen, kann Metamizol bis zu viermal täglich sowie bei Bedarf Opiode verabreicht werden.

Die Antibiotikabehandlung besteht aus Amoxicillin / Clavulan 10 mg / kg oral zweimal täglich.

Am Ende des Versuchs wurden die Tiere in tiefer Anästhesie über einen venösen Zugang in der Ohrvene mit T61 (6 ml / 50 kg Körpergewicht) eingeschläfert.

Die Platzierung eines Zentralvenenkatheter (ZVK) in der Vena jugularis interna wurde unter Ultraschallkontrolle durchgeführt.

Abhängig vom Zustand des Tieres konnte der ZVK nach der analgetischen Therapie postoperativ unter einer flachen Betäubung gezogen werden. Eine analgetische Therapie über den ZVK war für abhängig von der Klinik des Tieres für 5-14 Tage geplant. Der ZVK wurde dann gezogen und die Tiere wurden einer oralen analgetischen Behandlung unterzogen, da das Infektionsrisiko durch den Zentralvenenkatheter aufgrund des Langzeitexperiments steigt und daher entfernt werden musste.

#### 3.2.1.2.5 Ethisches Komitee

Alle Studien wurden von der Tierethikkommission des UKE genehmigt. Alle wesentlichen Änderungen der Protokolle wurden vor oder während der Studie vom Ausschuss genehmigt.

### **3.2.2 Test -und Kontrollprodukte**

#### 3.2.2.1 Testprodukt

Der Testartikel für diese Studien war ein von Polyganics entwickeltes PBSP (Device) (Ref.: DP2.5PU3PG25ST15; 10x5 cm großer PBS Patch.)

##### 3.2.2.1.1 Gebrauchsanweisung des PBSP® (POLYGANICS)

Der Testartikel wurde zum Zweck der korrekten Platzierung für den im Rahmen der Studien gesetzten Leberdefekte zugeschnitten. Im Rahmen der Pankreasversuchsreihe wurden 2 Testartikel in einer bestimmten Faltechnik um den Pankreasstumpf gelegt. Die Testgegenstände wurden mindestens 15 Minuten vor dem Auftragen aus dem Gefrierschrank genommen. Nach dem Öffnen der Primärverpackung wurde das Produkt innerhalb von 5 Minuten aufgetragen. Das Zielgewebe war kurz vor der Anwendung so trocken wie möglich. Die Schaumseite (weiß) wurde durch manuellen Druck mindestens 1 Minute lang auf den Defekt aufgebracht. Der PBSP überlappte den Rand des Defektes mindestens um 1 cm.



### 3.2.2.2 Kontrollartikel

#### 3.2.2.2.1 Gebrauchsanweisung für Tachosil® (TAKEDA)

Der Kontrollartikel wurde zum Zweck der Platzierung auf den iatrogenen Leberdefekten auf 3 x 3 cm zugeschnitten. Entfernen Sie das TachoSil-Pflaster aus dem Blister, das bei Bedarf als Behälter zum Vorbefeuchten des Pflasters verwendet werden kann. Reinigen Sie vor der Anwendung den zu behandelnden Bereich, um Desinfektionsmittel und andere Flüssigkeiten zu entfernen. Die Fibrinogen- und Thrombinproteine können durch Alkohol-, Jod- oder Schwermetall- Ionen denaturiert werden. Wenn eine dieser Substanzen zur Reinigung des Wundbereichs verwendet wurde, spülen Sie den Bereich vor der Anwendung von TachoSil gründlich aus. Tragen Sie TachoSil direkt trocken auf den Blutungsbereich auf. Bei nasser Anwendung TachoSil nicht länger als eine Minute in 0,9% iger Kochsalzlösung vorfeuchten und dann sofort auftragen. Im Fall einer feuchten Gewebeoberfläche (z. B. durchnässende Blutung) kann TachoSil ohne Vorbefeuchtung angewendet werden. Reinigen Sie chirurgische Instrumente, Handschuhe und angrenzende Gewebe mit Kochsalzlösung, um die Haftung am TachoSil-Pflaster zu verringern. Die weiße, inaktive Seite von TachoSil kann aufgrund der Affinität von Kollagen zu Blut auch an chirurgischen Instrumenten (z. B. Pinzetten), Handschuhen oder angrenzenden mit Blut bedeckten Geweben haften. Tragen Sie die gelbe, aktive Seite des Pflasters auf den Blutungsbereich auf und halten Sie sie mit leichtem Druck, der durch angefeuchtete Handschuhe oder ein feuchtes Pad ausgeübt wird, mindestens 3 Minuten lang an Ort und Stelle. Um zu vermeiden, dass sich das Pflaster löst, platzieren Sie zuerst ein sauberes chirurgisches Instrument an einem Ende des Pflasters, bevor Sie den Druck entlasten. Eine schonende Spülung kann auch dazu beitragen, das angefeuchtete Pad oder die behandschuhte Hand zu entfernen, ohne TachoSil aus dem Blutungsbereich zu entfernen. Weitere Informationen finden Sie in der Gebrauchsanweisung des Geräts.

#### 3.2.2.2.2 Gebrauchsanweisung für Veriset® (MEDTRONIC)

Der Kontrollartikel wird zum Zwecke der Platzierung auf dem Leberdefekt auf 3 x 3 cm geschnitten. Nach dem Öffnen der Primärverpackung sollte das Produkt innerhalb von 60 Minuten aufgetragen werden. Das Zielgewebe sollte unmittelbar vor der Anwendung so trocken wie möglich sein. Die dunklere Seite sollte mindestens 30 Sekunden lang durch manuellen Druck auf den Defekt aufgebracht werden. Veriset sollte den Rand des Schadens mit 1 ~ 2 cm überlappen. Weitere Informationen finden Sie in der Gebrauchsanweisung des Geräts.

### **3.2.3 Studiendesigns**

#### **3.2.3.1 „Galleversuch“ mit den Kontrollgruppen**

Die „Galle“ Studie umfasste 21 Landschweine. Am Tag der Operation wurden die Tiere sediert und anästhesiert, für die Operation vorbereitet und in einen geeigneten Behandlungsraum gebracht. Chirurgische Verfahren wurden unter aseptischen Bedingungen durchgeführt.

Der chirurgische Eingriff erfolgte durch inverse L-förmige Laparotomie, Gallengangsgerichtete atypische Resektion der linken Leber mit Elektrokauterisation oder durch konventionelle chirurgische Methoden (Ligaturen, Clips). Die Galleleckage wurde durch das Durchtrennen des Gallengangsastes des linken Leberlappens (1cm) induziert. Das Austreten von Galle wird durch eine weiße Kompresse überprüft und nachgewiesen.

Nach dem Anlegen des PBSP oder der chirurgischen Versorgung des Defekts werden 2 Drainagen neben dem ehemaligen Defekt gelegt, um einen Galleaustritt postoperativ erkennen zu können. Danach wurde das Abdomen verschlossen und ein Drainage-Sammelbeutel am Tier befestigt.

Die Tiere sollten im besten Fall 7 Tage überleben. Tierbeobachtungen wurden während der Dauer der Studie mindestens einmal täglich durchgeführt. Eine schmerzstillende und antibiotische Therapie wurde nach Bedarf von einem Tierarzt

der Testeinrichtung verabreicht. Nach Abschluss der Studie wurden die Tiere auf humane Weise eingeschläfert und einer Autopsie unterzogen.

Gruppe I: Testartikel PBSP (7 Tiere)

Artikelgruppe mit dem Siegelgerät testen. Testartikel wurden gemäß der Anleitung wie in Abschnitt 3.2.2.1 beschrieben appliziert.

Gruppe II: Kontrollartikel (7 Tiere)

Erste Kontrollgruppe mit Veriset (Medtronic) als etabliertem Hämostyptikum zur Versiegelung von Parenchymdefekten. Kontrollartikel wurden gemäß der Gebrauchsanweisung wie in Abschnitt 3.2.2.2 beschrieben appliziert.

Gruppe III: Chirurgische Kontrolle (7 Tiere)

Die zweite Kontrollgruppe war mit chirurgischer Kontrolle des Defekts mit einer Naht (Prolene 4-0) und Kauterisation.

### 3.2.3.2 „Pankreasversuch“ und Kontrollgruppen

Negativkontrolle

Für die Entwicklung des Modells wurde eine Negativkontrolle verwendet. Bei der Negativkontrolle wurde nach dem Defekt in der Bauchspeicheldrüse keine zusätzliche Behandlung durchgeführt, um beurteilen zu können, dass sich im Laufe der Zeit eine reproduzierbare Pankreasfistel entwickelt, um den Effekt einer Therapie daran bemessen zu können.

Chirurgische Kontrollgruppe

Da es auf dem Markt für Medizinprodukte bislang keine Versiegelungspatches mit der Indikation Pankreassekretaustritt verhindern gibt, erfolgte die Etablierung einer chirurgischen Kontrolle in einem zusätzlichen Arm. Der Defekt wurde hierbei mit chirurgischen Standardnahttechniken verschlossen.

Studiendesign

Diese Studie umfasste 24 Tiere (alle Weibchen, 45-55 kg), deutsche Landschweine. Am Tag der Implantationsverfahren wurden die Tiere sediert und anästhesiert, für die Operation vorbereitet und in einen geeigneten Behandlungsraum gebracht. Chirurgische Verfahren wurden unter aseptischen (sterilen) Bedingungen durchgeführt.

#### In vivo „Pankreasfistelmodell“

Zur Etablierung eines standardisierten Pankreasfistelmodells und als Negativkontrolle waren 7 Negativkontroll- und 3 Reservetiere vorgesehen. Basierend auf der Bewertung der Reproduzierbarkeit des Verfahrens wurde entschieden, welches operative Verfahren zur Etablierung des Modells für die Vergleichsstudie ausgewählt wird. Mögliche Verfahren waren die Ultraschallgesteuerte Durchtrennung des Pankreasgangs oder die Pankreaslinksresektion (Pankreasschwanzresektion).

#### Vergleichsstudie

In der eigentlichen Vergleichsphase wurde das PBSP® mit der chirurgischen Kontrolle mit 7 Tieren pro Gruppe verglichen. 3 Tiere waren in Reserve, falls Tiere krankheitsbedingt eingeschläfert werden mussten oder aufgrund unvorhergesehener Komplikationen während oder nach der Operation starben.

Der anfängliche Vorschlag für ein chirurgisches Verfahren: Die Operation wird durch eine obere mediane Laparotomie durchgeführt, wobei der Ductus Wirsingianus mittels Ultraschalles gezielt in Längsrichtung (1-2 cm) mit einem Stichskalpell durchtrennt wird. Die Pankreasleckage wurde mit einer weißen Kompresse (oder einer Nadel) überprüft und die Flüssigkeit (braun- milchige Flüssigkeit) wurde während der Operation separat in einer Spritze gesammelt (um sie im Labor nach der Operation zu überprüfen). Nach der Operation wurde die Fistelbildung durch Analyse des Sekrets auf Amylase- und Lipasespiegel und den klinischen Zustand der Tiere bewertet. Falls der chirurgische Eingriff nicht erfolgreich war, kann das Protokoll nach Bedarf angepasst werden.

Das PBSP® oder die chirurgische Kontrolle wurde gemäß Abschnitt 3.2.2.1.1 zusammen mit dem Einlegen von 2 Drainagen auf die resezierte Oberfläche zum Nachweis einer Pankreasfistel angelegt. Danach wurde das Abdomen verschlossen und ein Drainage-Sammelbeutel an der transkutanen Austrittsstelle der Ablaufdrainagen am Tier befestigt.

Je nach Studienarm überlebten die Tiere 7 Tage (Modellentwicklungsphase) oder 14 Tage (Vergleichsphase). Tierbeobachtungen fanden während der Dauer der Studie mindestens einmal täglich statt. Eine schmerzstillende und antibiotische Therapie wurde verabreicht, wenn dies von einem Tierarzt der Testeinrichtung als notwendig erachtet wurde.

Nach Abschluss der Studie wurden die Tiere auf humane Weise eingeschläfert und einer Autopsie unterzogen. Die Tiere in der Vergleichsphase erhielten in der Rechtsmedizin ein postmortales CT zur Verifizierung von Flüssigkeitskollektionen am Resektionsrand (Abschnitt APPENDIX F).

### 3.2.3.3 „Blutungsversuch“ und Kontrollgruppen

An dieser Studie nahmen 15 männliche Tiere, deutsche Landschweine, teil. Am Tag der Implantationsverfahren wurden die Tiere sediert und anästhesiert, für die Operation vorbereitet und in einen geeigneten Behandlungsraum gebracht. Chirurgische Verfahren wurden unter aseptischen (sterilen) Bedingungen durchgeführt.

Eine modifizierte Version des etablierten Blutungsmodells von Lewis (Lewis, 2014 und Lewis, 2016, 26,43) wurde hierbei verwendet, um den Defekt zu erzeugen und die Blutung zu definieren, siehe auch Abschnitt 3.2.4.2.4.

Der chirurgische Eingriff erfolgte durch eine obere mediane Laparotomie, Inspektion des Abdomens und anschließende Mobilisierung der Leber. Es wurden 10 Parenchymschäden von 0,8 cm Durchmesser mit einer Biopsiestanze und einem chirurgischen Messer (50 Parenchymdefekte pro Gruppe) gesetzt und mit dem PBSP® oder einer der beiden Kontrollprodukte (eine Gruppe pro Tier) behandelt.

Die Tiere überlebten bis zu 72 Stunden. Eine schmerzstillende und antibiotische Therapie wurde verabreicht, wenn dies von einem Tierarzt der Testeinrichtung als notwendig erachtet wurde. Die Tiere wurden während der Dauer der Studie auf das 1,5- bis 2-fache ihrer aktivierten Gerinnungszeit zu Studienbeginn heparinisiert. Nach Abschluss der Studie wurden die Tiere auf humane Weise eingeschläfert und einer Autopsie unterzogen.

#### Gruppe I: Testartikel- PBSP® (5 Tiere)

Der Testartikel wurde gemäß der Anleitung wie in Abschnitt 3.2.2.1.1 beschrieben auf 10 Parenchymdefekte (1 Tier), insgesamt 50 Parenchymdefekte (5 Tiere), aufgebracht.

#### Gruppe II: Kontrollprodukt- Veriset® (5 Tiere)

Erste Kontrollgruppe mit Veriset als etabliertes Hämostyptikum zur Induktion einer Hämostase und durch die Hämostase die erwünschte Versiegelung von den Parenchymdefekten, welche im Rahmen der Eingriffe gesetzt wurden. Der Kontrollartikel wurde gemäß Gebrauchsanweisung wie in Abschnitt 3.2.2.2.2 beschrieben auf 10 Mängel (1 Tier), insgesamt 50 Mängel (5 Tiere), aufgebracht.

#### Gruppe III: Kontrollprodukt- Tachosil® (5 Tiere)

Die zweite Kontrollgruppe erhielt Tachosil als etabliertes Hämostyptikum zur Hämostase an den Parenchymdefekten. Der Kontrollartikel wurde gemäß Gebrauchsanweisung wie in Abschnitt 3.2.2.2.1 beschrieben auf 10 Mängel (1 Tier), insgesamt 50 Mängel (5 Tiere), aufgebracht.

#### 3.2.3.4 „Degradationsversuch“ und Kontrollgruppen

### **Testartikel**

Der Testartikel für diese Studie war der PBSP, entwickelt von Polyganics (Ref.: DP2.5PU3PG25ST15, ersetzt durch SD01-015/10 für ein 10x5 cm Patch, jedoch mit identischem Verfahren hergestellt und hat die vergleichbare Rezeptur).

### **Bedienungsanleitung für die Handhabung des Testartikel- PBSP®**

Der Testartikel wurde vor dem Aufbringen auf den Leberdefekt auf die entsprechende Größe zugeschnitten. Der Testartikel wurde mindestens 15 Minuten vor dem Auftragen aus dem gekühlten Lager genommen. Nach dem Öffnen der Primärverpackung wurde das Produkt innerhalb von 5 Minuten auf den Defekt aufgetragen. Das Zielgewebe musste kurz vor dem Auftragen des Testartikel so trocken wie möglich sein. Die Schaumseite wurde durch Handdruck für mindestens 1 Minute auf den Defekt aufgebracht. Der PBSP® musste den Schadensrand mindestens um einen cm überlappen.

### **Kontrollartikel**

Diese Studie umfasste keine Kontrollgruppen, da diese Studie die lokalen Auswirkungen des PBSP® in einem klinisch relevanteren Modell untersuchen sollte, verglichen mit dem Standardimplantationsmodell (Kaninchen), das für lokale Gewebefeffekte nach der Implantation gemäß ISO 10993-6 verwendet wird. Die in dieser Studie generierten Ergebnisse wurden mit den Ergebnissen der von einem CRO (Namsa) durchgeführten lokalen Gewebewirkungsstudie im Gesamtbericht zur Bewertung der biologischen Sicherheit gemäß dem Bewertungsplan für die biologische Sicherheit (BE-2) in Beziehung gesetzt. In der vom CRO durchgeführten Studie wurde der Testartikel mit negativen (High Density Polypropylene, HDPP) und positiven (Tachosil®) Kontrollen verglichen, um lokale Gewebefeffekte nach Implantation in ein intramuskuläres Kaninchenmodell gemäß ISO 10993-6 zu bewerten.

Für das sekundäre Ziel der Kontrolle wurden Medizinartikel ausgewählt, die in Kombination mit dem PBSP® klinisch verwendet werden könnten, siehe Begründung zur Materialauswahl DMM-83. Als Kontrollartikel und in Kombination mit dem PBSP® wurden drei verschiedene abbaubare Nahttypen verwendet:

- Vicryl (Ethicon) Polygalactin, bioresorbierbar
- Monocryl (Ethicon) Polyglecapron, bioresorbierbar
- Biosyn (Medtronic) Glycomer 631, bioresorbierbar

## Studiendesign

Study Design						
Animal	Timepoint	2 Weeks	3 Months	6 Months	12 Months	15 Months
Aachener Mini pigs (n=15)	Number of animals/defects	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15

(Tabelle 1 Studiendesign)

An dieser Studie nahmen 15 Tiere („Aachener Minipigs“) teil. Am Tag der Implantation wurden die Tiere sediert und anästhesiert, für die Operation vorbereitet und in einen geeigneten Behandlungsraum gebracht. Chirurgische Verfahren wurden unter aseptischen Bedingungen durchgeführt.

Die Zeitpunkte basierten auf den in vitro-Abbaudaten des PBSP® (DRR-33). Die Daten zeigen eine Reduktion von mindestens 80 % (Masse des Polymers) innerhalb von 14 Monaten. Es wird angenommen, dass der Abbau in vivo aufgrund zusätzlicher Enzyme, die an der Wundheilung beteiligt sind, schneller ist als in vitro ablaufen wird. Um den gesamten Abbauzeitraum abzudecken, wird eine Nachbeobachtung von 15 Monaten als ausreichend erachtet und wurde daher berücksichtigt.

## Implantation auf den Leberdefekten

Der chirurgische Eingriff wurde durch eine kleine obere mediane Laparotomie durchgeführt und der linke Leberlappen wurde im Rahmen des Eingriffes mobilisiert und an die Bauchdecke hervor luxiert. Parenchymdefekte wurden an der Oberfläche der Leber durch eine 8-mm-Biopsie-Stanze vorgenommen. 2,5 cm x 2,5 cm Patches wurden gemäß den Anweisungen in Abschnitt 3.2.2.1.1 aufgebracht. Insgesamt wurden 5 Defekte gesetzt und jeweils mit einem PBSP abgedeckt. Die Positionen der



Testartikel wurden mit einer Naht markiert. Nach Applikation der Testartikel wurde der Bauch verschlossen und der zweite Teil der Operation begonnen.

### **Nahtmaterialinteraktion bei den intramuskulär implantierten Testartikel**

Der zweite Teil des chirurgischen Eingriffes wurde durch einen vertikalen Schnitt (paravertebral) von ca. 1,5 cm durchgeführt. Die Inzision wurde mittels Proktoskop dilatiert und bis zur autochtonen Rückenmuskulatur vorgeschoben. Durch weiteren Vorschub des Proktoskopes brachte man die Fasern der Muskulatur zum auseinanderweichen, sodass jetzt über das Proktoskop eine Muskeltasche gebildet wurde, über die man nun die unten aufgeführten Materialien einbringen konnte. Die einzelnen Muskeltaschen wurden in der Tiefe mit einer Distanz von ca. 2 cm zum eingebrachten Material Clip markiert. Die kutanen Inzisionen hatten jeweils einen Abstand von 2,5 cm zueinander. Durch die Distanzen zu den jeweiligen wollten wir von vorneherein eine mögliche Wechselwirkung von den eingebrachten Materialien vermeiden. Die Taschen wurden rechts und links der Wirbelsäule positioniert, 8 Muskeltaschen pro Seite, insgesamt 16 Taschen (siehe unten). Der PBSP wurde auf eine Größe von 10 x 15 x 3 mm zugeschnitten und mit oder ohne resorbierbarem Nahtmaterial eingeführt und die Tasche wurde anschließend auf Hautniveau verschlossen.

Die Einstellung der Muskeltaschenpositionen ist in der folgenden Tabelle 2 angegeben.

An jeder Position wurden mit einer Tätowiermaschine die Muskeltaschen eingefärbt und markiert, um die jeweiligen Taschen bei der Nekropsie wieder finden zu können.

<b>Inhalt der Muskeltaschen</b>			
PBSP	Position 1	Position 9	PBSP
PBSP	Position 2	Position 10	PBSP
Nahttyp 1	Position 3	Position 11	PBSP + Nahttyp 2
Nahttyp 2	Position 4	Position 12	PBSP + Nahttyp 2

Nahttyp 3	Position 5	Position 13	PBSP + Nahttyp 2
PBSP + Nahttyp 1	Position 6	Position 14	PBSP + Nahttyp 3
PBSP + Nahttyp 1	Position 7	Position 15	PBSP + Nahttyp 3
PBSP + Nahttyp 1	Position 8	Position 16	PBSP + Nahttyp 3

**(Tabelle 2 Inhalte der Muskeltaschen)**

PBSP = Polyganics Sealing Testartikelgröße: 10x 15x 3 mm

Nahttyp 1 = Vicryl

Nahttyp 2 = Monocryl

Nahttyp 3 = Biosyn

Der PBSP wurde gemäß Abschnitt 3.2.2.1.1 angebracht.

Die Tiere überlebten je nach Zeitpunkt 2, 13, 26, 52 oder 64 Wochen. Tierbeobachtungen fanden während der Dauer der Studie mindestens einmal täglich statt. Eine schmerzstillende und antibiotische Therapie wurde verabreicht, wenn dies von einem Tierarzt der Testeinrichtung als notwendig erachtet wurde. Nach Abschluss der Studie wurden die Tiere auf humane Weise eingeschläfert und einer Nekropsie unterzogen.

### **3.2.4 Studienverfahren**

#### **3.2.4.1 Allgemeine Verfahren**

##### **3.2.4.1.1 Vorbereitungen im OP-Saal**

- OP-Tisch Vorbereitung, Wärmematte, Fixiergurte, Diathermie-Elektrode, Infusionswärme
- Beatmungsgerät überprüfen und vorab einstellen, Röhrchentest, 20-ml-Spritze, Fixierung, Mayo- Schere, Skalpell, Präparationsintubation
- Vorbereitung von Prämedikations- und Anästhesie-Perfusionsspritzen, Defibrillator-Check und Vorbereitung von Reanimationsmedikamenten

#### 3.2.4.1.2 Vorbereitung der Prämedikation

- Rosa (18G) Ohrvenenkatheter
- Kompressen
- 2 gelbe Nadeln (30G)
- Dreiwegeventil
- Flasche mit 20 ml 0,9% NaCl Lösung
- Pflaster
- Injektion gemäß Abschnitt 3.2.4.1.2

#### 3.2.4.1.3 Vorbereitung der Tiere

- Anlegen eines peripheren venösen Zugangs in die Ohrvene
- Anschluss einer 1 L 0,9% NaCl-Infusion
- Ausgangsgewicht des Tieres notieren
- Rasieren des Operationsbereiches (Bauch)
- Diathermie-Elektrodenfixierung am Schinken, optional einen zweiten venösen Zugang anlegen
- Injektion gemäß Abschnitt 3.2.4.1.3
- Druckkontrollierte Beatmung FiO<sub>2</sub> von 40%; Atemfrequenz von 10-12 Hüben/min, PEEP 7, PPlateau 15 mmHg

#### 3.2.4.1.4 Vorbereitung für den chirurgischen Eingriff

Intubation (orotracheal) in Bauchlage oder Tracheotomie bei frustraner Intubation in Rückenlage, obere mediane Laparotomie (bevorzugter Zugang bei männlichen Tieren, um Verletzungen der Harnröhre zu vermeiden, bei den weiblichen Tieren eher zu vernachlässigen).

### 3.2.4.2 Operationsverfahren

#### 3.2.4.2.1 Leberpräparation und Induktion einer Galleleckage

- Präparation des Ductus hepaticus communis (DHC) mit seinen Segmentästen im Leberhilus
- Segmentast für den linken Lappen wurde mit einer Gefäßschlinge oder einer Naht markiert (Erkennung des Gallenganges durch Durchtrennung und Auflegen einer weißen Kompresse, welche sich dann gelb verfärbt bei erfolgreicher Identifikation)
- Durchtrennung des linken Gallengangsastes (Segment II) (1x1 cm)
- Präventive Kontrolle durch mono- / bipolare Pinzetten und Prolene 5.0 Nähte, wenn das Parenchym während der Präparation beschädigt wurde
- Erkennung von Gallenverlust mit weißer Kompresse
- PBSP, Veriset auf den Defekt aufbringen oder den Defekt chirurgisch kontrollieren gemäß Abschnitt 3.2.3.1 (die Versorgung der Galleleckage ist abhängig vom Randomisierungsplan)
- 2 Easyflow Drainagen werden in der Nähe der Operationsstelle platziert

#### 3.2.4.2.2 Pankreaspräparation und Induktion einer Pankreasfistel

- Präparation und Identifizierung des Ductus Wirsungianus
- Linksseitige Pankreasschwanzresektion
- Präventive Blutungskontrolle durch mono- / bipolare Pinzetten und Prolene 3.0 RB1-Nähte, wenn das Parenchym während der Präparation beschädigt wird
- Pankreasleckage wird durch Austritt von Pankreassekret visuell getestet
- Nun wird auf den Pankreasstumpf der PBSP aufgebracht oder der Defekt durch chirurgische Techniken versorgt gemäß Abschnitt 3.2.3.2
- Der PBSP (Testartikel) kann entweder manuell oder mit laparoskopischen Instrumenten aufgetragen werden
- 2 Drainagen werden in der Nähe der iatrogenen Pankreasfistel platziert

#### 3.2.4.2.3 Leberpräparation und Induktion von Blutungen (Blutungsversuch)

- Mobilisierung und Präparation der Leber
- Eine 8-mm-Biopsie-Stanze und eine Pinzette werden verwendet, um die Leber zu Dekapsulieren und gezielte Defekte zu Setzen
- Blutungen können durch Kauterisation mit dem Strom kontrolliert werden, um eine leichte bis mittelschwere Blutung zu erzeugen
- Die Erkennung und Messung der Leberblutung und des Gallenaustritts erfolgt durch eine oder mehrere weiße Kompressen, die 30 Sekunden lang auf die Blutung gesetzt wird/werden
- Der Testartikel gemäß Abschnitt 3.2.2.1.1 auf den Defekt aufgebracht und der Testartikel wird mit einer Naht markiert
- Einlage von 2 Easy Flow Drainagen am OP Areal
- Bauchdeckenverschluss

#### 3.2.4.2.4 Leberpräparation und Induktion von Blutungen (Degradationsversuch)

- Mobilisierung und Präparation der Leber
- Verwendung einer 0,8-cm-Biopsie-Stanze und eines chirurgischen Messers zur Einstellung standardisierter Leberschäden (10 Schäden pro Leber)
- Erkennung und Messung der Leberblutung mit weißer Kompresse
- Testartikel oder Kontrollartikel gemäß Abschnitt 3.2.2 auf den Defekt aufbringen
- Bauchdeckenverschluss
- Vorbereitung der Muskeltaschen und Einbringen des Testgegenstandes mit oder ohne Naht gemäß Abschnitt 3.2.3.4

#### 3.2.4.3 Postoperative Versorgung der Tiere

Nachdem sichergestellt wurde, dass sich die Tiere zufriedenstellend eigenständig Luft holen können, wurden die Tiere aus dem Operationssaal in einen geeigneten Aufwachbereich überführt. Veterinärmedizinisches Personal beobachtete die Tiere in der unmittelbaren postoperativen Phase, bis sich die Tiere von der Narkose erholt haben und stabil sind. Nach der abgeschlossenen Aufwachphase wurden die Tiere in

die allgemeine Unterbringung zurückgebracht und für die Dauer der Überlebensperiode weiterhin täglich beobachtet und bewertet. Eine zusätzliche antibiotische und analgetische Therapie wurde nach Bedarf und Ermessen eines Tierarztes der Testeinrichtung verabreicht. Einige Tiere haben je nach Bedarf Kegelhalsbänder bekommen, um eine Autotomie zu verhindern. Die postoperative Versorgung, einschließlich der verabreichten Medikamente, wurde auf den entsprechenden Tierkarten (Patientenakten) dokumentiert.

Die Tiere erhielten 5 Tage lang zweimal täglich eine Dosis Buprenorphin (0,1 mg/kg) sowie einmal täglich Carprofen 4 mg/kg und 3-mal täglich Novalgin 50 mg/kg über den Zentralvenenkatheter (ZVK). Der ZVK wurde täglich vor der Verabreichung der Medikamente mit NaCl 0,9% gespült. Der ZVK wurde auf Durchgang geprüft. Wenn kein ZVK mehr vorhanden war (akzidenteller Zug durch die Tiere selbst oder bei nicht Funktionstüchtigkeit), wurde die Analgesie auf eine orale oder intramuskuläre Gabe umgestellt. Bei den Langzeitüberlebensversuchen im Rahmen der Degradationsstudie wurde der ZVK nach 5 Tagen entfernt, um das Infektionsrisiko bei längerer Exposition zu vermeiden.

### **3.2.4.4 Blutprobenentnahmen**

#### 3.2.4.4.1 Galleversuch

Es wurden Blutproben entnommen, um einen Bilirubin-Ausgangswert bei den Tieren bestimmen zu können.

- Präoperative Blutentnahme (BGA ausreichend)
- Tag 3
- Tag 7 vor Beendigung

#### 3.2.4.4.2 Pankreasversuch

- Präoperative Blutprobenentnahme zur Ermittlung der Amylase-,

Lipase-, Bilirubin-, Hb-, Hkt-, LDH-, Laktat-, CRP-, Leukozyten-Baseline

- Postoperativ
- Tag 3
- Tag 7 (vor Beendigung, gilt für die Modellentwicklungsphase)
- Tag 10 (gilt nur für die Vergleichsstudie)
- Tag 14 (vor Beendigung der Vergleichsstudie)

#### 3.2.4.4.3 Blutungsversuch

Blut wurde zu folgenden Zeitpunkten entnommen:

- Präoperative Blutentnahme
- Nach der Operation
- Tag 1
- Tag 2
- Tag 3 (Ende des Experiments)

Folgendes wurde gemessen

- Hämatologie
  - o Hämoglobin, MCH, MCHC, MCV
  - o Hämatokrit
  - o EBV-Pegelkontrolle
  - o ACT PT, PTT, aPTT
  - o Faktor V
- Biochemie
  - o Kreatinin
  - o Leberenzyme und Cholestaseparameter (AST, ALT,  $\gamma$ GT, AP, Bilirubin)

#### 3.2.4.4.4 Degradationsversuch

- Blutentnahme
  - o Präoperative Blutentnahme
  - o Prä-Autopsie
- Klinisch-pathologische Parameter wurden gemäß Abschnitt APPENDIX J überprüft

### **3.2.4.5 Sekret -und Blutungsanalyse**

#### 3.2.4.5.1 Bilirubinbestimmung

Die von den Drainagen gesammelten Flüssigkeitsmengen wurden täglich auf Volumen und Farbe analysiert. Farbe und Volumen (Fördermenge) der Flüssigkeit wurden beobachtet, um festzustellen, ob sich eine Gallenleckage in der Beobachtungszeit verifizieren lässt. Nach dem dritten und siebten Tag nach der Operation wurden die Drainageflüssigkeiten aus den Drainagebeuteln entnommen. Zudem wurden von den gesammelten Flüssigkeiten Fotos gemacht.

Proben aus den Drainagen wurden in ein Serumröhrchen überführt und die Billirubinkonzentrationen analysiert.

Messzeitpunkte der Bilirubinproben

- Tag 3
- Tag 7 vor Beendigung

#### 3.2.4.5.2 Lipase -und Amylasebestimmung

Die von den Drainagen gesammelten Sekrete wurden bis zu 7-14 Tage täglich auf Blut -und Pankreasflüssigkeit analysiert. Durch die einliegenden Drainagen, die während der Operation platziert wurden, konnten Farbe, Volumen und Konsistenz der Flüssigkeit beurteilt werden und ob nach der Operation eine Pankreasfistel aufgetreten ist. Die Flüssigkeiten wurden nach dem 3., 7., 10. und 14. Tag nach der ersten Operation aus den Drainagebeuteln entnommen.

Proben aus den Drainagen wurden entnommen und auf Amylase- und Lipasekonzentrationen analysiert. Die Ergebnisse waren einen Tag nach der Entnahme bekannt.

Zeitpunkt der Entnahme von Flüssigkeitsproben

- Tag 3
- Tag 7 (vor Beendigung, gilt für die Modellentwicklungsphase)
- Tag 10
- Tag 14 (vor Beendigung)



Die Drainagesekrete wurden zwischen der Test- und Kontrollgruppe verglichen, um zu beurteilen, ob es eine signifikante Reduktion der Pankreasfistelbildung zwischen der Testgruppe im Vergleich zu den Kontrollgruppen gab.

### 3.2.4.5.3 Blutungsevaluation

#### Intraoperativ

Nachdem der Leberdefekt gesetzt wurde, ist die Schwere der Blutung gemäß der Tabelle 3 visuell beurteilt und Blut für 30 Sekunden in einer vorgewichteten Kompresse zur gravimetrischen Analyse entnommen. Zur Bestimmung der Blutmenge bzw. Blutungsrate (Rate in ml/min) wurde die Kompresse mit dem gesammeltem Blut gewogen und zusammen mit der visuellen Beobachtung die Schwere der Blutung gemäß Tabelle 10-1 definiert (Lewis, 2016).

<i>Grade</i>	<i>Visual presentation</i>	<i>Anatomic appearance</i>	<i>Qualitative description</i>	<i>Visually estimated rate of blood loss (mL/min)</i>
0	No bleeding	No bleeding	No bleeding	≤1.0
1	Ooze or intermittent flow	Capillary-like bleeding	Mild	>1.0–5.0
2	Continuous flow	Venule and arteriolar-like bleeding	Moderate	>5.0–10.0
3	Controllable spurting and/or overwhelming flow	Noncentral venous- and arterial-like bleeding	Severe	>10.0–50.0
4	Unidentified or inaccessible spurting or gush	Central arterial- or venous-like bleeding	Life threatening*	>50.0

\*Systemic resuscitation is required (eg, volume expanders, vasopressors, blood products, etc).

The scale is designed and validated for use in clinical studies to generate labeling claims. The scale is a Likert-type scale, in which the user assigns a grade based on the overall agreement of the items listed.

#### **(Tabelle 3 Validierte Skala für den Schweregrad der Blutung)**

Nachdem der PBSP oder einer der Kontrollartikel auf den gesetzten Defekt aufgebracht wurde, wurde der hämostatische Erfolg bewertet. Bei 1 (PBSP und Veriset-Kontrolle), 3, 5, 7 und 10 Minuten nach der Anwendung, wurde die Schwere der Blutung eingestuft. Der hämostatische Erfolg wurde als „keine Blutung“ definiert. Wenn durch visuelle Beobachtung in einem der Zeitintervalle keine Hämostase erreicht wurde, wurde das Blut des Defekts wie oben beschrieben in einer Kompresse gesammelt, um die Reduktion der gesetzten Blutung festhalten zu können.

#### Postoperativ

Nach der Operation wurde Blut gesammelt, um den Unterschied zwischen dem präoperativen Basislinien-Hämoglobin (Hb)-Spiegel zu bestimmen. Blut wurde postoperativ an Tag 1, 2 und 3 entnommen, um es mit dem Ausgangswert der einzelnen Tiere vergleichen zu können, siehe Abschnitt 3.2.4.4.3. Während der Nekropsie wurde jedes Hämatom oder die Bildung von Gallenflüssigkeit festgehalten.

#### 3.2.4.6 Tägliche Beobachtungen/Visiten

Die Tiere wurden mindestens einmal täglich von einem geschulten Tierpflegepersonal und/oder von einem Tierarzt der Versuchsanlage für die Dauer des Überlebens beobachtet. Auffälligkeiten oder unerwünschte Ereignisse wurden festgehalten und ein Bewertungsplan und eine Behandlung wurde von einem Tierarzt skizziert. Der individuelle Fortschritt oder die Rückbildung solcher Fälle wurde täglich von einem Tierarzt verfolgt.

#### 3.2.4.7 Terminalverfahren und Autopsie

Am Ende der vorgesehenen Überlebensperiode wurden die Tiere human mit T61 Euthanasielösung eingeschläfert und untersucht. Alle Befunde bei der Autopsie wurden notiert und jede Auffälligkeit bei den Tieren (makroskopisch und mikroskopisch) wurde notiert. Implantat- und nicht-implantatbedingte Veränderungen können zur mikroskopischen Auswertung erfasst werden. Jede Implantationsstelle wurde separat beurteilt.

Falls ein Tier starb oder nachteilige klinische Symptome aufwies, die eine Euthanasie nach der Operation erforderlich machten, wurde das Tier obduziert und Gewebe von den Implantationsstellen entnommen.

#### 3.2.4.8 Histopathologie

Diverse Proben wurden für die histologische Begutachtung entnommen. Proben sind sowohl aus dem Bereich der implantierten Testartikel als auch vom umgebenden

Gewebe entnommen worden. Die Lagerung und der Transport erfolgten in 4% Formaldehyd. Die Proben wurden für die Histologie in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Die Proben wurden von einem zertifizierten Pathologen analysiert.

Lokale Gewebereaktionen wurden gemäß ISO 10993 Standard für die biologische Bewertung von Medizinprodukten bewertet, wie in Tabelle 4 und 5 angegeben.

**Tabelle 4 Histologisches Bewertungssystem - Zelltyp/Antwort nach ISO 10993-6**

**Tabelle 5 Histologisches Bewertungssystem – Gewebereaktion gemäß ISO 10993-6**

Cell type/response	Score				
	0	1	2	3	4
Polymorphonuclear cells	0	Rare, 1 to 5/phf <sup>a</sup>	5 to 10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Lymphocytes	0				
Plasma cells	0				
Macrophages	0				
Giant cells	0	Rare, 1 to 2/phf	3 to 5/phf		Sheets
Necrosis	0	Minimal	Mild	Moderate	Severe

<sup>a</sup> phf = per high-powered (400x) field.

Response	Score				
	0	1	2	3	4
Neovascularisation	0	Minimal capillary proliferation, focal, 1 to 3 buds	Groups of 4 to 7 capillaries with supporting fibroblastic structures	Broad band of capillaries with supporting fibroblastic structures	Extensive band of capillaries with supporting fibroblastic structures
Fibrosis	0	Narrow band	Moderately thick band	Thick band	Extensive band
Fatty infiltrate	0	Minimal amount of fat associated with fibrosis	Several layers of fat and fibrosis	Elongated and broad accumulation of fat cells about the implant site	Extensive fat completely surrounding the implant

### 3.2.5 Report

#### 3.2.5.1 Unerwünschte Ereignisse

Ein unerwünschtes Ereignis (UE) ist eine Beschreibung eines Umstands, der die Qualität oder Integrität der Daten beeinträchtigen könnte. Als unerwünschtes Ereignis tritt ebenfalls auf, wenn die Gesundheit oder das Wohlbefinden des Studientiers beeinträchtigt wird.

Alle unerwünschten Ereignisse wurden notiert und gemeldet. Alle gemeldeten UEs wurden von einem Tierarzt und Chirurgen überprüft und beurteilt. Der Studienleiter war für die abschließende Bewertung der Schwere der Ereignisse und des möglichen Zusammenhangs des UE mit dem Verfahren, Gerät oder Tiermodell verantwortlich.

Alle UEs wurden gemeldet und nach den folgenden Definitionen klassifiziert:

#### 3.2.5.1.1 System zur Klassifizierung der Verwandtschaft

- Verfahrenbezogen: Ein unerwünschtes Ereignis, das sich aus den Implantationsverfahren und den Erholungsphasen der Versuchstiere ergibt, jedoch nicht die unerwünschten Ereignisse, die sich aus der Verwendung der Testartikel ergeben.
- Testartikel bezogen: Ein unerwünschtes Ereignis, das aus der Verwendung der Testartikel resultiert.
- Tiermodellbezogen: Ein unerwünschtes Ereignis, das aufgrund von Tierphysiologie, Tierpflege, Haltung und Verhalten der Versuchstiere auftritt.
- Unbekannt: Wenn kein ursächlicher Zusammenhang zwischen dem Verfahren, dem Testartikel oder dem Tiermodell festgestellt werden kann, wird es als unbekannt eingestuft.

#### 3.2.5.1.2 Schweregradklassifizierungssystem

- Schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis: Ein unerwünschtes Ereignis, das zum Tod oder zu einem invasiven Eingriff und/oder einer Notfallbehandlung führt, um eine lebensbedrohliche Situation zu verhindern.
- Beinahe schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis: Ein unerwünschtes Ereignis, das NICHT zu einem invasiven Eingriff, sondern zu einer bestimmten Maßnahme führt.
- Nicht schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis: Ein unerwünschtes Ereignis das gemeldet wird, ohne dass ernsthafte Maßnahmen erforderlich oder ergriffen wurden.

## **4 STATISTIK UND BIASKONTROLLE**

### **4.1 Datenanalysen und statistische Methoden**

Das Studienziel wurde qualitativ bewertet und ggf. anhand deskriptiver Basisstatistiken (Mittelwert, Median, Minimum und Maximum) zusammengefasst. Für die in vivo Studien waren keine schlussfolgernden statistischen Analysen im Rahmen dieser Arbeit geplant.

Unerwünschte Ereignisse wurden für jeden Fall nach Verwandtschaft zusammengefasst, sowie eine Gesamtbilanz aller unerwünschten Ereignisse. Berichte über Probleme oder Probleme in den täglichen Beobachtungsdaten, die eine tierärztliche Mitteilung erforderten, wurden ebenfalls zusammengefasst. Wenn zutreffend, wurden Zählungen und/oder Prozentsätze verwendet. Zusätzliche oder alternative Analysen wurden nach Ermessen des Studienleiters durchgeführt.

### **4.2 Kontrolle des Bias- Effektes**

Um den Bias zu kontrollieren, wurden die Chirurgen für die Vergleichsphase aller Versuche verblindet, bis der Defekt hergestellt wurde. Der Tierarzt war für die Randomisierung der Testgruppe und die chirurgische Kontrolle unter Verwendung einer Randomisierungsdatei verantwortlich, die in Minitab Version 18 erstellt wurde. Diese Datei stand den Chirurgen nicht zur Verfügung.

## **5 ERGEBNISSE**

## 5.1 Abweichungen vom Protokoll

### 5.1.1 Galleversuch

- Abweichungen vom Anästhesieregime: Die Anästhesieeinleitung erfolgte mit Ketamin und Xylazin, berechnet auf das Körpergewicht des Tieres und dann bei allen Tieren auf 10 ml und 5 ml Spritzen aufgeteilt. In dieser Studie wurden weder Stresnil, Dormicum noch Atropin verwendet. Pancuronium wurde nach der Intubation verabreicht, wenn das Tier mechanisch beatmet werden musste. Diese Abweichung vom Narkoseregime wurde vom Studientierarzt entschieden und es wurde davon ausgegangen, dass die Studienergebnisse dadurch nicht beeinflusst wurden.
- An Tag 7 waren die meisten Drainagen in allen drei Gruppen aufgrund von Fibrinbildung und diversen anderen Unreinheiten verstopft und daher konnte kein Sekret zur laborchemischen Analyse gesammelt werden. Alternativ wurden während der Nekropsie Bauchflüssigkeiten gezielt abpunktiert und gesammelt, die als gleichwertig mit den Flüssigkeiten angesehen werden können, die in den Drainagebeuteln gesammelt worden wären, wenn sie nicht blockiert/verstopft worden wären und keinen signifikanten Einfluss auf die Analyse der Bilirubinspiegel haben.
- Aufgrund fehlender Daten (Hämolyse in den Referenzblutproben) konnten für Tag 7 von Tier Nr. 11 und 13 keine Bilirubinwerte im Blut gemessen werden. Dies hat keinen signifikanten Einfluss auf die Studie, da die Gesamtbilirubinwerte im Blut von allen Tieren vergleichbar sind und eine geringe Varianz aufweisen.
- Bei zwei Tieren traten unerwünschte Ereignisse auf, eine Peritonitis (Bauchfellentzündung) und eine Pneumonie (Lungenentzündung), die eine Euthanasie der Tiere vor Abschluss der Nachbeobachtungszeit der Studie erforderlich machten. Dies betraf ein Tier aus der Veriset-Kontrollgruppe und ein Tier aus der Vergleichsgruppe vom PBSP- Arm. Laut Protokoll hätten diese beiden Tiere ersetzt werden sollen. Das Studienteam und der Tierarzt entschieden jedoch, diese Tiere nicht zu ersetzen, da das Protokoll vorsah, dass mehrere Tiere vor Abschluss der Nachbeobachtungszeit ausfallen würden, ohne die Studienleistung zu beeinträchtigen. Da alle anderen Tiere gute Leistungen zeigten, war das Studienteam zuversichtlich, dass in jeder Gruppe ausreichend Tiere vorhanden waren, die die Nachbeobachtungszeit abschließen würden, und ein Austausch der beiden Tiere wurde als unnötig erachtet.

### 5.1.2 Pankreasversuch

- Während der Modellentwicklungsphase wurde entschieden, dass mehr Tiere benötigt werden, um die richtige Applikationstechnik für den PBSP auf der Bauchspeicheldrüse zu entwickeln, bevor es in die Vergleichsphase geht, als ursprünglich geplant. Dafür wurden die Reservetiere verwendet. Dementsprechend wurden 10 Tiere in der Modellentwicklung (5 zur Modellentwicklung einer Pankreasfiste; 5 mit Applikation des PBSP) und 14 Tiere in die Vergleichsstudie aufgenommen (7 Sealing Device, 7 Nahtkontrolle). Da diese Abweichung die Studiengruppen in der Vergleichsphase nicht verändert, hat sie keinen Einfluss auf die Interpretation der Studienergebnisse.
- Das Randomisierungsprotokoll wurde in mehreren Fällen aufgrund der Nichtverfügbarkeit von einzusetzenden PBSP's verletzt. Dies wurde im Nachhinein kommuniziert und konnte nicht korrigiert werden. Die Chirurgen und der Tierarzt glauben nicht, dass eine Voreingenommenheit hätte entstehen können, da sie die Entscheidung über den zu verwendenden Testartikel ohne vorherige Informationen über das zu operierende Tier und lange vor Beginn der Operation getroffen haben, sodass diese Abweichung voraussichtlich keine Auswirkungen auf die Interpretation der Studienergebnisse haben.

### 5.1.3 Blutungsversuch

- Das Randomisierungsprotokoll wurde in mehreren Fällen aufgrund der Nichtverfügbarkeit von den zum Einsatz kommenden Testartikeln verletzt. Dies wurde im Nachhinein kommuniziert und konnte nicht korrigiert werden. Die Chirurgen (wir) und der Tierarzt glauben nicht, dass eine Voreingenommenheit entstanden sein könnte, da sie die Entscheidung über den zu verwendenden Testartikel, ohne vorherige Informationen über das zu operierende Tier und lange vor Beginn der Operation getroffen haben. Der Einfluss auf die Interpretation der Studienergebnisse sollte daher minimal sein.
- Aus praktischen Gründen wurde beschlossen, die eingesetzten Patches während der einzelnen Eingriffe nach dem Anlegen und dem Ende des Drucks auf das Patch

nachzuverfolgen. Dies geschah, um den unterschiedlichen Druckdauern auf das jeweilige Patch gerecht werden zu können. Es gibt keine negativen Auswirkungen auf die Interpretation der Studienergebnisse, da es sich lediglich um eine praktische Anpassung des Protokolls handelt, um die erforderlichen Daten erheben zu können.

- Aufgrund einer ethisch nicht akzeptablen unzureichenden Leistung des TachoSil-Patches bei Tier H03, H06 und den ersten beiden Defekten bei Tier H07 wurde in Absprache mit dem Tierarzt beschlossen, den TachoSil-Arm einzustellen. Tier H07 wurde weiter mit dem PBSP behandelt, um das Tier für den Versuch zu retten. Das Tier wurde daher in die (Sealing Device) PBSP -Gruppe überführt. Der Versuch wurde daher mit 5 Tieren der (Sealing-Device) PBSP Gruppe, 5 Tieren der Veriset-Gruppe und den beiden bereits aufgenommenen Tieren der TachoSil-Gruppe durchgeführt. Diese Entscheidung sollte keinen Einfluss auf die Interpretation der Studienergebnisse haben, da die Interpretation der Ergebnisse im TachoSil-Arm aufgrund des Ausfalls der Tiere unmöglich wäre.

- Bei der Operation von Tier H03 wurde kein Heparin verwendet. Es wird angenommen, dass dies die intraoperative Leistung der applizierten TachoSil-Patches positiv beeinflusst hat, was erklärt, warum dies das einzige Tier ist, bei dem TachoSil während der Operation wirksam war. Dies könnte die Interpretation der Studiendaten beeinflussen. Dieses wird im Abschnitt Diskussion im Rahmen dieser Arbeit vertieft.

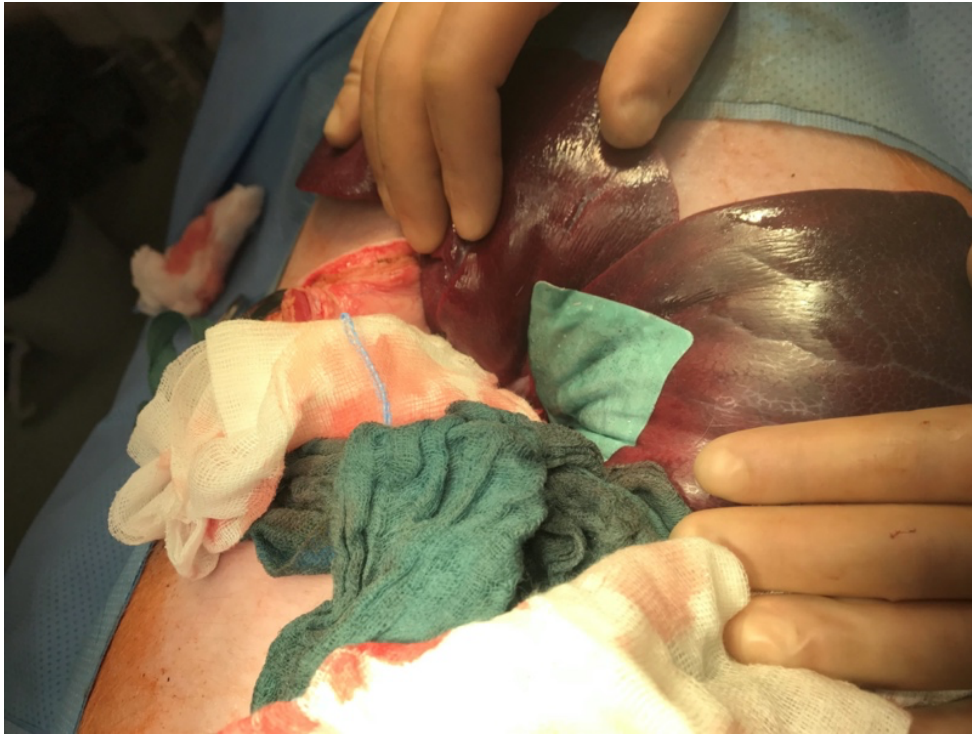
- Im Rahmen dieser Studie sollte die Blutgerinnung durch den Heparinisierungsprozess beeinflusst werden, um ein adäquates Blutungsmodell zu erhalten. Dies wurde für alle Tiere außer H03 durchgeführt. Die Heparinisierung sollte durch Blutgerinnungsparameter bestätigt werden. Leider wurden im Rahmen der Blutentnahme von H01-H07 die vom Labor (Synlab.vet) korrekt erhaltenen Gerinnungsparameter nicht ermittelt. Es wurde jedoch festgestellt, dass PTT die Effizienz der Heparinisierung in Tier H08-H12 kontrolliert. Die Tiere, bei denen die PTT-Werte vor und nach der Heparinisierung verfügbar sind, zeigten nach der Heparinisierung mindestens das Zwei- bis Vierfache der Werte vor der Heparinisierung (Mittelwert der PTT vor der Heparinisierung 38,75; Mittelwert der PTT nach der Heparinisierung 97,50; n = 4) . Generell kann festgestellt werden, dass bei gleicher Heparinmenge (10.000 Einheiten) vor der eigentlichen Operation und einem ähnlichen Gewicht der Schweine alle Schweine ausreichend Heparinisiert waren (gehemmt in



ihrer Gerinnungsaktivität). Dies wird bei den TachoSil-Tieren H03 / H06 weiter betont, bei denen TachoSil beim heparinisierten Schwein (H06) keine Wirkung zeigte und bei einem TachoSil-Tier, bei dem nachweislich kein Heparin verabreicht wurde, TachoSil seine Wirkung entfalten konnte (H03). Da die Heparinisierung bei den Tieren H08-H12 reproduziert werden kann, (die PTT-Werte vor und nach der Heparinisierung gesammelt wurden) die eine ausreichende Heparinisierung aufzeigten. Können die Daten dieser Tiere weiter auf die anderen Tiere übertragen werden, da das gleiche Heparinisierungsverfahren bei Schweinen diese Abweichung keinen wesentlichen Einfluss auf die Studienergebnisse hat.

#### 5.1.4 Degradationsversuch

- 24. April 2018: Es ist möglich, dass Caprosyn (Covidien) Nahtmaterial anstelle von Biosyn-Nahtmaterial verwendet wurde, das Protokoll ist in Bezug auf Tier 1.1 widersprüchlich. Das histologische Scoring gab keine Bedenken.
- Während der 3-Monats- und 6-Monats-Nachbeobachtung konnten im Rahmen aller Nekropsien nicht repräsentative Bilder aufgenommen werden. Diese Arbeit wird daher ein repräsentatives intraoperatives Bild der PBSP Applikation sowie Nekropsiebilder der Applikationsstellen für jeden Zeitpunkt enthalten. Dies hatte keinen Einfluss auf die Ergebnisse, da Befunde in der CRF-Dokumentation pro Tier vermerkt und histologische Daten aller zutreffenden Organe jedes Tieres erhoben wurden.
- 15. Mai 2018: Der ZVK für Tier 6.3. war kaum mehr befestigt. Daher wurde die geplante Blutprobe für die 2-wöchige Nachsorge einen Tag früher entnommen und der ZVK entfernt.
- 8. August 2018: Bei den Tieren 3.2 und 3.3 (beide verbleibenden Tiere für die 3-Monats-Follow-up-Gruppe) wurde vor der Autopsie keine Blutprobe entnommen. Eine Blutprobe wurde einem vergleichbaren überlebenden Tier (12.1) aus den anderen Gruppen entnommen, um einen Hinweis auf den Blutstatus für das 3-Monats-Follow-up zu geben und hat somit keinen Einfluss auf die Ergebnisse.
- 14. August 2019: Die lokalen Gewebeeffekte nach der Implantationsstudie an Kaninchen (Namsa-Studie 231163) zeigten, dass der Teastartikel PBSP nach 15-monatiger Implantation deutlich abgebaut war, daher wurde beschlossen, die



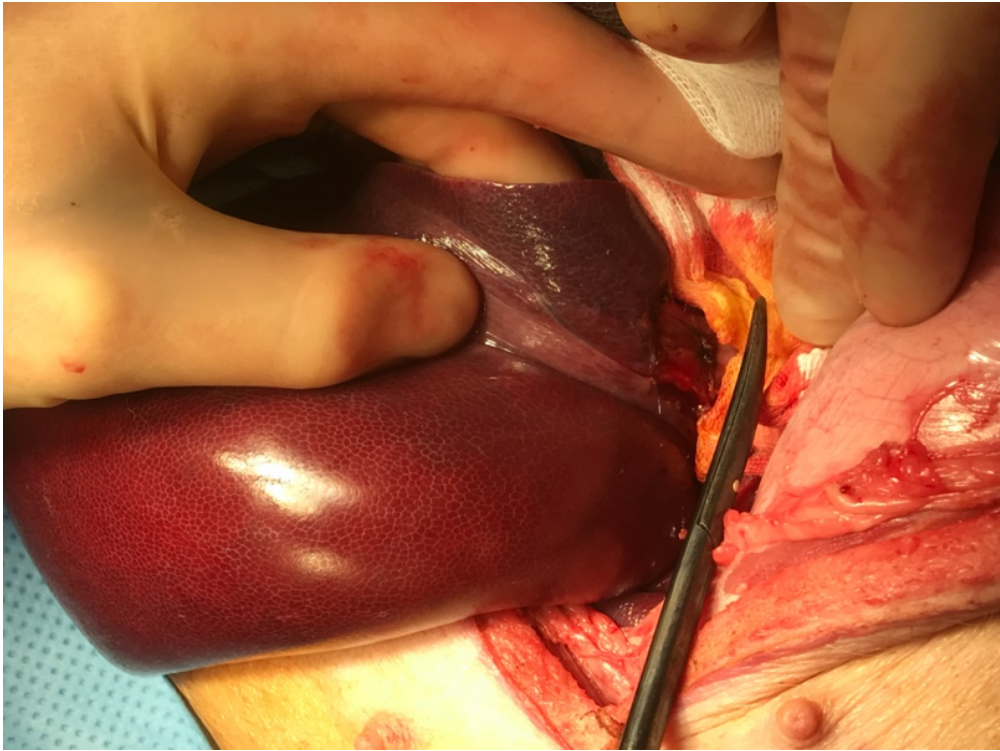
Implantationszeit für das verbleibende Tier in der Minipig Studie von 18 Monaten auf 15 Monate zu verkürzen.

## 5.2 Verfahrensdaten

### 5.2.1 Galleversuch

- Für die Erzeugung einer reproduzierbaren Galleleckage, welches in allen Fällen sicher zum Austritt von Gallensekret führte, dauerte es etwa 5 bis 15 Minuten. Das Vorhandensein von Galle wurde mit einer weißen Kompresse überprüft und nachgewiesen (farblicher Umschlag der initial weißen Kompresse).
- Die gesetzten Defekte wurden mit dem PBSP, Veriset oder durch Vernähen des Defekts behandelt. Der Erfolg einer Behandlung zeichnete sich dadurch aus, dass intraoperativ kein Gallenaustritt auftrat, nachdem der Defekt behandelt wurde.
- Bei allen Gruppen wurden keine Schwierigkeiten während des Implantations-/Behandlungsverfahrens beobachtet.

**Abbildung 3 Intraoperative Anwendung des PBSP an der Leber (Schwein #P15)**



**Abbildung 4 Intraoperative Anwendung der chirurgischen Kontrolle auf der Leber (Schwein #P17)**



**Abbildung 5 Intraoperative Anwendung von Veriset auf der Leber (Schwein #P21)**

#### 5.2.2 Pankreasversuch

- Die Prozedur dauerte durchschnittlich 79 Minuten in der Pankreasfistel-Modellentwicklungsgruppe (SD 29,2) und 42,5 Minuten in der Sealing Device (PBSP) Modellentwicklungsgruppe (SD 11,9). In der vergleichenden Versuchsphase betrug die Gesamteingriffsdauer 56,1 Minuten (SD 11,9). In der Gruppe mit dem PBSP betrug die durchschnittliche Verfahrensdauer 54,3 (SD 12,7) und in der chirurgischen Kontrollgruppe (Nahtgruppe) 57,9 Minuten (SD 11,9). Die mittleren Verfahrensdauern unterscheiden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant ( $p = 0,60$ ).
- Die Anwendung von Muskelrelaxantien zur Ermöglichung einer komplikationsärmeren Operation erwies sich während des Versuchs als schwierig für die Nachsorge der Tiere. Die Tiere P2, P6, P16 und P18 hatten viele Erholungsprobleme, da die Hinterbeine nach der Wiedererlangung des Bewusstseins und dem Versuch, aufzustehen, immer noch von den Muskelrelaxantien (Relaxanzüberhang) betroffen waren. Ab P17 wurde entschieden, auf intraoperative Muskelrelaxantien zu verzichten, um den Komfort für die Tiere während der Erholungsphase zu erhöhen. P18 hatte, obwohl keine Muskelrelaxantien verabreicht wurden, eine schwierige Erholungsphase. Bei allen anderen Tieren erwies sich die Nichtverabreichung von Muskelrelaxantien als vorteilhaft für die Genesung nach der Operation. Die Chirurgen gaben an, dass die Bauchspeicheldrüsenoperation auch

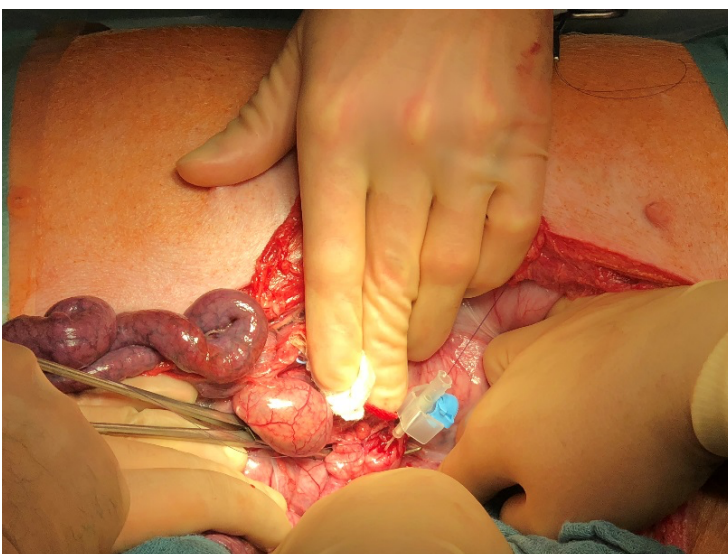


ohne den Einsatz von Muskelrelaxanzien problemlos verlief, obwohl es etwas schwieriger war, den Bauch für die Operation zu öffnen (fehlende Relaxation des Darmes und dadurch hervorquellen von den Eingeweiden). Dies wird in den Abschnitten Protokollabweichungen (Absatz 5.1.2) und Nebenwirkungen (Absatz 5.3 und 5.4.2) genauer beschrieben.

- Bei einem Tier in der Kontrollgruppe mit Naht (P24; minimale Parenchymlutung durch Naht mit Monocryl behoben) und bei einem Tier in der PBSP Gruppe (P21; minimale Parenchymlutung durch Naht mit Monocryl) wurde eine intraoperative Blutung beobachtet.
- Repräsentative intraoperative Bilder und Bilder der PBSP Anwendung sind in den Abbildungen 6- 11 unten gezeigt.



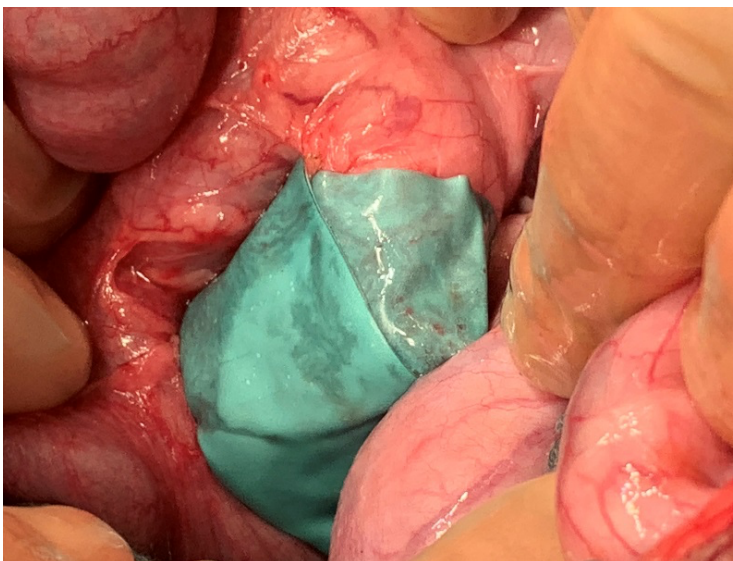
**(Abbildung 6 Intraoperatives Bild Modellentwicklungsgruppe P9)**



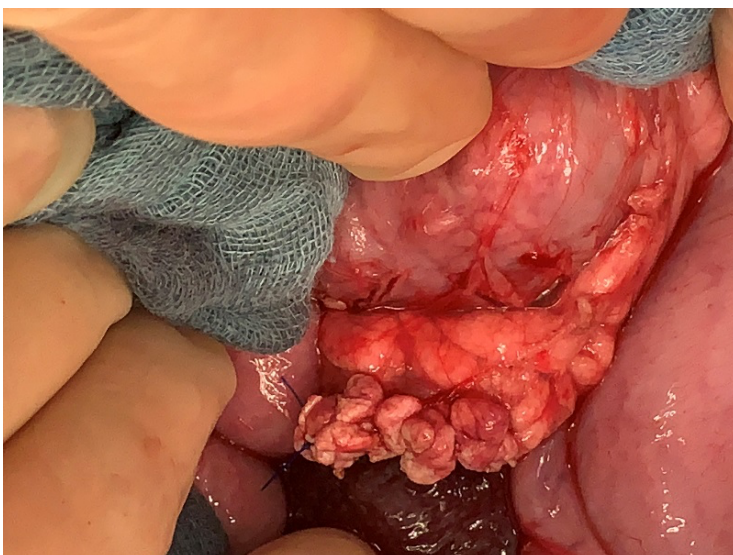
**(Abbildung 7 Intraoperatives Bild Modellentwicklungsgruppe – Intubationsgang P2)**



**(Abbildung 8 Intraoperativer Pankreasdefekt PBSP Gruppe P14)**



**(Abbildung 9 Intraoperatives Bild Anwendung des PBSP P14)**



**(Abbildung 10 Intraoperatives Bild in der chirurgischen Kontrollgruppe P18)**



(Abbildung 11 Intraoperative Bildnähte in der chirurgischen Kontrollgruppe P12)

### Modellentwicklung zur Induktion einer standardisierten Pankreasfistel

Im Rahmen der Etablierungsphase des Modells einer chirurgisch induzierten Pankreasfistel wurden verschiedene Konzepte zur optimalen Behandlung einer standardisierten Pankreasfistel und begleitender Komplikationen betrachtet. Beim ersten Tier erfolgte ein Einschnitt in das Pankreasparenchym mit Ausnahme des Ductus Wirsungianus gefolgt von der Punktion des Hauptgangs mit dem feinen Overhold oder einer venösen Verweilkatheter. Im Rahmen der Autopsie zeigte dieses Tier nicht die anfangs vermutete schwere Pankreatitis. Daher wurde entschieden, ab dem zweiten Tier einen schwereren Pankreasdefekt zu setzen. Dabei wurde die linkslaterale Pankreasschwanzresektion gewählt. Bei diesem Verfahren wurde das komplette Parenchym orthogonal zur Pankreasachse vom Übergang Corpus zur Cauda pancreatis durch Elektrokauterisation durchtrennt. Blutungen während der Transsektionsphase am Parenchym wurden durch Elektrokauterisation oder mit Prolene 6-0-Nähten behandelt. Mit diesem Verfahren wurde eine sichere reproduzierbare Pankreasleckage mit begleitender Pankreatitis, peripankreatischer Flüssigkeitsansammlung, Darmverklebungen und Blutungen erreicht. Auch bei Patienten mit onkologischen Erkrankungen des Pankreasschwanzes wird diese Art von Verfahren regelmäßig durchgeführt, wodurch dieses Verfahren klinisch relevanter wird.

In der Modellentwicklungsphase wurde die Möglichkeit untersucht, eine Pankreasfistel (Leck) (P1-5) zu induzieren. Zudem bestand die Möglichkeit nach erfolgreicher

Modelletablierung, eine effektive Anwendbarkeit des PBSP um den Pankreasstumpf herum zu applizieren, um auf der einen Seite die Entwicklung einer Pankreasfistel so suffizient wie möglich zu vermeiden und auf der anderen Seite die Anwendbarkeit für die darauffolgende Vergleichsstudie zu perfektionieren. Mehrere Faltechniken mit 1, 2 oder 3 Patches wurden getestet. Nach den ersten 7 Tieren waren die Chirurgen der Meinung, dass die Technik noch nicht perfektioniert war und daher wurden die drei Reservetiere in die Modellentwicklungsphase mit aufgenommen, um die Faltechnik weiter zu verfeinern. P6-10 wurden verwendet, um die Faltechnik des PBSP zu etablieren.

#### Allgemeine Vorgehensweise – Vergleichsgruppen

Nach den üblichen präoperativen Vorbereitungen (ZVK-Anlage, Blutentnahme, Anbringen des Monitorings, Rasieren des Tieres etc.), sterilem Waschen und Abdecken des Tieres wurde der L-Schnitt für den intraabdominalen Zugang zum Operationsgebiet durchgeführt. Nach Inspektion der anderen Organe auf eine entzündliche Veränderung, die das Experiment negativ beeinflussen könnten, erfolgte der Zugang zur Bauchspeicheldrüse. Magen, Dünndarm und Milz wurden vorsichtig beiseitegeschoben. Anschließend erfolgte die Mobilisierung der Bauchspeicheldrüse aus dem Retroperitoneum. Anschließend wurde der Defekt mit dem korrekten Verfahren (PBSP/ chirurgische Kontrolle) behandelt.

Nach Versorgung der iatrogenen Pankreasfistel mittels PBSP (Sealing Device) oder der chirurgischen Naht und Untersuchung des OP-Areals auf Bluttrockenheit und erfolgreicher Zählung auf Vollständigkeit der Textilien und Instrumente wurden die Penrose Drainagen am genähten Stumpf befestigt und der Bauch definitiv verschlossen.

#### Anwendungstechnik des PBSP (Sealing Device)

Letztendlich wurde die Technik mit zwei Patches, die den Pankreasstumpf umhüllen, als die effektivste und an der einfachsten anzuwendenden Technik angesehen und während der Vergleichsphase weiter verwendet. Der erste Patch wurde nach Herauslösen des Pankreas aus dem Retroperitoneum von dorsal über den Stumpf gefaltet und direkt am Pankreasgewebe befestigt. Dann wurde der zweite Patch von



ventral nach dorsal um den ersten Patch und den Stumpf gewickelt, haftete an dem ersten Patch und sicherte so die Ränder des ersten Patch. Dieser Ansatz wird als die Art und Weise beschrieben, wie man eine Fingerspitze in Pflaster einwickeln würde. Dieser Ansatz wurde für alle Tiere in der Vergleichsgruppe für den PBSP (Sealing Device) verwendet.

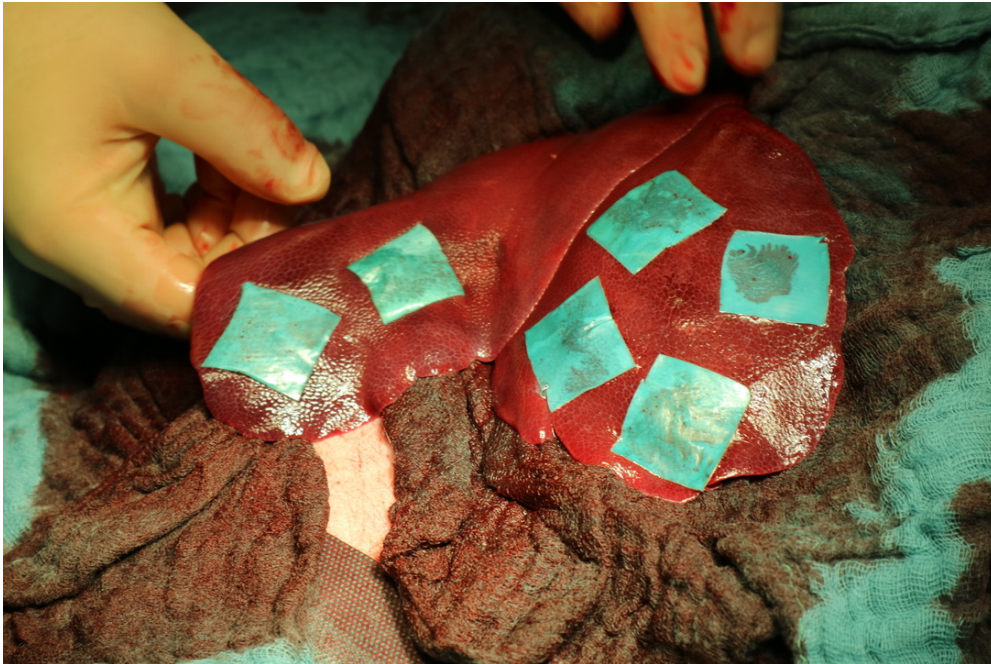
### Chirurgische Kontrolle

Nach erfolgreicher Mobilisierung des Pankreas, wurde der Pankreasschwanz mit einem Overhold gefasst und mit dem Elektrokauter vom restlichen Pankreas reseziert. Wenn einige Stellen am Stumpf bluteten, wurden diese mit dem Elektrokauter oder Einzelstichen in Z-Naht-Technik (5-0 Prolene) versorgt. In der Gruppe des chirurgischen Kontrollarms wurde das Pankreasstumpfparenchym mit einer zweireihigen Naht (Prolene 3-0 RB1) versorgt.

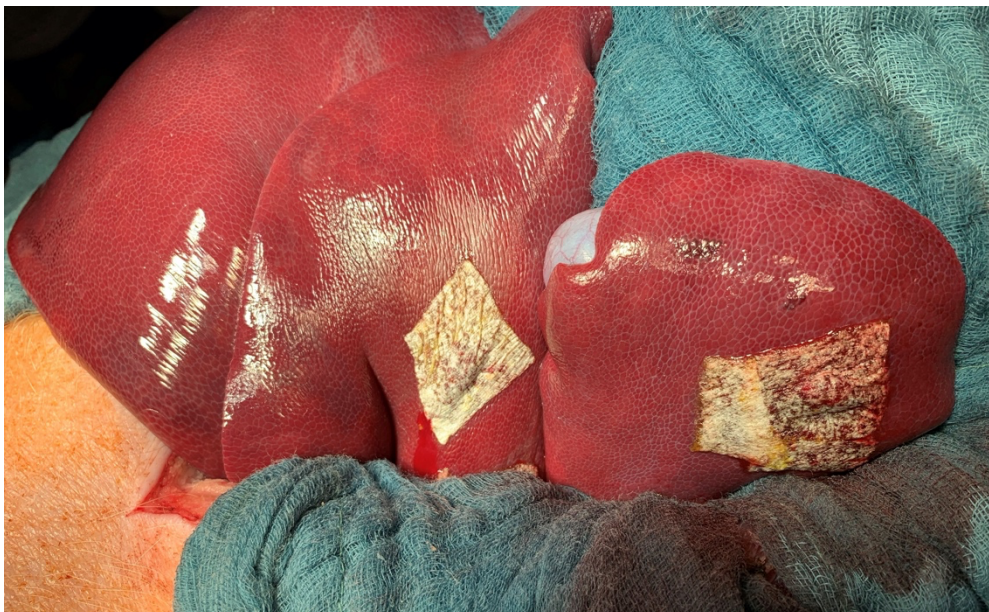
### 5.2.3 Blutungsversuch

- Die Operationsprozedur dauerte durchschnittlich 120 Minuten in der TachoSil-Gruppe (kein SD), 108 Minuten in der Veriset- Gruppe (SD 16,8) und 104 Minuten in der Sealing Device (PBSP)- Gruppe (SD 51,3). Die Verfahrenszeiten waren zwischen den Gruppen statistisch nicht signifikant unterschiedlich. Es sollte jedoch beachtet werden, dass ein Tier in der Gruppe vom PBSP ein verkompliziertes Verfahren darstellte, da es initial als TachoSil-Verfahren begann, aber aufgrund einer inadäquaten Leistung des TachoSil auf die Gruppe PBSP umgestellt wurde. Diese Operation ist daher nicht repräsentativ für die Gruppe des PBSP. Ohne Berücksichtigung dieses Verfahrens betrug die durchschnittliche Verfahrensdauer in der Sealing Device Gruppe 93,5 Minuten (SD 27,8) ( $p= 0,42$ ).
- Ein TachoSil-Tier wurde während der Operation euthanasiert und ein Tier musste während der Nachsorge frühzeitig euthanasiert werden, da die Blutung aus den Defekten durch die Patches nicht eingedämmt werden konnte. Bei den letzten Tieren der TachoSil-Gruppe gab es nach Aufbringen von 2 Patches keinen hämostatischen Erfolg. Daher wurde beschlossen, das Tier in die Gruppe des PBSP- Armes zu wechseln, um es für die Untersuchung während der Operation aufzubewahren.

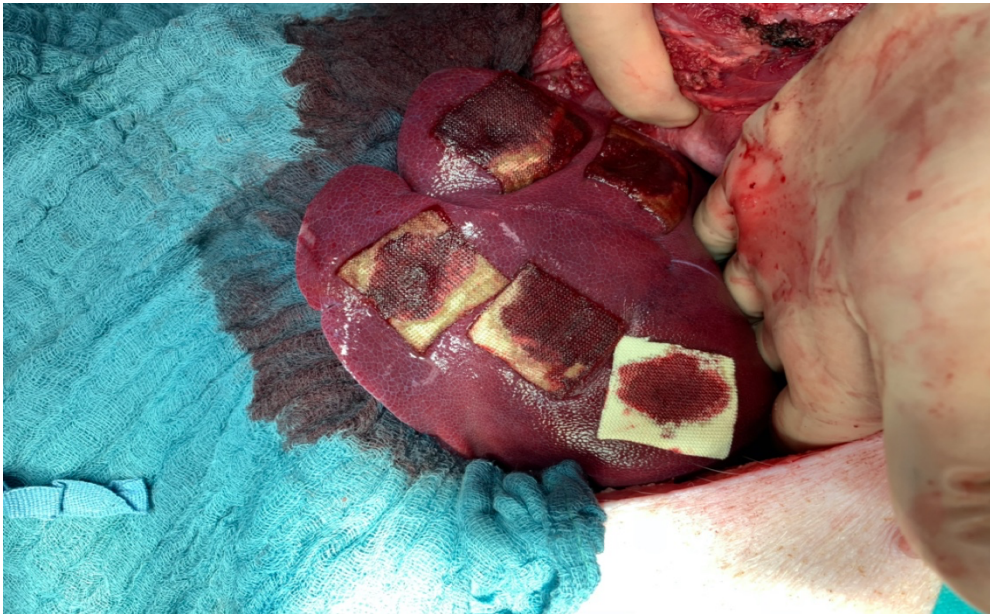
- Bei einem Tier der Veriset-Gruppe (H08) begann einer der Defekte erneut zu bluten und wurde während der Operation erneut platziert, um die Blutung zu sichern.
- Während der Implantation/Behandlung wurden keine weiteren Schwierigkeiten beobachtet.
- Für alle drei Gruppen wurden repräsentative Bilder während der Applikation von den Patches gemacht, die in Abbildung 12- 14 unten dargestellt sind.



(Abbildung 12 Anwendung des PBSP Schwein H01)



(Abbildung 13 Anwendung von TachoSil Pig H08)



(Abbildung 14 Anwendung von Veriset Schwein H03)

### *Blutungsratenbeurteilung visuell und gravimetrisch im Vergleich*

Um zu beurteilen, ob die visuelle Beurteilung der Blutungsstärke korrekt ist, wurden die Ergebnisse der visuellen und gravimetrischen Bewertung der Blutungsstärke bei T0 verglichen. Die gravimetrische Bewertung wurde mit der Lewis-Blutungsskala neu berechnet, um den Vergleich mit der visuellen Bewertungsskala vornehmen zu können.

Alle Bewertungen wurden von einem Chirurgen (Ahmad S. Bahar) durchgeführt. Die mittleren Blutungsraten während der freien Blutung für alle Gruppen sind in Tabelle 6 unten gezeigt. Die mittlere visuelle Blutungsrate betrug 2,2 (SD 0,9) zwischen den Gruppen. Die gravimetrische Beurteilung zeigte bei allen Gruppen eine mittlere Blutungsrate von 5,4 g/30 Sek. (SD 7,0). Beide Bewertungsmethoden weisen daher darauf hin, dass im Durchschnitt mäßige Blutungen in den Defekten induziert wurden. Beim Vergleich der Ergebnisse zur visuellen und gravimetrischen Einstufung von Blutungen mit Goodman – Kruskal Lambda- und Tau-Tests ist die Korrelation zwischen den Einstufungsskalen jedoch gering (0,1–0,2, wobei (+/-) 1,0 für perfekte Passform und 0 für keine Anpassung, deutet dies daraufhin, dass die für diese Studie empfohlene visuelle Bewertungsmethode für die Blutungsbewertung im Vergleich zur



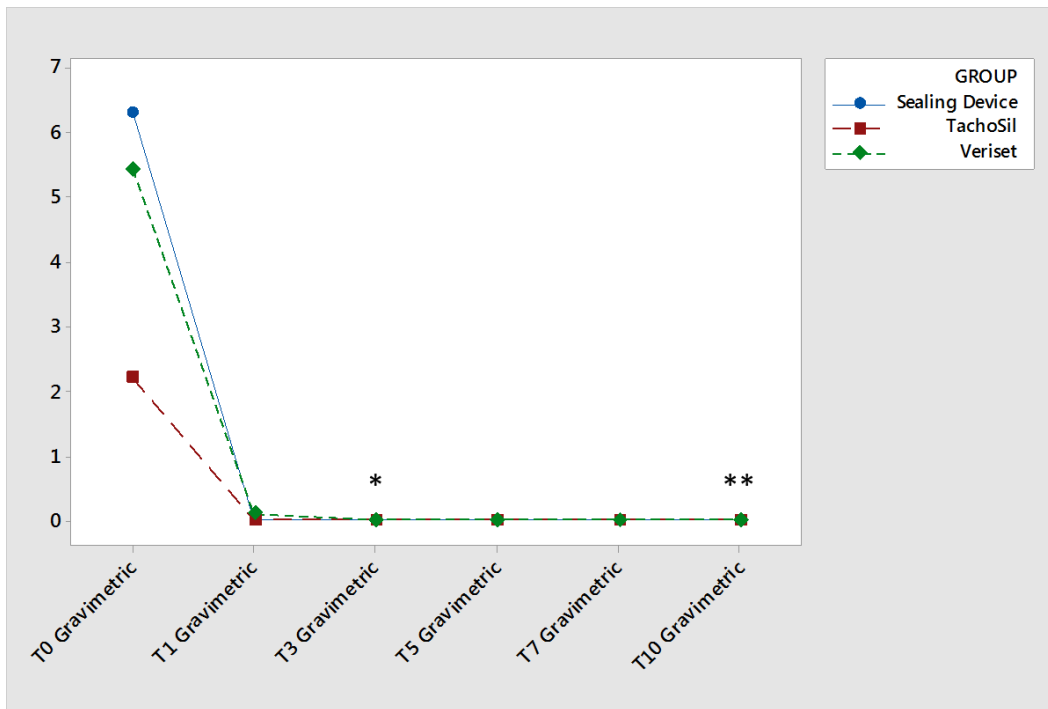
gravimetrischen Bewertung mit dem aktuellen Trainingsumfang für die visuelle Bewertung des Chirurgen nicht repräsentativ ist.

Die Hämoglobinbewertung vor und nach der Intervention zeigt, dass im Durchschnitt kein signifikanter Unterschied im Hämoglobin aufgrund der Intervention besteht ( $101,4 \pm 17,9$  vs.  $99,4 \pm 7,4$ ;  $p = 0,8$ ).

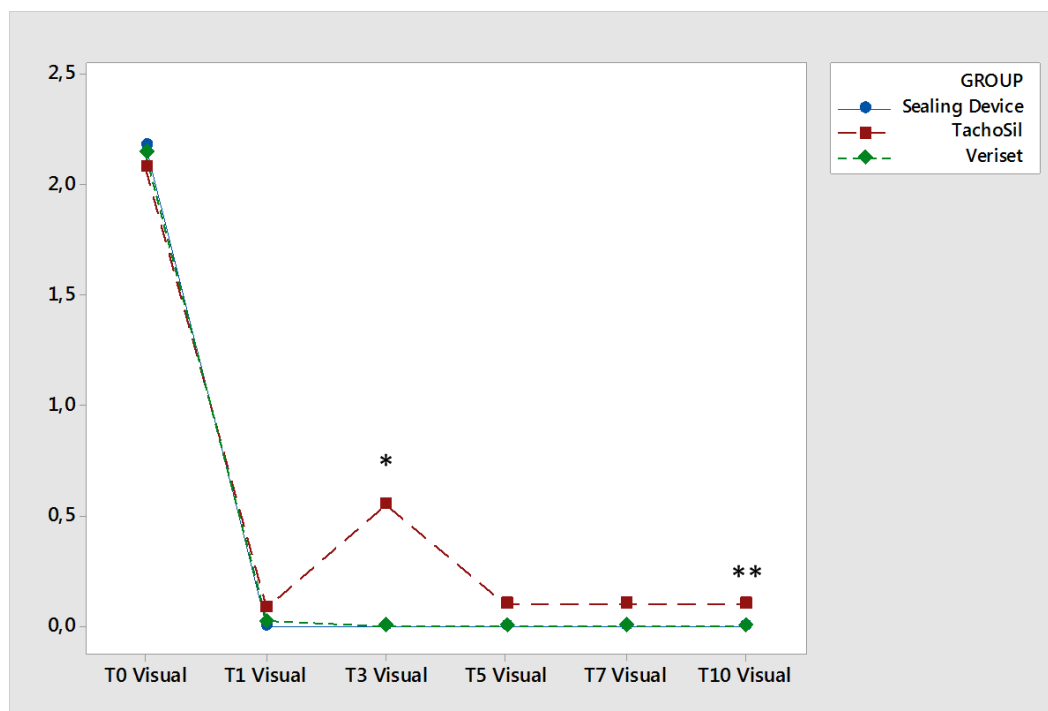
	<b>PBSP (n = 5)</b>	<b>Veriset (n = 5)</b>	<b>TachoSil* (n = 2)</b>	<b>P</b>
<b>MITTLERE Blutungsrate (10 Defekte pro Tier) Visuelle Bewertungsskala</b>	2,2	2,1	2,1	0,9
<b>SD-Blutungsrate (10 Defekte pro Tier) Visuelle Bewertungsskala</b>	0,9	0,9	0,8	
<b>MITTLERE Blutungsrate (10 Defekte pro Tier) Gravimetrisch (g/30 Sek.)</b>	6,3	5,4	2,1	0,2
<b>SD-Blutungsrate (10 Defekte pro Tier) Gravimetrisch (g/30 Sek.)</b>	8,5	6,0	2,5	

\* TachoSil-Gruppe: 1 Tier, 10 Defekte eingeschlossen; 1 Tier 2 Mängel enthalten

**Tabelle 6 mittlere Blutungsraten für alle Gruppen**



**Abbildung 15** Liniendiagramm der visuellen Einstufung. Intraoperative Blutung pro Gruppe.  
 \* Die TachoSil-Gruppe umfasst 2 statt 5 Tiere; 1 davon wurde intraoperativ beendet.



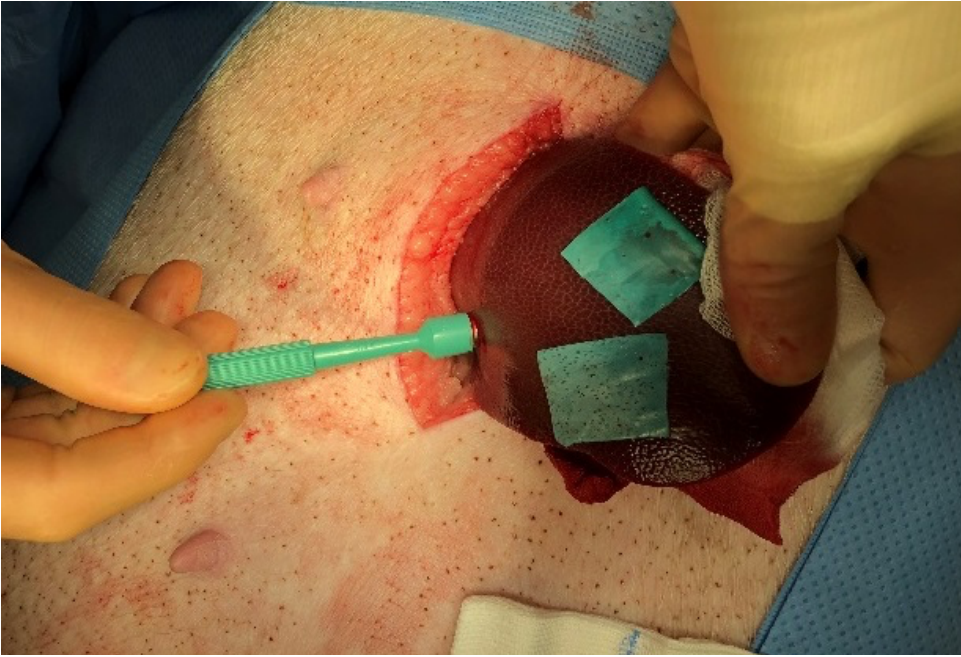
**Abbildung 16** Liniendiagramm der gravimetrischen Beurteilung der intraoperativen Blutung

\* Die TachoSil-Gruppe umfasst 2 statt 5 Tiere; 1 davon wurde intraoperativ beendet.

\*\* Bei T3 blutete Tier H03 gemäß der visuellen Beurteilung. Aufgrund der Notwendigkeit einer Blutungskontrolle wurde der Defekt zu diesem Zeitpunkt nicht gravimetrisch beurteilt, was zu fehlenden Daten führte. Daher wird für TachoSil bei T3 gravimetrisch keine Blutung festgestellt.

#### 5.2.4 Degradationsversuch

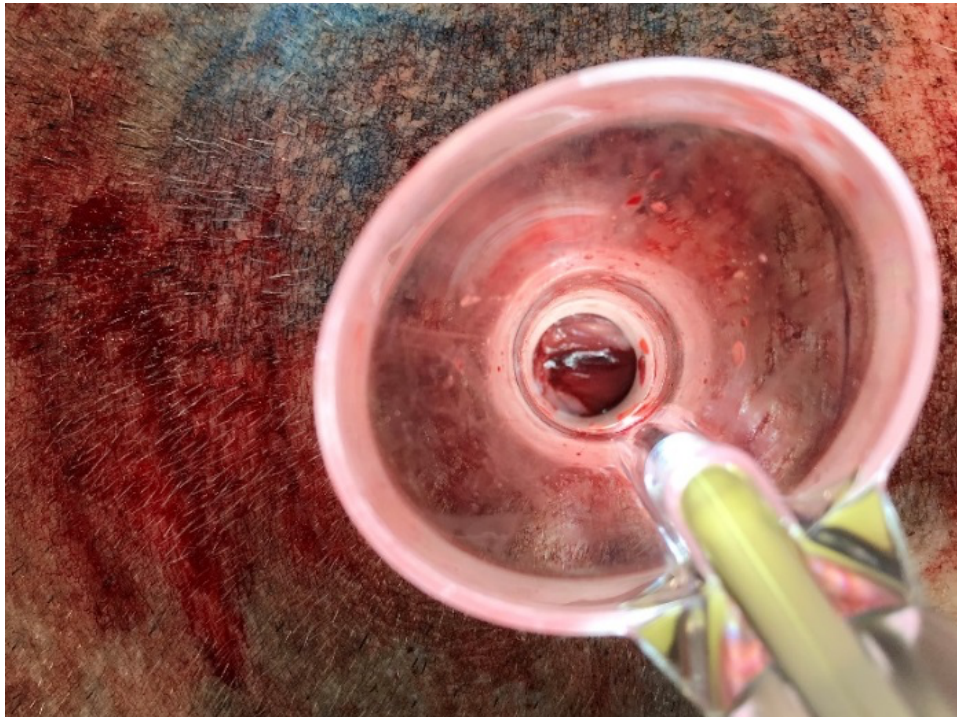
- Der erste Teil des Verfahrens, bei dem der Patch aufgetragen wurde, dauerte durchschnittlich 54,6 Minuten. Der zweite Teil des Eingriffs, bei dem die einzelnen Materialien in die Muskeltaschen eingebracht wurden, dauerte durchschnittlich 51,9 Minuten. Der gesamte Vorgang dauerte durchschnittlich 105,7 Minuten.
- Alle Leberdefekte wurden mit dem PBSP behandelt. Alle Defekte, die mit dem PBSP behandelt wurden zeigten intraoperativ keine Blutungen oder Gallenleckage. Bei 3 Defekten war ein zweiter Patch über dem ersten Patch erforderlich, um einen angemessenen Verschluss des Defekts sicherzustellen.
- Aufgrund der massiven subkutanen Fettschicht auf dem Rücken der Tiere, erwies sich das intramuskuläre Einführen und Positionieren der Patches als äußerst schwierig und zur Vereinfachung der Prozedur und gezielteren Einlage der Materialien wurde entschieden, ein Proktoskop zum Einbringen der Proben zu verwenden.
- Bei den Nekropsien der ersten Tiere wurde festgestellt, dass es schwierig war, die Patches in den Muskeltaschen zurückzuverfolgen, daher wurden bei den späteren Tieren Clips in die Muskeltaschen eingeführt, um den Bereich zu markieren, in dem die Patches eingesetzt wurden.
- Während der Implantation/Behandlung wurden keine weiteren Schwierigkeiten beobachtet.
- Repräsentative Fotos einiger Leberdefekte und -anwendungen sowie der Patches, die in Muskeltaschen angebracht wurden, finden Sie in Abbildung 17-19 unten.



**(Abbildung 17 Repräsentativer Leberdefekt Schwein Nr. 1.1)**



**(Abbildung 18 Repräsentatives Bild der versorgten Leberdefekte mittels PBSP Schwein Nr. 1.1)**



(Abbildung 19 Proktoskop zum Einführen von Testartikeln in intramuskuläre Taschen Schwein Nr. 1.1)

### 5.3 Klinische Observationen

#### „Galleversuch“

Bei zwei verschiedenen Tieren wurden zwei klinisch relevante unerwünschte Ereignisse berichtet, siehe Abschnitt 5.4. Der Rest der Tiere wurde von der Ankunft an und während der Dauer der Studie täglich von Tierärzten und Tierpflegepersonal beobachtet. Es wurden 4 Fälle von Durchfall, 2 Fälle von Fieber, 5 Fälle von Wundinfektionen oder Dehiszenzen, ein Fall von Übelkeit, 2 Fälle von Dyspnoe (einer klinisch relevant) und ein Fall einer Peritonitis (klinisch relevant) festgestellt. Die übrigen Tiere zeigten weder im Ernährungszustand noch im Allgemeinzustand klinisch signifikante Anzeichen. Die Tiere spielten weiter mit ihren Spielsachen und zeigten kein komplexes Verhalten. Die klinischen Beobachtungen sind in Tabelle 7 unter Absatz 5.4.1 und in Absatz APPENDIX C zusammengefasst.

#### „Pankreasversuch“

Bei 19 verschiedenen Tieren wurden 31 unerwünschte Ereignisse berichtet, siehe Abschnitt 5.4.2. Der Rest der Tiere wurde von der Ankunft an und während der Dauer



der Studie täglich von Tierärzten und Tierpflegepersonal beobachtet. Die übrigen Tiere zeigten weder im Ernährungszustand noch im Allgemeinzustand irgendwelche klinisch signifikanten Anzeichen. Die anderen Tiere spielten weiter mit ihren Spielsachen und zeigten kein komplexes Verhalten.

#### „Blutungsversuch“

Bei 10 verschiedenen Tieren wurden 10 unerwünschte Ereignisse berichtet, Einzelheiten siehe Abschnitt 5.4.3. Die Tiere wurden von der Ankunft an und während der Dauer der Studie täglich von Tierärzten und Tierpflegepersonal beobachtet. Die übrigen Tiere zeigten weder im Ernährungszustand noch im Allgemeinzustand klinisch signifikante Anzeichen. Die Tiere spielten weiter mit ihren Spielsachen und zeigten kein komplexes Verhalten.

#### „Degradationsversuch“

Die Tiere wurden von der Ankunft an und während der Dauer der Studie täglich von Tierärzten und Tierpflegepersonal beobachtet. Siebzehn unerwünschte Ereignisse wurden bei 9 verschiedenen Tieren in allen Gruppen berichtet, siehe Abschnitt 5.4.4. Die übrigen Tiere zeigten weder im Ernährungszustand noch im Allgemeinzustand klinisch signifikante Anzeichen. Die Tiere spielten weiter mit ihren Spielsachen und zeigten kein komplexes Verhalten.

## **5.4 Unerwünschte Ereignisse (UE`s)**

### 5.4.1 Galleversuch

Es wurden 2 klinisch relevante Nebenwirkungen berichtet. Ein Tier musste aus der Studie ausgeschlossen werden, da intraoperativ ein großer Milzabszess beobachtet wurde, bevor ein Defekt gesetzt werden konnte. Ein weiteres Tier hatte eine Peritonitis und massive Atemprobleme in der Ausleitungsphase sowie im Stall, wahrscheinlich ausgehend von einer Lungenentzündung und wurde nach der Operation aus der Studie ausgeschlossen. Beide Ereignisse waren nicht Verfahrens- oder Material bedingt. Alle anderen Beobachtungen und Ereignisse, mit Ausnahme der zwei Wunddehiszenzen in der Veriset-Gruppe und einer Wunddehiszenz in der chirurgischen Kontrollgruppe, die an Tag 4-6 auftraten und bei Beendigung noch vorhanden waren, wurden innerhalb von 2 Tagen behoben.

Einen Überblick über die unerwünschten Ereignisse können aus Tabelle 7 unten und Abschnitt APPENDIX C für eine detaillierte Beschreibung der klinischen Beobachtungen und unerwünschten Ereignisse entnommen werden.

	<b>PBSP (Sealing Device) (n = 6)</b>	<b>Veriset Kontrolle (n = 6)</b>	<b>Chirurgische Kontrolle (n = 7)</b>
<b>Diarrhoen</b>		1	3
<b>Fieber</b>			1
<b>Wundinfektion / Wunddehiszenz</b>	1	2	2
<b>Übelkeit / Appetitlosigkeit</b>		1	
<b>Dyspnoe/ Pneumonie</b>	1	1*	
<b>Peritonitis</b>	1*		
<b>TOTAL</b>	3	5	6

**Tabelle 7 Klinische Beobachtungen / Unerwünschte Ereignisse; \*weist auf eine klinisch relevante Beobachtung hin, die zu einer vorzeitigen Beendigung führt**

#### 5.4.2 Pankreasversuch

Während der Studie wurden 31 unerwünschte Ereignisse berichtet. 18 unerwünschte Ereignisse traten während der Modellentwicklungsphase bei 9 verschiedenen Tieren auf. Davon waren 2 schwerwiegende unerwünschte Ereignisse verfahrensbedingt. Keine war materialbezogen.

8 unerwünschte Ereignisse traten in der Vergleichsgruppe des PBSP (Sealing Device) bei 6 Tieren auf. Eine davon war schwerwiegend (Tiermodellbezogen; Euthanasie am 5. Tag aufgrund höchstwahrscheinlich Darmtorsion. Der Tierarzt und die Chirurgen konnten die genaue Krankheitsursache des Tieres nicht identifizieren. In dieser Gruppe traten keine verfahrens- oder materialbezogenen unerwünschten Ereignisse auf.

In der chirurgischen Kontrollgruppe traten bei 4 Tieren 5 unerwünschte Ereignisse auf. 3 dieser Ereignisse waren schwerwiegend, 2 davon führten zu Euthanasie und eines zum spontanen Tod. Der Spontantod wurde als tiermodellbedingt (fehlgeschlagene Behandlung des Pankreasdefekts) und die anderen als verfahrensbedingt klassifiziert.

Eine Übersicht über unerwünschte Ereignisse finden Sie in Tabelle 8 unten. Unerwünschte Ereignisse werden ausführlich in Abschnitt APPENDIX E beschrieben.

	<b>Modellentwicklungs- gruppe (n = 10)</b>	<b>PBSP (Sealing Device) Vergleichsgruppe (n = 7)</b>	<b>Chirurgische Kontrollgruppe (n = 7)</b>
<b>Diarrhoen</b>	2	1	
<b>Abgeschlagenheit/ unglücklich</b>	5*	1	1
<b>Verminderte Nahrungsaufnahme</b>	4	2	
<b>Ileus</b>			1***
<b>ZVK Verlust</b>		3	
<b>Schwere erholung nach OP</b>	2		1
<b>Chirurgischer Schaden</b>	1		
<b>Wunddehiszenz / Schwellung / Hämatom</b>	4		1***
<b>Dünndarmtorsion</b>		1**	
<b>Behandlungsversagen</b>			1***
<b>GESAMT davon ernsthafte</b>	<b>18 1</b>	<b>8 1</b>	<b>5 3</b>

**Tabelle 8 Unerwünschte Ereignisse**

\* 2 von 5 waren ernst; 1 führt zur Euthanasie

\*\* Schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis; was zur Euthanasie geführt hat

\*\*\* Schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis, das zu einer frühen Euthanasie geführt hat

#### 5.4.3 Blutungsversuch

Insgesamt wurden während der Studie 10 unerwünschte Ereignisse berichtet.

Es gab 5 materialbezogene schwerwiegende unerwünschte Ereignisse: 3 in der TachoSil-Gruppe und 2 in der Veriset-Gruppe. Alle SUEs in der TachoSil-Gruppe beinhalteten eine unzureichende Leistung des Hämostyptikums intra- und/oder postoperativ, von denen eines zu einer vorzeitigen Euthanasie des Tieres und eines zu einer Protokollabweichung führte, die das Tier in die PBSP (Sealing Device)-Gruppe wechselte. Das dritte Tier befand sich in einem schlechten Gesundheitszustand, blieb aber bis zur geplanten Beendigung am Leben. Beide SUE in der Gruppe wurden aufgrund einer schlechten Leistung des TachoSil Patches (keine Blutungskontrolle) vorzeitig beendet, eine intraoperativ und eine nach dem ersten postoperativen Tag.

Alle anderen unerwünschten Ereignisse waren fast ernst und beinhalteten Appetitlosigkeit, Obstipation, rote Flecken auf der Leber, die auf Hämangiom, Fieber oder Wundinfektion hindeuteten, die entweder mit dem Tiermodell oder dem Verfahren in Zusammenhang standen.

Eine Übersicht über alle unerwünschten Ereignisse finden Sie in Tabelle 9 unten und Abschnitt APPENDIX H für eine detaillierte Beschreibung sowie die Einstufung und den Zusammenhang von klinischen Beobachtungen und unerwünschten Ereignissen.

	<b>Veriset Gruppe (n = 5)</b>	<b>TachoSil Gruppe (n = 2)</b>	<b>PBSP (Sealing Device) Gruppe (n = 5)</b>
<b>Obstipation</b>	1	0	0
<b>Appetitlosigkeit</b>	0	0	1
<b>Ausschlag</b>	0	0	1
<b>Wundinfektion</b>	0	0	0
<b>Blutungen (intra-op)</b>	1*	2*	0
<b>MOV</b>	1*	0	0
<b>AZ Minderung / Fieber</b>	1	1	1
<b>TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>

**Tabelle 9 Klinische Beobachtungen / unerwünschte Ereignisse**

\*indicates a clinically relevant observation resulting in premature termination or switch to different treatment group (protocol deviation)

#### 5.4.4 Degradationsversuch

Bei allen Tieren wurden siebzehn unerwünschte Ereignisse berichtet.

Unter den unerwünschten Ereignissen gab es ein klinisch relevantes schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis. Tier 3.1 entwickelte am Tag 10 nach der Operation (19. Mai 2018) eine Wunddehiszenz in allen Schichten der Laparotomiewund (Platzbauch). Die Milz ragte aus der Wunde und es gab einen großen Blutverlust. Aufgrund des geschwächten Zustands des Schweins und des enormen Risikos, eine Peritonitis zu entwickeln, wurde die Entscheidung getroffen, das Tier 3.1 10 Tage nach der Operation einzuschläfern. Es gab keine Hinweise auf eine Wundinfektion, die Dehiszenz wurde vermutlich durch ein postoperatives Trauma verursacht. Gewebeproben wurden für die Histologie gesammelt.

Darüber hinaus gab es 4 materialbezogene unerwünschte Ereignisse während der Applikation der Patches, bei denen die Patches falsch platziert oder während der Applikation verschoben wurden. Alle 4 Fälle führten dazu, dass der PBSP die Blutung intraoperativ nicht beendete, wofür ein zweites Patch über das ursprüngliche Patch gelegt wurde, um die Blutung erfolgreich zu stoppen. Diese unerwünschten Ereignisse wurden als „nicht schwerwiegend“ bezeichnet.

Eine Übersicht der unerwünschten Ereignisse finden Sie in Tabelle 10 unten und in Abschnitt APPENDIX M für eine detaillierte Beschreibung sowie die Einstufung und den Zusammenhang von klinischen Beobachtungen und unerwünschten Ereignissen.

	<b>2- Wochen FU Gruppe (n = 3)</b>	<b>3-Monate FU Gruppe (n = 2*)</b>	<b>6- Monate FU Gruppe (n = 3)</b>	<b>12-Monate FU Gruppe (n = 3)</b>	<b>15-Monate FU Gruppe (n = 3)</b>
<b>Diarrhoen</b>	0	1	0	0	1
<b>Appetitlosigkeit</b>	0	0	0	0	3
<b>Wundinfektion/ Platzbauch</b>	0	1*	0	0	0
<b>Blutungen (intra- OP)</b>	0	1	2	1	1

<b>Schlechte Erholung post OP</b>	0	0	0	1	0
<b>Träge/ Fatigue</b>	0	0	0	0	2
<b>Other**</b>	0	0	1	0	2
<b>TOTAL</b>	0	3	3	2	9

**Tabelle 10 Klinische Beobachtungen/Unerwünschte Ereignisse**

\*weist auf eine klinisch relevante Beobachtung hin, die zu einer vorzeitigen Beendigung führt; daher wurden nur 2 Tiere für die 3-Monats-Nachbeobachtung gemeldet.

\*\* Andere Beschreibung des unerwünschten Ereignisses: Versehentliches Verbrennen der Haut während der Operation; Augen Irritation; oberflächliche Wunde von einem Biss bis zur Schulter.

## 5.5 Labor- und Drainagesekretparameter

### 5.5.1 Postoperative Galleleckage

Die Gallenleckage wurde durch Vergleich der Bilirubinspiegel in der Drainageflüssigkeit mit den Bilirubinspiegeln im Blut bewertet. Repräsentative Flüssigkeiten wurden an Tag 7 während der Nekropsie gesammelt, da die meisten Drainagen durch Fibrinstränge im Rahmen der Wundheilung und Schmutz blockiert waren und deshalb an Tag 3 und Tag 7 während der Nachuntersuchung keine Flüssigkeit gesammelt werden konnte, siehe Abschnitt 5.1.1.

Die chirurgische Kontrollgruppe und der PBSP zeigten an Tag 7 vergleichbare Bilirubinspiegel in den Bauchflüssigkeiten. Veriset zeigte an Tag 7 signifikant höhere Bilirubinspiegel ( $p < 0,10$ , 95 % Konfidenzintervall und 95 % Zuverlässigkeit) im Vergleich zu den anderen Gruppen.

Tag	PBSP (Sealing Device) (n=6)				Veriset control (n=6)				Surgical control (n=7)			
	Blut (mg/dl)		Drain. (mg/dl)		Blut (mg/dl)		Drain. (mg/dl)		Blut (mg/dl)		Drain. (g/dl)	
	Mean	Stdev.	Mean	Stdev.	Mean	Stdev.	Mean	Stdev.	Mean	Stdev.	Mean	Stdev.
1	0.197	0.041	N/A	N/A	0.178	0.010	N/A	N/A	0.212	0.083	N/A	N/A
3	0.150	0.039	0.261	0.125	0.171	0.10	0.278	0.159	0.159	0.077	0.186	0.115
7	0.171	0.017*	0.895	0.733	0.180	0.045	15.180	15.342	0.166	0.016	1.198	1.902

**Tabelle 11 Bilirubinspiegel in Blut und Drainageflüssigkeiten**

\* weist auf zwei fehlende Werte aufgrund von Hämolyse hin

Aufgrund fehlender Daten (Hämolyse in den Referenzblutproben) konnten für Tag 7 von Tier Nr. 11 und 13 keine Bilirubinwerte im Blut gemessen werden. Dies hat keinen

signifikanten Einfluss auf die Studie, da die Gesamtbilirubinspiegel im Blut aller Tiere vergleichbar sind und eine geringe Varianz aufweisen.

### 5.5.2 Postoperative Pankreasfistel (POPF)

Die hämatologischen und biochemischen Ergebnisse an Tag 3, 5 und 7 der Modellentwicklungsgruppe ohne Patch (P01-05) weisen darauf hin, dass das Modell tatsächlich in der Lage ist, nach der Operation konsequent eine Pankreasfistel auszubilden. Alpha-Amylase und Lipase, gemessen im Serum, sind höher im Vergleich zum Ausgangswert.

Da es in diesem Modell kein Referenzmaß gibt, kann dieser relative Anstieg als Hinweis auf eine Pankreasleckage gewertet werden. Siehe für Datentabelle 12-1 unten.

	Day 0.1 (pre-surgery)	Day 0.2 (post-surgery)	Day 3	Day 5	Day 7
<b>Alpha amylase (Serum)</b>	1836 ± 781	1908 ± 416	3381 ± 2337	2313 ± 416	2310 ± 461
<b>Lipase (Serum)</b>	7.4 ± 0.9	10.4 ± 3.5	32.7 ± 29.1	17.0 ± 8.3	32.0 ± 44.9

**Tabelle 12-1 Alpha-Amylase- und Lipase-Messwerte im Serum Modellentwicklungsphase (P01-P05)**

Blut wurde zu Studienbeginn und 3, 5, 7, 10 und 14 Tage nach der Operation für die Tiere in der Vergleichsgruppe gesammelt und analysiert. Hämatologische und biochemische Messungen wurden analysiert und Mittelwerte und Standardabweichungen für die Gruppen des PBSP's und der chirurgischen Kontrollgruppe sind in den folgenden Tabellen 12-2 und 12-3 zusammengefasst.

		Day 0.1 (pre-surgery)		Day 0.2 (post-surgery)		Day 3		Day 5		Day 7		Day 10		Day 14	
		Mean	Stdev	Mean	Stdev	Mean	Stdev	Mean	Stdev	Mean	Stdev	Mean	Stdev	Mean	Stdev
Leuco-cytes	Sealing Device	17.6	2.8	17.2	2.2	20.4	6.5	20.7	0.7	23.8	5.2	27.1	8.1	23.3	7.6
	Surgical control	20.2	3.6	21.0	6.6	20.8	5.0	19.1	4.7	21.1	3.2	20.1	5.2	18.1	2.9
Ery-throcytes	Sealing Device	6.6	0.3	6.0	0.3	6.5	0.7	6.3	0.3	6.0	0.3	6.3	0.6	5.9	0.4
	Surgical control	6.5	0.2	6.1	0.6	7.1	0.6	7.0	0.5	6.9	0.2	6.7	0.8	6.6	0.5
Hemo-globin	Sealing Device	108.7	4.2	100.4	3.8	108.0	11.2	104.3	10.1	98.4	5.3	100.4	7.6	94.0	7.3
	Surgical control	108.9	5.8	101.8	13.1	118.0	13.8	115.0	9.1	113.8	10.0	108.0	11.5	106.8	1.7
Hema-tocrit	Sealing Device	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0
	Surgical control	0.3	0.0	0.3	0.0	0.4	0.0	0.4	0.0	0.4	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0
AST	Sealing Device	36.6	10.2	33.6	8.9	141.2	138.8	146.5	21.5	104.0	30.8	80.2	21.4	71.8	32.5
	Surgical control	34.0	6.9	40.5	24.1	51.0	13.8	45.4	8.0	46.4	9.1	46.0	7.5	53.4	20.8
ALT	Sealing Device	94.6	16.7	83.7	16.1	139.7	95.9	130.0	82.2	97.8	48.0	81.6	27.8	100.2	35.9
	Surgical control	77.7	24.5	73.3	27.0	88.8	32.4	82.8	20.3	78.0	13.9	78.0	21.7	79.6	11.3
AST/ALT ratio	Sealing Device	0.4	0.1	0.4	0.1	0.9	0.5	1.0	0.5	1.3	0.7	1.2	0.8	0.7	0.2
	Surgical control	0.5	0.1	0.6	0.2	0.6	0.2	0.6	0.2	0.6	0.1	0.6	0.1	0.7	0.2
Bilirubin (compl.)	Sealing Device	2.5	0.4	2.7	0.3	2.9	0.4	2.5	0.1	2.8	0.4	2.8	0.3	2.9	0.4
	Surgical control	2.9	0.4	3.4	0.7	2.7	0.2	2.7	0.2	2.8	0.2	2.6	0.1	2.3	1.3
Bilirubin (direct)	Sealing Device	0.6	0.3	0.4	0.1	0.4	0.2	0.3	0.1	0.4	0.2	0.4	0.1	0.5	0.2
	Surgical control	0.4	0.3	0.8	0.5	0.4	0.2	0.2	0.1	0.4	0.1	0.4	0.2	0.2	0.1
LDH	Sealing Device	675.3	125.4	622.3	127.8	863	451	789	295	875.2	171.5	612.6	93.3	790	263
	Surgical control	619.0	90.3	732.0	452.0	647.2	186.8	527.2	104.7	633.8	102.2	697.8	93.7	765	236
CRP*	Sealing Device	99.8	68.5	102.6	65.0	147.6	5.3	126.4	52.8	123.7	58.7	131.3	41.9	146.7	7.3
	Surgical control	76.5	26.4	79.0	36.7	150.0	0.0	150.0	0.0	150.0	0.0	150.0	0.0	150.0	0.0
Creatinin	Sealing Device	108.4	10.5	106.4	9.3	106.0	8.2	91.3	10.1	90.6	5.4	3.5	1.0	3.1	0.5
	Surgical control	132.4	27.1	134.2	44.2	123.8	20.0	118.8	25.4	117.8	26.5	115.5	25.4	110.2	19.3
Ureum	Sealing Device	2.9	0.7	2.8	0.7	3.4	1.6	3.0	1.0	3.7	1.2	3.5	1.0	3.1	0.5
	Surgical control	3.5	0.9	3.5	0.9	3.4	0.6	3.8	0.8	3.7	0.5	4.2	1.4	4.6	1.1
Natrium	Sealing Device	138.9	3.2	139.4	2.2	140.7	1.0	140.0	1.4	141.2	2.4	112.7	60.5	138.8	2.9
	Surgical control	139.0	1.7	140.0	2.1	140.6	1.5	142.0	1.2	141.2	1.6	141.3	3.1	141.8	2.3
Kalium	Sealing Device	4.0	0.2	4.2	0.2	4.3	0.4	4.4	0.3	4.4	0.3	4.1	1.0	4.5	0.5
	Surgical control	4.2	0.3	4.3	0.4	4.3	0.3	4.4	0.2	4.4	0.3	4.5	0.3	4.2	0.3
Calcium	Sealing Device	2.5	0.1	2.5	0.0	2.3	0.0	2.4	0.1	2.4	0.1	2.1	0.7	2.4	0.2
	Surgical control	2.5	0.1	2.4	0.1	2.3	0.1	2.3	0.1	2.4	0.0	2.4	0.1	2.4	0.1
Mag-nesium	Sealing Device	0.9	0.0	0.9	0.0	0.8	0.1	0.8	0.1	0.9	0.1	20.1	43.0	0.9	0.1
	Surgical control	0.9	0.1	0.9	0.0	0.9	0.0	0.9	0.0	0.9	0.1	0.9	0.1	0.9	0.1
Chloride	Sealing Device	99.0	3.9	99.0	2.6	101.7	1.8	101.0	1.4	99.0	1.0	80.2	43.3	98.4	1.7
	Surgical control	99.9	1.6	100.2	1.9	103.0	1.7	101.8	1.5	100.8	1.8	99.5	2.7	100.8	1.5
Alpha-amylase blood	Sealing Device	2122	659	1874	536	2045	820	2132	697	2029	716	2047	797	2117	668
	Surgical control	2799	399	2571	489	2913	575	2901	528	2884	420	2745	798	2980	504
Lipase blood	Sealing Device	6.7	0.8	7.8	0.7	14.2	6.3	11.8	2.2	9.0	1.2	8.2	0.8	8.0	0.0
	Surgical control	12.0	7.3	11.8	5.7	5.6	7.4	12.2	4.9	9.2	1.3	7.8	0.8	7.6	0.5
Alpha-amylase drain	Sealing Device	NA	NA	NA	NA	1969	382	1857	264	2248	320	1969	629	1319	780
	Surgical control	NA	NA	NA	NA	1852	640	1660	715	1343	679	1189	952	935	728
	Sealing Device	NA	NA	NA	NA	19.0	2.8	15.5	4.9	10.6	1.4	20.6	27.4	4.0	2.8



Lipase drain	Surgical control	NA	NA	NA	NA	23.6	10.3	5.7	7.2	1.8	12.3	9.4	9.0	16.4	13.6
--------------	------------------	----	----	----	----	------	------	-----	-----	-----	------	-----	-----	------	------

**Tabelle 12-2 hämatologische und biochemische Ergebnisse**

	Day 3	Day 5	Day 7	Day 10	Day 14
<b>Alpha-amylase serum</b>	<b>0.05</b>	0.1	<b>0.05</b>	0.20	<b>0.05</b>
<b>Alpha-amylase drain*</b>	0.75	0.5	<b>0.02</b>	0.17	0.5
<b>Lipase serum</b>	0.58	0.9	0.81	0.47	0.19
<b>Lipase Drain**</b>	0.41	0.4	0.23	0.40	0.08

**Tabelle 12-3 Vergleich der primären Ergebnisindikatoren Pankreasfistel**

(ANOVA zwischen Sealing Device Group und Surgical Control Group); *p* 0,05 ist signifikant (fett markiert).

\* Alpha-amylase drain: Day 3 N = 10; Day 5 N = 8; Day 7 N = 11; Day 10 N = 9; Day 14 N = 9.

\*\* Lipase drain: Day 3 N = 10; Day 5 N = 8; Day 7 N = 10; Day 10 N = 9; Day 14 N = 9



Die Laborergebnisse im Follow-up für die PBSP Gruppe weisen auf einen normalen postoperativen Erholungsprozess nach Pankreaslinksresektion, die mit einem PBSP in einem Schweinmodell behandelt wurde hin. Es gibt keine Bedenken oder unerwarteten Ergebnisse, die auf eine Krankheit hinweisen. Zusätzlich zu den Parametern im Protokoll wurden Parameter (z. B. Natrium, Chlorid) im Rahmen der Standardbewertung bewertet, wie von der tierärztlichen Einrichtung zur Bewertung der Tiergesundheit angegeben. Hämoglobin-, Hämatokrit- und HBE-Werte liegen bei der Nachuntersuchung unter der Referenzindikation, während die aus den Drainagen gemessenen alkalischen Phosphatase und Alpha-Amylase/Lipase zu hoch sind. Diese Ergebnisse sind in der Nachsorge nach größeren Eingriffen an der Bauchspeicheldrüse zu erwarten.

Die Laborergebnisse in der chirurgischen Kontrollgruppe weisen auf einen normalen postoperativen Erholungsprozess nach Pankreaslinksresektion in einem Schweinmodell hin. Es gibt keine Bedenken oder unerwarteten Ergebnisse, die auf eine Krankheit hinweisen. Leukozyten, Hämoglobin und Hämatokrit liegen im Follow-up unter dem Referenzmaßstab, während AST, ALT und Alpha-Amylase gemessen aus den Drainagen zu hoch sind. Der CRP Wert war in dieser Gruppe im Follow-up aufgrund fehlender Daten nicht repräsentativ. 3 und 14 Tage nach der Operation ist der Alpha-Amylase-Spiegel im Blut in der chirurgischen Kontrollgruppe signifikant höher als in der PBSP (Sealing Device) Gruppe ( $p = 0,05$ ), zu anderen Zeitpunkten sind diese Werte in der chirurgischen Kontrollgruppe höher aber der Unterschied ist nicht signifikant. Diese Daten können darauf hindeuten, dass bei der chirurgischen Kontrollgruppe im Vergleich zur PBSP Gruppe ein höherer Pankreassaftaustritt auftritt. Die Serum-Lipase-Spiegel sind im Durchschnitt zwischen beiden Gruppen zu allen Zeitpunkten gleich.

Während der Nachbeobachtung waren Hämoglobin, Hämatokrit und Kreatinin in der chirurgischen Kontrollgruppe signifikant niedriger als in der Gruppe mit dem PBSP ( $p = 0,00$ ). AST, ALT und AST/ALT-Verhältnis sind in der chirurgischen Kontrollgruppe signifikant höher als in der Gruppe mit dem PBSP ( $p = 0,00 - 0,01$ ). Diese Ergebnisse zeigen, dass die Tiere, welche mit dem PBSP versorgt wurden, im Durchschnitt

weniger gesundheitliche Probleme im Zusammenhang mit Blutverlust und Leberfunktion während der Nachuntersuchung haben, als die Tiere in der chirurgischen Kontrollgruppe. Andere Blutmessergebnisse liegen innerhalb der Referenzbereiche für beide Gruppen und unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen.

Hinsichtlich der Drainagemaßnahmen gibt es in der Literatur keine Referenzwerte für Schweine, bei denen erhöhte Alpha-Amylase-Werte als klinisch signifikant angesehen werden. Die Alpha-Amylase scheint bei allen Folgemessungen für beide Gruppen stark erhöht zu sein. Lipase ist bei allen Folgemessungen für beide Gruppen erhöht. Aufgrund von Komplikationen bei der Drainageentnahme (Drainage verklumpt, Drainage locker, keine Drainageflüssigkeit gesammelt) sind die Drainagedaten nicht zuverlässig und werden nicht weiter analysiert. Die makroskopischen, CT-Scans (APPENDIX F) und mikroskopischen Ergebnisse geben einen besseren und zuverlässigeren Eindruck von der Abdichtungswirkung des PBSP.

### 5.5.3 Postoperative Blutprobenentnahmen (Blutungsversuch)

Blut wurde zu Studienbeginn (präoperativ), 1, 2 und 3 Tage nach der Operation entnommen. Hämatologische und biochemische Messungen wurden analysiert und Mittelwerte und Standardabweichungen für die Gruppen des PBSP und Veriset sind in Tabelle 13 unten zusammengefasst. Zusätzlich zu den Parametern im Protokoll wurden zusätzliche Parameter (z. B. Natrium, Chlorid) im Rahmen der Standardbewertung bewertet, wie von der tierärztlichen Einrichtung zur Überwachung der Tiergesundheit angegeben. Daten für die Lipase- und Alpha-Amylase-Datenergebnisse aus den Drainageergebnissen wurden eingeschlossen, aber die verfügbaren Daten sind sehr gering. Alle Laborergebnisse für die TachoSil-Gruppe waren aufgrund der kleinen Gruppengröße und der großen Menge an fehlenden Daten nicht repräsentativ. Sie wurden daher nicht statistisch mit den anderen Gruppen verglichen. Im Durchschnitt waren die Gruppengrößen aufgrund fehlender Daten zu klein, um statistische Vergleiche durchführen zu können. Aufgrund unterschiedlicher Labordatenanfragen wurden die Werte für ACT, PT, PTT,  $\alpha$ PTT, Faktor Xa und Faktor V in den hämatologischen und biochemischen Laboranalysen nicht erhoben.

Im Rahmen dieser Studie sollte die Blutgerinnung durch Heparinisierung der Schweine beeinflusst werden. Dies sollte anhand von Blutgerinnungsparametern verifiziert werden. Leider wurden im Rahmen der Blutentnahme von H01-H07 die vom Labor (Synlab.vet) korrekt erhaltenen Gerinnungsparameter nicht ermittelt. Es wurde jedoch bestimmt, dass die PTT die Effizienz der Heparinisierung in einem Teil der Tiere (H08-H12) kontrolliert. Die Tiere, bei denen die PTT gemessen wurde, zeigten mindestens das Zwei- bis Vierfache der Werte vor der Heparinisierung (PTT-Mittelwert vor der Heparinisierung 38,75; PTT-Mittelwert nach der Heparinisierung 97,50; n = 4).

Insgesamt zeigen die hämatologischen und biochemischen Ergebnisse der Blutprobenentnahme eine normale Situation nach der Implantation eines Fremdkörpers in ein Leberblutungsmodell sowohl in der PBSP- als auch in der Veriset-Gruppe. Mit Ausnahme der ALT- und Bilirubin-Werte zu Studienbeginn gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Es wird nicht erwartet, dass diese signifikanten Unterschiede zu Studienbeginn einen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse in der Nachsorge nach der Operation haben. Während der Nachbeobachtung liegen im Durchschnitt alle Messungen innerhalb der Referenzwerte, mit Ausnahme von ALT und AST, die strukturell zu hoch sind, während HBE-, Hämoglobin- und Hämatokrit-Werte während der drei Tage der Nachbeobachtung zu niedrig sind. Diese Ergebnisse sind bei der Nachuntersuchung in einem Leberblutungsmodell zu erwarten.

Die Laborergebnisse im Follow-up für die PBSP-Gruppe zeigen einen normalen Erholungsprozess wie erwartet nach chirurgischer Induktion einer iatrogenen Blutung in der Leber in einem Schweinmodell. Es gibt keine Bedenken oder unerwartete negative Ergebnisse basierend auf den Laborergebnissen. Die Laborergebnisse in der Veriset-Gruppe zeigen auch eine normale Genesung nach chirurgischer Induktion einer iatrogenen Blutung in der Leber in einem Schweinmodell. Es gibt keine Bedenken oder unerwarteten Ergebnisse, die auf Krankheitsergebnisse hindeuten, mit Ausnahme von Tier H10 (Euthanasie 2 Stunden nach der Operation aufgrund schlechter Leistung der Patches). In beiden Gruppen sind ALT und AST während der

dreitägigen Nachbeobachtung strukturell zu hoch, während Hämoglobin- und Hämatokrit-Messwerte zu niedrig sind. Diese Ergebnisse sind nach einer Operation mit Induktion eines schweren Leberblutungsdefekts zu erwarten. Andere Ergebnisse liegen innerhalb der Referenzbereiche für beide Gruppen. Wie in den Abschnitten 5.3 und 5.4.3 erwähnt, wurde die TachoSil-Gruppe nicht in Nachfolgevergleiche eingeschlossen.

Die hämatologischen und biochemischen Mittelwerte sind in Tabelle 13 zusammengefasst. Die Auflistung der vollständigen Daten sind in Abschnitt APPENDIX I aufgeführt.

		T0.1		T0.2		T1		T2		T3	
		Mean	Stdev	Mean	Stdev	Mean	Stdev	Mean	Stdev	Mean	Stdev
Hemoglobin	Sealing Device	111,0	4,8	96,2	8,3	106,8	13,5	107,0	5,7	104,2	12,0
	Veriset	91,3	23,8	103,0	4,6	101,0	12,2	101,7	7,6	92,0	9,2
Hematocrit	Sealing Device	0,3	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0
	Veriset	0,3	0,1	0,3	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0
AST	Sealing Device	47,0	19,8	77,2	23,6	250,4	163,9	87,0	26,2	82,0	22,4
	Veriset	436,0	369,0	137,0	77,1	112,7	25,7	55,0	4,4	83,7	24,7
ALT	Sealing Device	81,5	15,0	72,0	16,0	119,3	43,4	110,2	16,4	103,0	12,0
	Veriset	143,5	63,3	124,3	28,6	115,0	24,9	100,3	23,5	80,0	17,4
Bilirubin (complete)	Sealing Device	3,9	1,2	3,8	1,2	4,9	2,0	2,7	0,8	2,8	0,5
	Veriset	4,4	1,4	2,7	0,4	2,7	0,1	2,5	0,2	4,3	1,1
Bilirubin (direct)	Sealing Device	0,9	0,4	0,9	0,4	1,2	0,7	0,6	0,3	0,4	0,2
	Veriset	1,1	0,5	0,5	0,2	0,4	0,2	0,4	0,0	1,2	0,8
Creatinin	Sealing Device	110,5	19,4	110,8	15,4	130,8	18,5	119,5	18,8	110,0	20,7
	Veriset	135,3	47,4	106,7	12,6	104,7	11,5	108,1	34,2	78,2	92,3
Alpha-amylase (drain)	Sealing Device	1987,0	50,5**	1150,0	352,0**	2791,0	968,0**	2772,0	843,0**	2212,0	554,0**
	Veriset	2587,0	NA*	2492,0	NA*	1952,0	NA*	2668,0	NA*	1911,0	240
Lipase (drain)	Sealing Device	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9,0	NA*	6,0	NA*
	Veriset	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Tabelle 13 Hämatologie und Biochemie Mittelwerte und Standardabweichungen – Sealing Device (PBSP) und Veriset Gruppen

\* Standardabweichung nicht verfügbar da  $n = 1$

\*\* begrenzte Daten verfügbar ( $n = 2$  or  $3$ )

#### 5.5.4 Postoperative Blutprobenentnahmen (Degradationsversuch)

Basierend auf vordefinierten hämatologischen und biochemischen Befunden/Ergebnisse zeigten postoperative laborchemischer Untersuchungen im Durchschnitt ein normales Erholungsmuster nach einer größeren Leberoperation mit Implantation der PBSP`s (Sealing Device) beim Schwein während der Nachbeobachtung von 15 Monaten. Es gibt einige Ausreißer bei den Ergebnissen bei den Tieren, die jedoch kein Muster liefern und es wird angenommen, dass sie durch die Varianz der Testmethode verursacht wurden. Die CRP-Werte sind jedoch zu allen Zeitpunkten hoch, da es jedoch keine Tumorsymptome oder klinischen Symptome für systematische Infektionen gab, wird davon ausgegangen, dass dies mit dem Tiermodell zusammenhängt. Insgesamt liegen die postoperativen Labormessungen innerhalb der Erwartungen und Referenzwerte und geben keinen Anlass zu Bedenken. Es gibt keine Hinweise auf einen negativen Einfluss des PBSP auf die systemische Funktion.

Tier 3.1 wurde aufgrund einer Wundinfektion vorzeitig eingeschläfert (Einzelheiten siehe Abschnitt 5.4.4). Bei der letzten Blutanalyse für dieses Tier zu T7 (7 Tage nach der Operation) lagen alle Blutmessungen innerhalb der Referenzwerte und gaben keine Bedenken auf. Das Tier wurde bei T10 (10 Tage nach der Operation) euthanasiert.

Ausführliche Informationen zur postoperativen Blutentnahme finden Sie in Tabelle 14 (nächste Seite) und Abschnitt APPENDIX N.





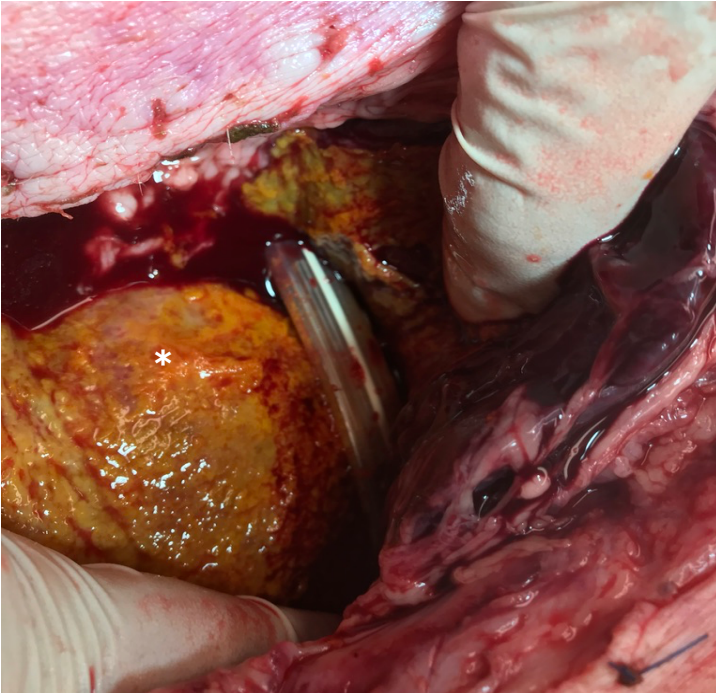
## 5.6 Nekropsie

### 5.6.1 Galleversuch

Fünf von sechs Tieren in der Veriset-Kontrollgruppe zeigten während der Autopsie ein Biliom (Gallenansammlung im Rahmen eines Gallelecks was zu schwerwiegenden Infektionen führt) (Abbildung 20), das als signifikanter Gallenverlust angesehen wird. In der chirurgischen Gruppe zeigten 6 Tiere kein Biliom, aber etwas fibröses Gewebe und eine leichte Entzündung (Abbildung 21), ein Tier zeigte ein Biliom. 5 Tiere in der Gruppe mit dem PBSP zeigten kein Biliom, der Patch bedeckte faseriges Gewebe, war ummauert von einer Fibrinkapsel und der Patch enthielt die Galle (Abbildung 22 und 23). In jeder Gruppe des PBSP und der chirurgischen Kontrolle wurde jeweils ein Biliom festgestellt. Während der Nekropsie wurden keine anderen Anomalien gefunden. Tabelle 15 fasst die Sektionsbefunde bezüglich Abszessen, Infektionen und Biliombildungen zusammen.

	<b>PBSP Sealing Device (n = 6)</b>		<b>Veriset Kontrolle (n = 6)</b>		<b>Chirurgische Kontrolle (n = 7)</b>	
	Anzahl	Proz.	Anzahl	Proz.	Anzahl	Proz.
<b>Leberabszesse</b>	0	0%	0	0%	2	28.6%
<b>Entzündungen</b>	0	0%	4	66.7%	4	57.1%
<b>Biliome</b>	1	16.7%	5	83.3%	1	14.3%

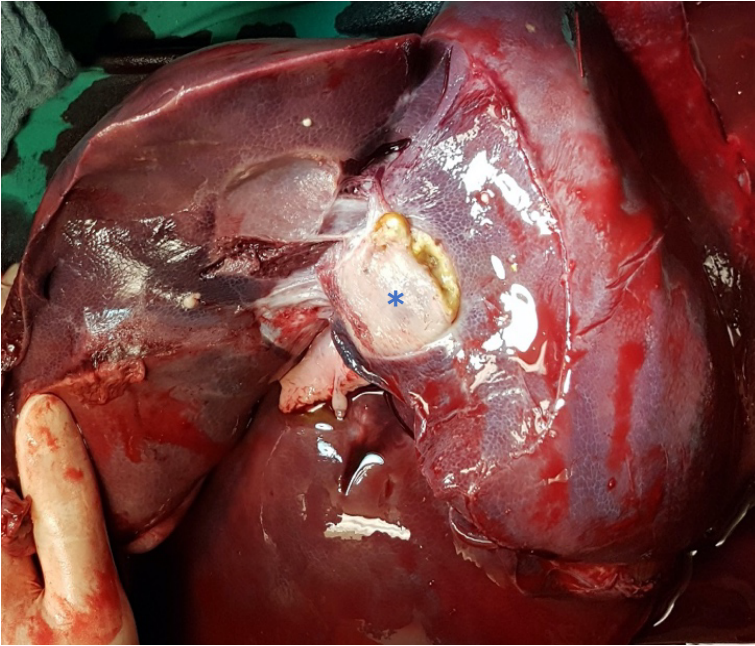
**Tabelle 15 Obduktionsbefunde**



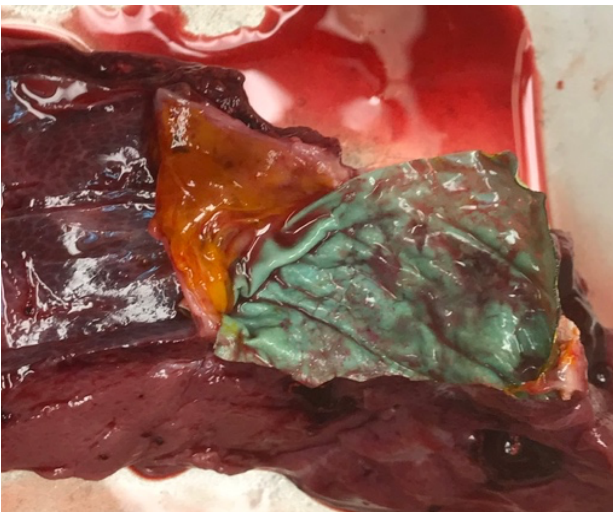
**(Abbildung 20 Foto eines Bilioms \* in der Veriset-Gruppe)**



**(Abbildung 21 „Fasergewebe“ als Zeichen der Wundheilung in der chirurgischen Kontrollgruppe)**



(Abbildung 22 eröffnete Fibrinkapsel, welche den PBS Patch umhüllt hatte)



(Abbildung 23 Patch liegt lose auf dem Defekt, nachdem die Faserkapsel in der PBSP Gruppe entfernt wurde.)

### 5.6.2 Pankreasversuch

Eine detaillierte Übersicht der Sektionsbefunde findet sich in Absatz APPENDIX D, Tabelle 16.

Die makroskopische Nekropsie in der Modellentwicklungsgruppe zeigte 5 Fälle von Flüssigkeitsansammlungen, hauptsächlich bei den ersten Tieren, als die Anwendungsmethode des PBSP entwickelt wurde. Es gab einen Fall von Patch-Dislokation (P07) in der Modellentwicklungsgruppe. Der Patch war noch am Pankreasstumpf, aber nicht mehr am Organ selbst befestigt. Der Patch ist jedoch nicht migriert. Es konnte nur ein Fall einer oberflächlichen Wundinfektion festgestellt werden. In zwei Fällen waren die Drainagen verklumpt oder disloziert.

In der Gruppe des PBSP gab es keine Fälle von sichtbarer Flüssigkeitsansammlung im Pankreasbereich. Dies wurde durch eine postmortale Computertomographie vor der Nekropsie (siehe für repräsentative CT-Scan-Bilder APPENDIX F) sowie visuell während der Nekropsie beurteilt. In drei Fällen hatte sich über dem Patch eine Fibrinkapsel gebildet. Hämatome, Pankreatitis oder schwere Infektionen traten nicht auf. Es wurden zwei kleine oberflächliche Infektionen der Wunde festgestellt. Es gab keine dislozierten Patches. In einem Fall waren die Drainagen disloziert. Es gab einen Fall von Darmischämie (P16), höchstwahrscheinlich im Zusammenhang mit den schweren Aufwachproblemen des Tieres.

In der chirurgischen Kontrollgruppe zeigten 5 von 7 Tieren eine mittelschwere bis schwere Pankreatitis. In drei Fällen war eine Flüssigkeitsansammlung im Pankreasbereich sichtbar. In 4 Fällen traten schwere Verwachsungen am Darm, Magen oder der Milz auf. Es wurden drei Hämatome gefunden. Es gab 2 schwere oberflächliche Wundinfektionen. Es wurde eine extreme Wunddehiszenz festgestellt, die zu einer vorzeitigen Beendigung des Tieres geführt hatte.



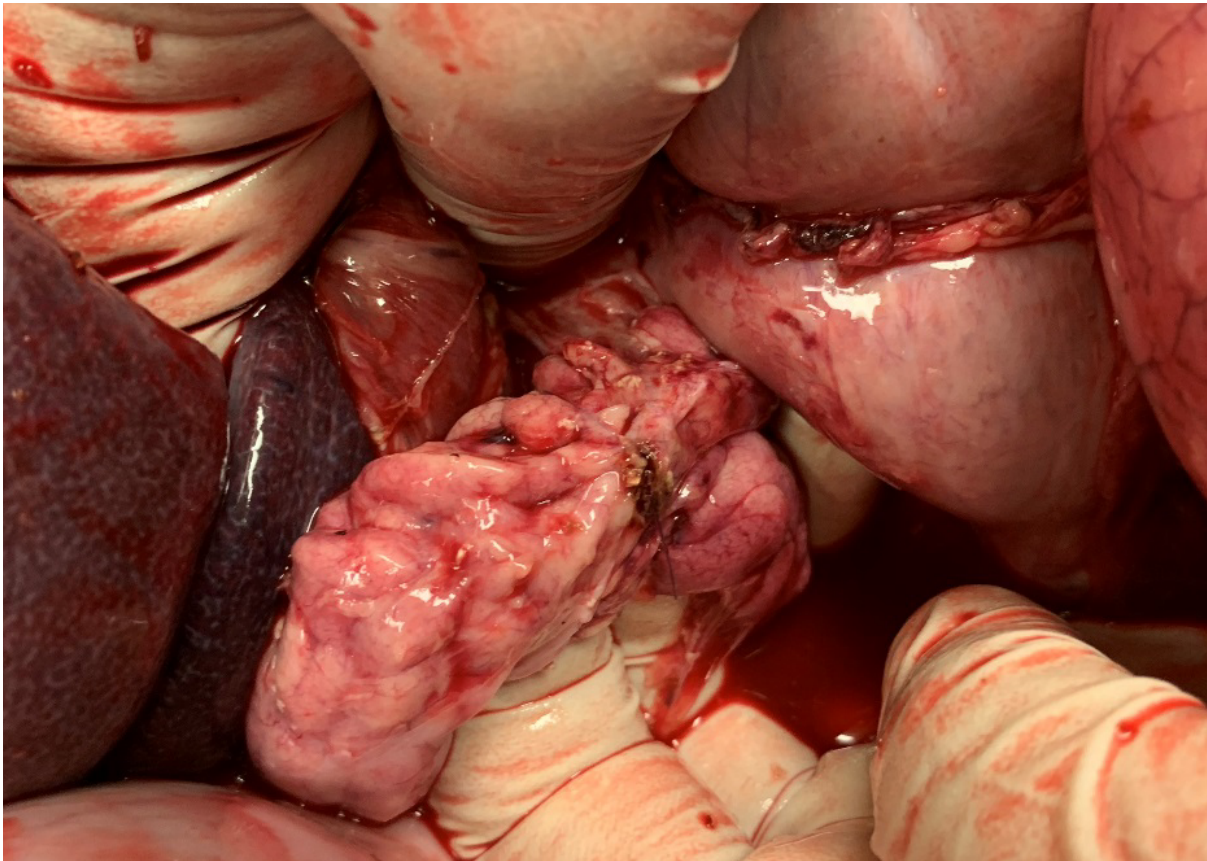
Die makroskopischen Befunde der Nekropsie sind in Tabelle 16 zusammengefasst.

<b>Nekropsieübersicht (Makroskopie)</b>	<b>Chirurgische Kontrollgruppe (n = 7)</b>	<b>PBSP (Sealing Device) Gruppe (n = 7)</b>
<b>Pankreatitis</b>	5	0
<b>Schwere Adhäsionen</b>	4	0
<b>Hämatome</b>	3	0
<b>Schwerwiegende Infektionen</b>	2	0*

**Tabelle 16 Übersicht makroskopischer Befunde**

\* In der Gruppe PBSP wurden 2 kleinere oberflächliche Wundadhäsionen festgestellt

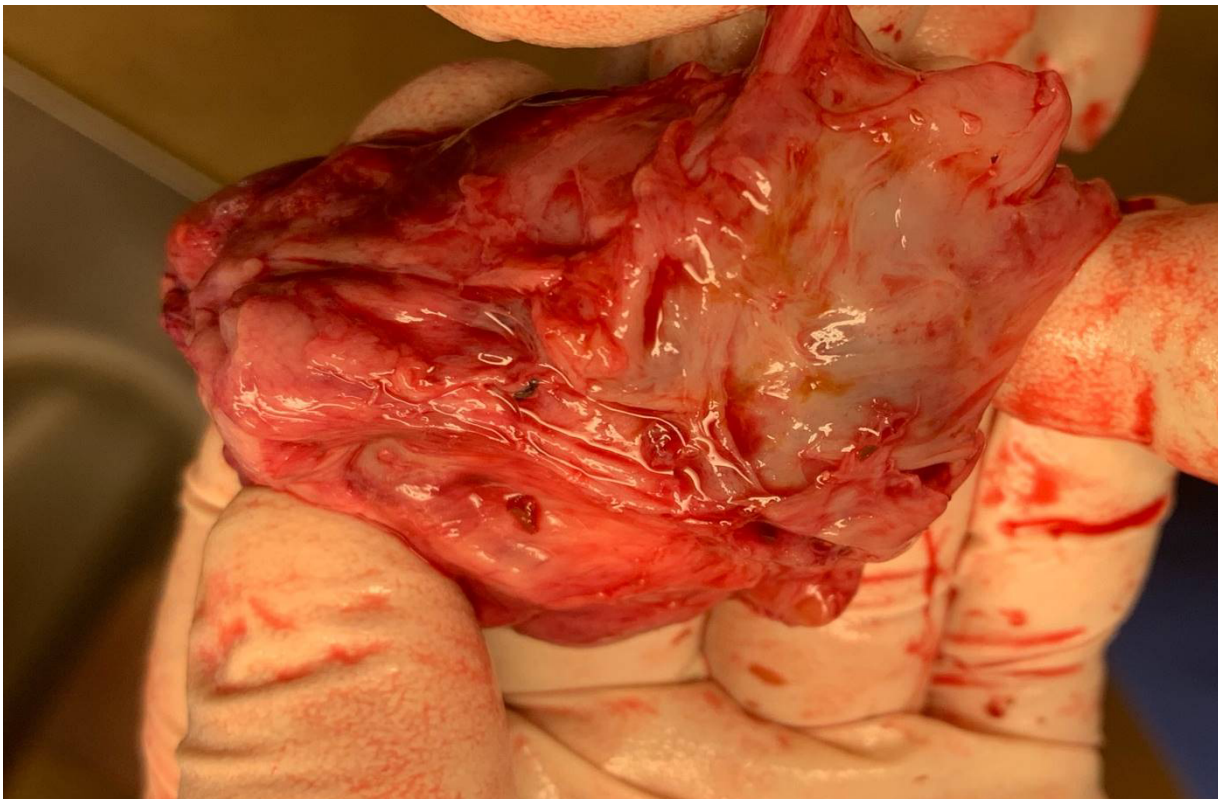
Repräsentative Bilder von den Nekropsiebefunden sind in den Abbildungen 24 bis 27 unten dargestellt.



**(Abbildung 24 Übersicht des Pankreas in der Modellentwicklungsgruppe mit ausgedehnter Pankreatitis-Bildung P2)**

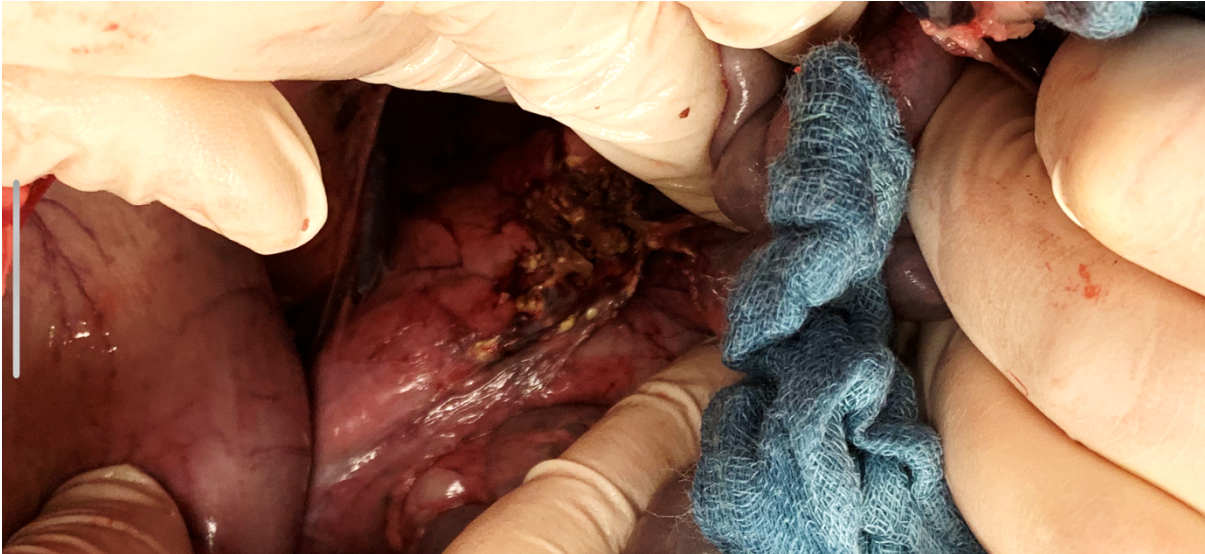


**(Abbildung 25 lokale und allgemeine Pankreatitis mit Flüssigkeitsansammlung in der Modellentwicklungsgruppe P1)**





**(Abbildung 26 Pankreaspräparat in der PBSP Gruppe mit Firbrinkapselschicht auf dem Patch und den Pankreasstumpf/ Wunde P14)**



**(Abbildung 27 Autopsie der Bauchspeicheldrüse in der chirurgischen Kontrollgruppe mit schwerer Pankreatitisbildung P24)**

### 5.6.3 Blutungsversuch

In der Gruppe des PBSP wurden bei der Nekropsie keine Biliome, Hämatome, Anzeichen einer Infektion oder Leberabszesse festgestellt. Bei Tier H12 wurde etwas Blut unter dem Patch gesammelt. Alle Patches waren noch an Ort und Stelle und dämmten die Blutung aus den Defekten während der postoperativen Nachsorge ausreichend ein. Alle Organe, welche im Rahmen der Autopsie analysiert wurden, waren sauber und es gab keine nennenswerten Auffälligkeiten.

In der Veriset-Gruppe zeigten 4 von 5 Tieren ein (großes) Hämatom an einer oder mehreren Defektstellen (3 retrohepatisch; eines sowohl retrohepatisch als auch retrosplenisch). Das fünfte Tier wurde vorzeitig euthanasiert und daher nicht in die Analyse eingeschlossen. Bei einem Tier, das über die vorgeschriebenen 3 Tage nachbeobachtet wurde, waren bei der Autopsie mehrere Patches nicht mehr an der Insertionsstelle platziert und sind im Rahmen der Nachbeobachtungszeit migriert.



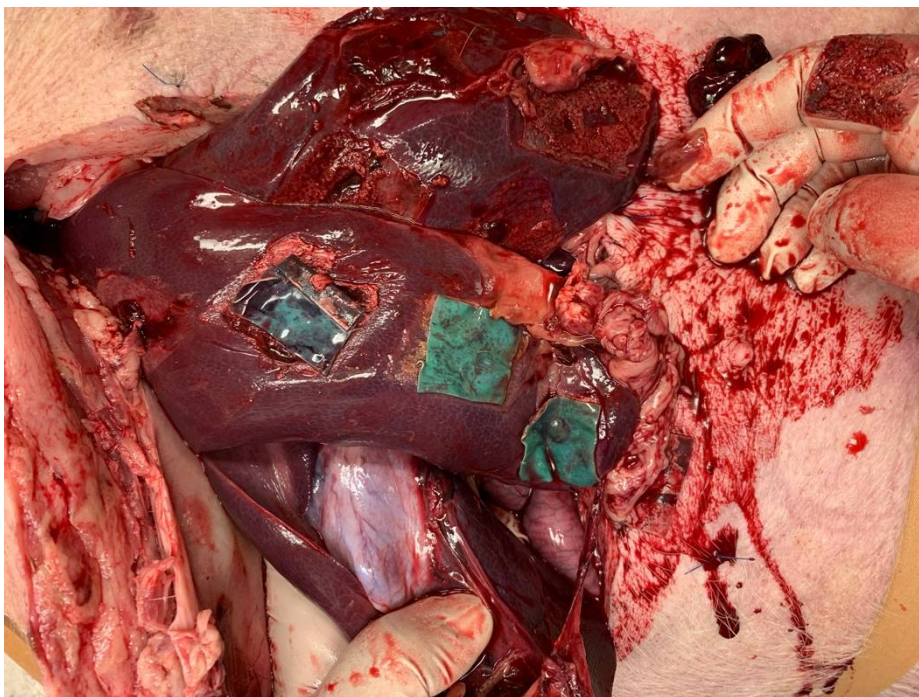
Das bei der Nekropsie eingeschlossene TachoSil-Tier (H03) zeigte mehrere Hämatome, kein Biliom, keinen Leberabszess oder Anzeichen einer Infektion. Mehrere Patches waren nicht mehr vorhanden.

Tabelle 17 fasst die makroskopischen Befunde für alle Gruppen zusammen. Abbildung 28-30 zeigen repräsentative Bilder, die die Leber bei der Autopsie für alle drei Gruppen zeigen.

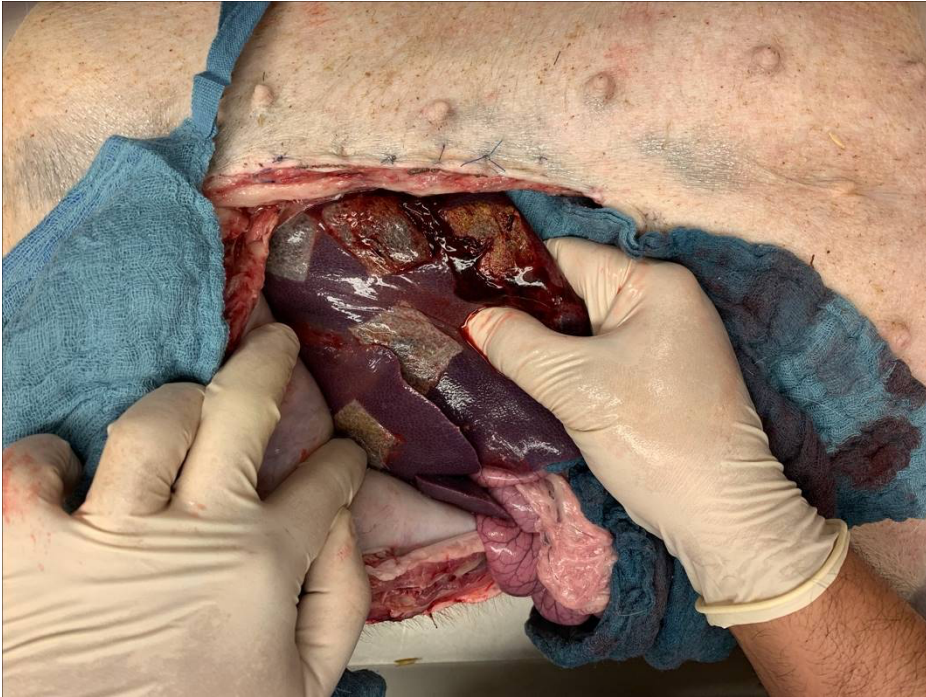
	PBSP (Sealing Device) (n = 5)		Veriset Kontrolle (n = 5)		TachoSil Kontrolle (n = 1)	
	Anzahl	Prozent. (%)	Anzahl	Prozent. (%)	Anzahl	Prozent. (%)
<b>Leberabszess</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Entzündungen</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Biliome</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Hämatome</b>	0	0	4*	80	1	100

\* In 4 verschiedenen Tieren

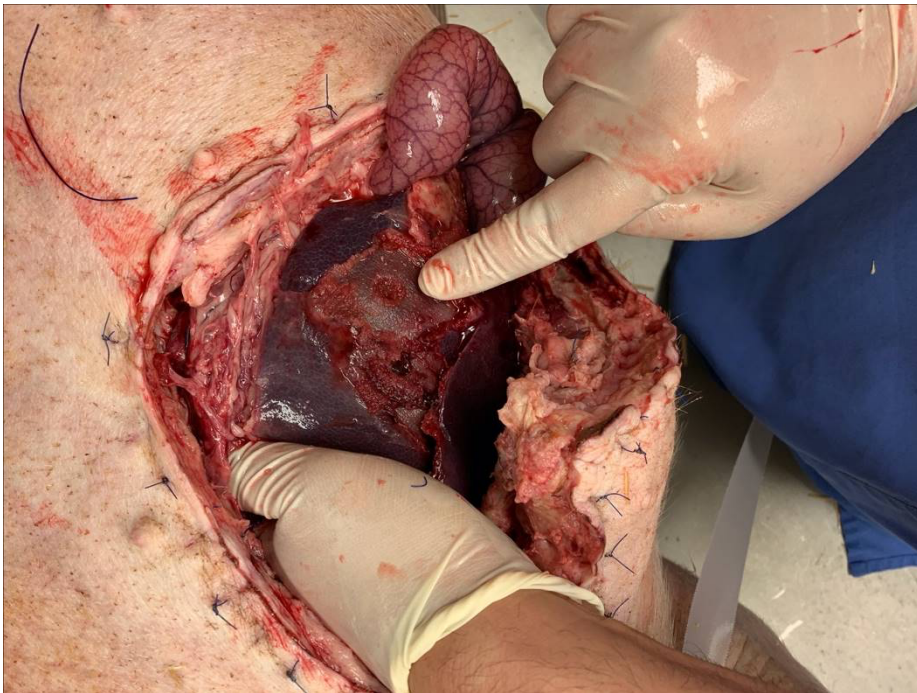
**Tabelle 17 Gesamtbefund der makroskopischen Sektion**



**Abbildung 28 Nekropsiebefund der PBSP Gruppe; Tier H1**



**Abbildung 29. Nekropsiebefund der TachoSil Gruppe; H3**



**Abbildung 30 Nekropsiebefund der Veriset Gruppe H4**

#### 5.6.4 Degradationsversuch

Die Nekropsiebefunde bei allen drei eingeschläferten Tieren nach 2 Wochen Follow-up waren sehr ähnlich. Alle Organe sahen normal aus, es gab keine Anzeichen einer Infektion oder abnormalen Entzündung in den Organen, außer bei den Tieren 1.2 und 1.3. Bei beiden Tieren gab es Anzeichen einer Infektion in der subkutanen Schicht der intramuskulären Taschen, die durch Elektrokauterisation hergestellt wurden. Die Taschen, die durch ein Proktoskopieapparat auf dilatiert wurden, wurden diese Wundinfektionen nicht beobachtet, sodass von einer ischämisch bedingten Wundinfektion auszugehen ist. Alle Patches waren an der ehemaligen Insertionsstelle befestigt vorhanden und waren, basierend auf visueller Beobachtung, nicht merklich abgebaut.

Bei der Nachbeobachtung nach 3 Monaten wurden aufgrund der vorzeitigen Beendigung von Tier 3.1 nur die Tiere 3.2 und 3.3 in die Analyse eingeschlossen. Alle Organe sahen normal aus, bei Tier 3.2 klebte die Leber leicht an der lateralen Bauchhöhlenwand an. Tier 3.3 zeigte bei klinischen Beobachtungen blutige Diarrhoen, bei der Obduktion gab es jedoch keine Anzeichen von einem Ileus oder anderweitigen entzündlichen Erkrankungen. Das Tier hatte aufgrund der Pentobarbital-Anwendung eine Splenomegalie. Die Patches waren immer noch an der Stelle des angebrachten Areal und waren, basierend auf visueller Beobachtung, nicht merklich abgebaut. Bei Tier 3.3 sind viele der am Rücken eingesetzten Clips höchstwahrscheinlich aufgrund von Muskelbewegungen auf die andere Seite des Rückens gewandert.

Im Rahmen der Nachuntersuchungszeit von 6 Monaten waren die Befunde bei allen drei Tieren sehr konstant. Alle Organe sahen normal aus und die Patches begannen sich zu zersetzen. Die weiße Klebeschicht schien resorbiert worden zu sein, während die Sperrschicht noch vorhanden war. Während der manuellen Manipulation des Patches war jedoch die Sperrschicht zerbrechlich und zerfiel leicht. Da die Schaumschicht resorbiert wurde, wurde basierend auf visueller Beobachtung während der Nekropsie geschätzt, dass ungefähr 50–75 % der Vorrichtung nach 6 Monaten abgebaut waren.

An der Leber hatte sich über dem Pflaster eine Fibrinkapsel gebildet, die jedoch nicht stark an der Barrierefolie haftete. Es wurde eine milde, gut organisierte Entzündungszellantwort ohne Anzeichen von Nekrose beobachtet. Alle Patches

wurden noch an der Stelle gefunden, an der sie am Lebergewebe eingesetzt wurden. Die PBSP`s waren eingekapselt, aber es gab keine starke Haftung der Patches am umgebenden Gewebe. Bei den intramuskulären Implantationspositionen konnten keine Patches, bedingt durch die Bewegung der Muskeln, an der genauen Stelle zurückverfolgt werden, an der sie ursprünglich eingesetzt wurden.

Auch bei der Nachuntersuchung nach 12 Monaten waren die Befunde bei allen drei Tieren sehr konstant. Alle Organe sahen normal aus und die Patches hatten sich weiter abgebaut. Die weiße Klebeschicht war resorbiert, während die türkisfarbene Sperrschicht stellenweise noch teilweise vorhanden, aber sehr fragil geworden war. Da die Schaumschicht resorbiert war und die türkisfarbene Schicht deutlich abgebaut und teilweise oder vollständig resorbiert war, wurde basierend auf visueller Beobachtung während der Nekropsie der Leber geschätzt, dass ungefähr 75–100 % der Patches abgebaut waren. Über den Patches auf dem Lebergewebe hatten sich einzelne Fibrinkapseln gebildet, die jedoch nicht stark an der Sperrschicht hafteten. Es gab keine Anzeichen einer Entzündung. Obwohl die Patches eingekapselt waren, gab es abgesehen von einigen leichten Anhaftungen keine starke Haftung der PBSP`s am umgebenden Gewebe, was für die Art der durchgeführten Operation typisch ist. Bei einem der Tiere (ID 12.3) wurde eine Hartgewebestruktur zwischen Leberparenchym und umgebendem Gewebe beobachtet. Die Histologie in Abschnitt 5.7.4 und Abbildung 53 bestätigten, dass diese Struktur kein nekrotisches Gewebe oder Mineralisierung enthielt und als unspezifische Gewebereaktion angesehen wurde. Bei den intramuskulären Implantationspositionen konnten keine Patches genau an der Stelle zurückverfolgt werden, an der sie eingesetzt wurden, was durch die Bewegung der Muskeln verursacht wurde.

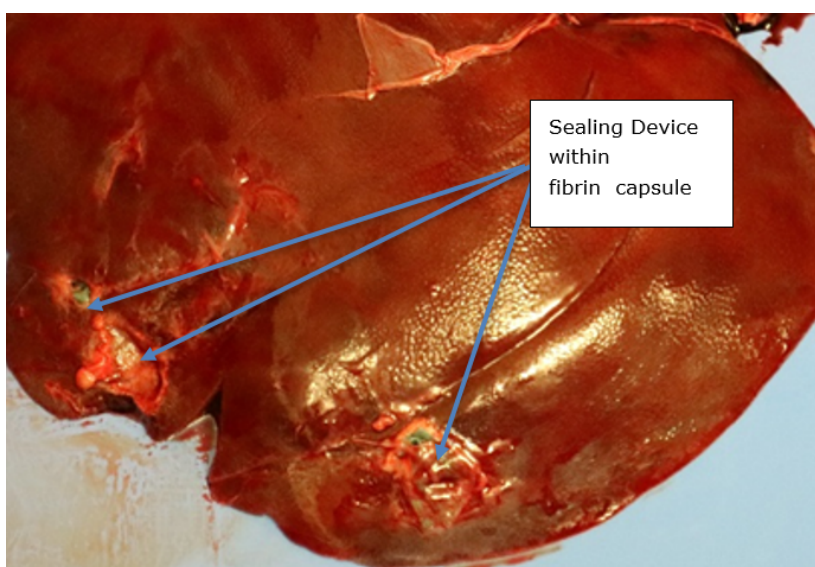
Bei der Nachuntersuchung nach 15 Monaten sahen von allen drei Tieren alle Organe normal aus. Bei einem Tier konnten keine Patches auf dem Lebergewebe zurückverfolgt werden, nur etwas fibröses Gewebe an der Stelle der ursprünglichen Leberdefekte konnte beobachtet werden und das Lebergewebe haftete an einem anderen Leberlappen (ID 18.1), was als normale Reaktion angesehen wird. Es wurden keine schweren Adhäsionen zwischen dem Lebergewebe und dem umgebenden Gewebe beobachtet. Bei den anderen beiden Tieren (ID 18.2 und 18.3) wurde an der Grenzfläche von Lebergewebe und dem parietalen Blatt des Peritoneums



verbleibendes Material beobachtet. Die verbleibenden Materialien wurden durch eine Fibrinkapsel von Peritoneum und der Leberstelle eingekapselt. Es wurden keine Adhäsionen mit anderen umgebenden Geweben beobachtet, abgesehen von den normalen Adhäsionen, die bei der Art der durchgeführten Operation beobachtet wurden. Basierend auf diesen drei Tieren wird geschätzt, dass in der Leber etwa 75-100% des Materials abgebaut wurden. Bei der intramuskulären Implantation wurden keine Patches mehr an der Stelle gefunden, an der sie eingeführt wurden, erwartungsgemäß aufgrund der Degradation der PBSP's und der Bewegung der Muskeln.

Zu allen Zeitpunkten haftete der PBSP an der Zieloberfläche, im Muskelgewebe jedoch wurde eine Migration der Patches aufgrund der Bewegung des Muskelgewebes beobachtet. Der PBSP haftet auf normale Weise am umliegenden Gewebe, wie es die Organe nach einer Bauchoperation tun, um die wundheilende Oberfläche der Organe bedecken und zu stabilisieren. Nach 14 Tagen wurde beobachtet, dass sich eine Fibrinkapsel über den Patches gebildet hatte. Die Fibrinkapsel selbst haftete nicht am umgebenden Gewebe und stabilisierte die Fixierung des PBSP am chirurgisch induzierten Gewebedefekt weiter.

Siehe Abbildung 31- 34 für repräsentative Bilder der Leber nach 2 Wochen, 3 Monaten, 6 Monaten und 12 Monaten Implantations- Follow-up der PBS Patches.



**Abbildung 31 Patches zum Versiegeln des Geräts, 2 Wochen Follow-up**



Abbildung 32 PBS Patches nach 3 Monaten Follow-up

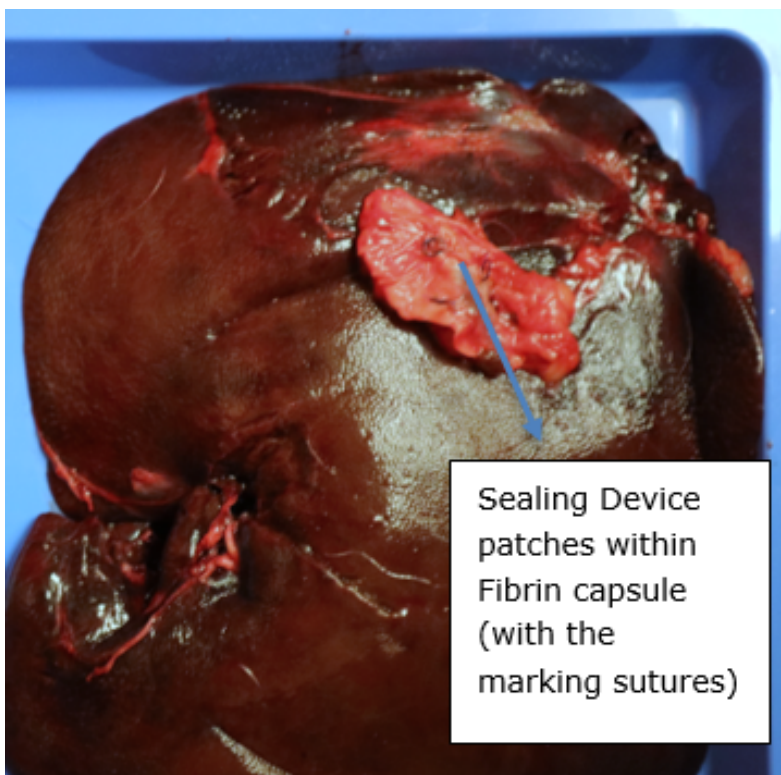
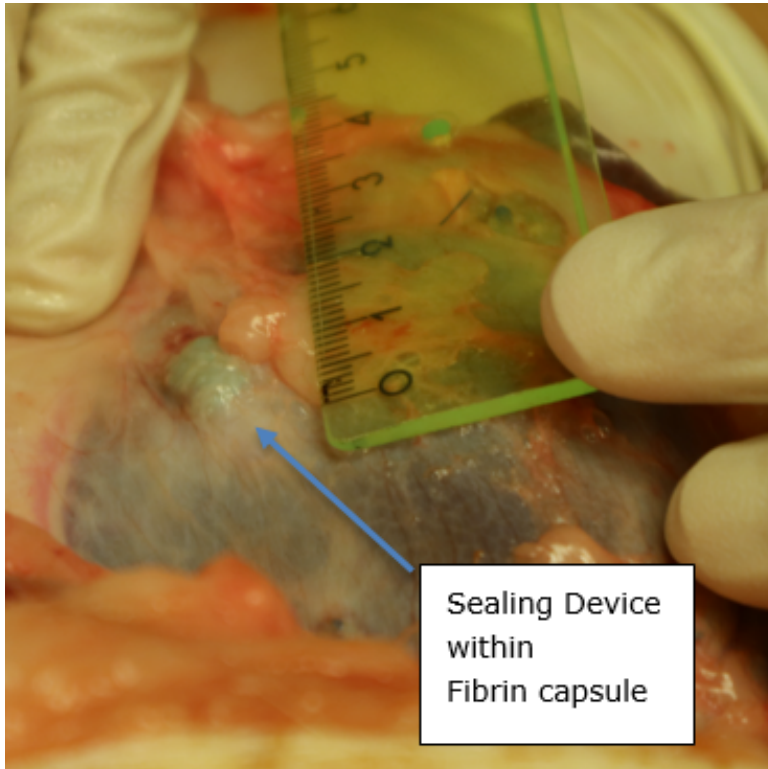


Abbildung 33 PBS Patches nach 12 Monaten Follow-up



**Abbildung 34 PBS Patches nach 15 Monate Follow-up**

## **5.7 Histopathologische Ergebnisse**

### **5.7.1 Galleversuch**

Die Proben wurden in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin- und Eosin-Färbung gefärbt und repräsentative Schnitte wurden für die histologische Auswertung entnommen.

Die histologische Auswertung (Tabelle 18) zeigte einen mäßigen Entzündungsprozess im Zusammenhang mit dem Heilungsprozess aufgrund des chirurgischen Eingriffs. Dieser moderate Entzündungsprozess war für alle drei Gruppen vergleichbar. Das Sealing Device (PBSP) erzielte bei Riesenzellen (durchschnittlich 2,8) eine etwas höhere Punktzahl im Vergleich zu Veriset (durchschnittlich 1,8) und der chirurgischen Kontrollgruppe (durchschnittlich 0,7). Die Gruppe mit dem PBSP zeigte eine höhere Neovaskularisation (Durchschnitt 3,0) im Vergleich zu Veriset (Durchschnitt 2,2), war jedoch mit der Nahtgruppe (Durchschnitt 2,9) vergleichbar. Bei allen Gruppen wurde eine minimale bis mäßige Nekrose beobachtet. Siehe Abbildung 35-40 für repräsentative Histologiebilder für alle drei Gruppen. Alle histologischen Bilder für alle Tiere sind in den Dateien von Polyganics verfügbar.

Gruppen	PBSP (Sealing Device)		Veriset		Chirurgische Naht	
	Mittelwert	Stdabw.	Mittelwert	Stdabw.	Mittelwert	Stdabw.
Polymorphonuclear cells	2.7	1.2	3.3	0.5	3.3	0.8
Lymphocytes	1.0	0.0	1.5	0.5	1.3	0.5
Plasma cells	1.0	0.0	1.5	0.5	1.3	0.5
Macrophages	1.0	0.0	1.5	0.5	1.3	0.5
Giant cells	2.8	1.6	1.8	2.0	0.7	1.3
Necrosis	1.7	0.8	1.7	0.8	1.4	0.8
Neovascularization	3.0	0.6	2.2	0.8	2.9	0.4
Fibrosis	0.8	0.4	0.8	0.4	0.7	0.5
Fatty infiltrate	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Tabelle 18 Übersicht über die Bewertung der Zell- und Gewebereaktion

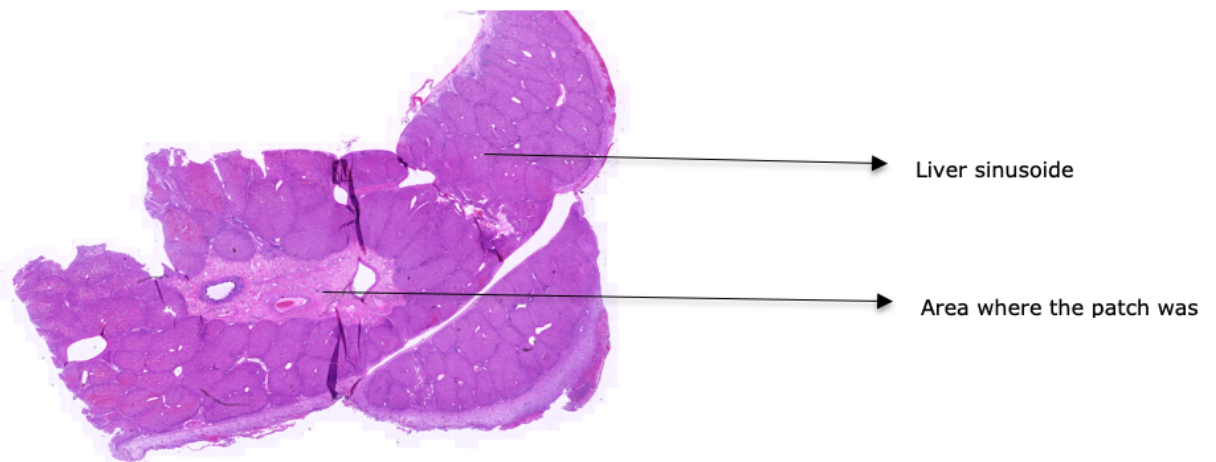


Abbildung 35 Repräsentative Übersichts-Mikrophotographie PBSP Gruppe, Tier S11, HE gefärbt; 20x



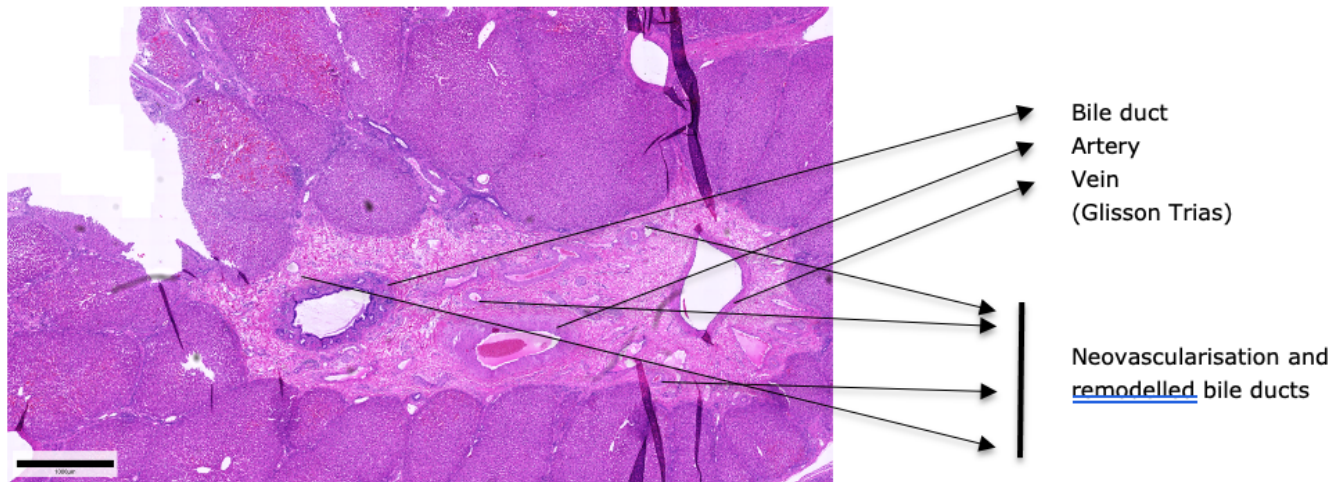


Abbildung 36 Repräsentative Detail-Mikrophotographie PBSP Gruppe, Tier S11, HE gefärbt; 1,25x



Abbildung 37 Repräsentative Übersichts-Mikrophotographie Veriset-Gruppe, Tier S30, HE-gefärbt; 20x

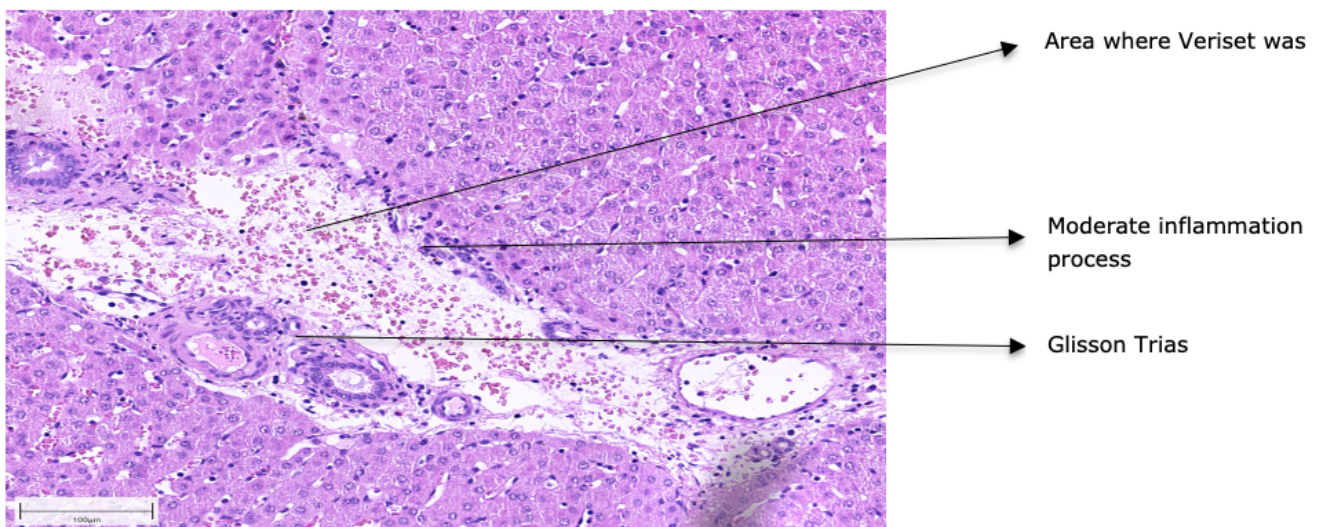
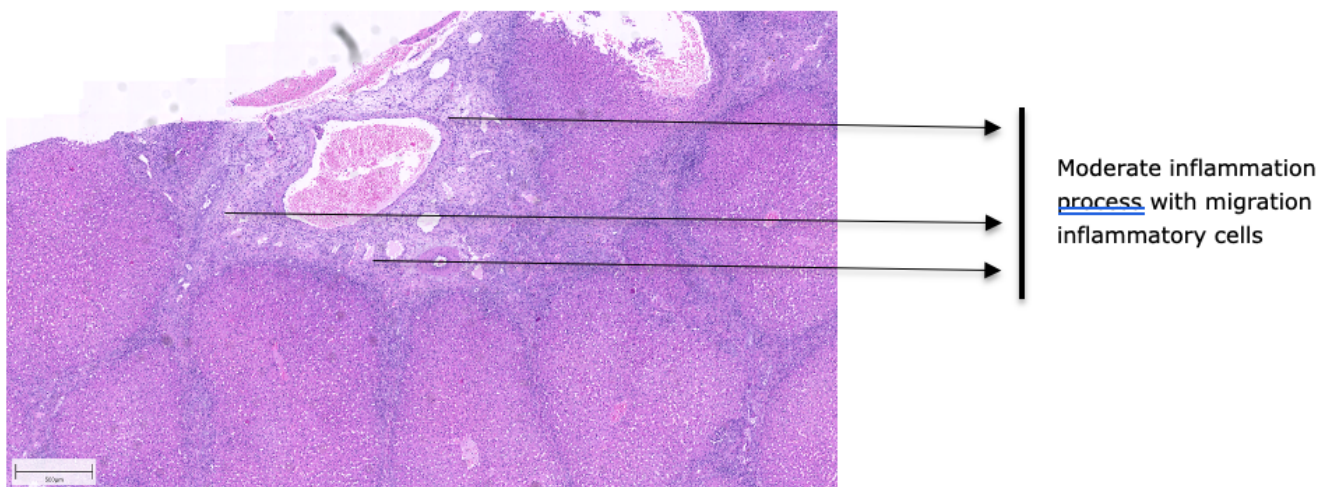


Abbildung 38 Repräsentative Detail-Mikrophotographie Veriset-Gruppe, Tier S30, HE-gefärbt; 10x



**Abbildung 39** Repräsentative Übersichtsmikrophotographie chirurgische Kontrollgruppe, Tier S31, HE gefärbt; 20x



**Abbildung 40** Repräsentative Detailmikrophotographie chirurgische Kontrollgruppe, Tier S31, HE gefärbt; 2,5x

### 5.7.2 Pankreasversuch

Die Proben wurden in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin- und Eosin-Färbung gefärbt und repräsentative Schnitte wurden für die histologische Auswertung entnommen. Siehe für einen Überblick über die histologische Bewertungstabelle 19 (siehe nächste Seite).

Group	Animal	Polymorphonuclear cells	Lymphocytes	Plasma cells	Macrophages	Giant cells	Necrosis	Neovascularisation	Fibrosis	Fatty infiltrate
<b>Model Development</b>	P1	4	2	1	3	3	2	1	2	0
	P2	4	1	2	3	2	2	1	1	0
	P3	3	3	2	2	2	1	1	2	1
	P4	3	1	2	2	2	2	1	1	0
	P5	4	3	1	2	2	3	1	2	0
	P6	3	2	3	2	2	2	1	1	0
	P7	3	2	1	3	2	2	1	2	1
	P8	4	2	3	2	3	1	1	1	0
	P9	4	3	2	3	2	2	1	2	0
	P10	4	3	2	3	2	2	1	2	0
<b>MEAN ± SD</b>		3.6 ± 0.5	2.2 ± 0.8	1.9 ± 0.7	2.5 ± 0.5	2.2 ± 0.4	1.9 ± 0.6	1.0 ± 0.0	1.6 ± 0.5	0.2 ± 0.4
<b>Sealing Device</b>	P14	3	2	1	1	2	1	1	1	0
	P16	4	1	1	1	2	2	1	1	0
	P17	3	1	2	1	2	1	0	1	0
	P19	3	1	2	1	2	1	0	1	0
	P20	4	1	1	1	2	2	1	0	0
	P21	3	1	2	1	2	1	0	1	0
	P22	4	1	1	1	1	2	2	1	0
<b>MEAN ± SD</b>		3.4 ± 0.5	1.1 ± 0.4	1.4 ± 0.5	1.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	1.4 ± 0.5	0.6 ± 0.5	0.9 ± 0.4	0.0 ± 0.0
<b>Surgical Control</b>	P11	4	2	2	2	2	2	0	1	0
	P12	4	2	2	2	2	2	1	0	0
	P13	3	2	2	2	3	2	1	1	0
	P15	3	2	2	2	2	2	1	2	0
	P18	4	2	2	2	2	3	1	0	0
	P23	3	1	2	1	2	1	0	1	0
	P24	4	2	2	2	3	2	1	2	0
<b>MEAN ± SD</b>		3.6 ± 0.5	1.9 ± 0.4	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.6	2.1 ± 0.4	2.0 ± 0.6	0.7 ± 0.5	1.0 ± 0.8	0.0 ± 0.0
<b>P*</b>		0.60	0.00	0.02	0.00	0.34	0.08	0.61	0.68	NA

\* Vergleich zwischen den Gruppen, die für die Gruppe der PBSP's und die Gruppe die chirurgischen Kontrolle durchgeführt wurden; Die Modellentwicklungsgruppe, die nicht als Nachbeobachtungszeitraum berücksichtigt wurde, betrug 7 statt 14 Tage, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse einschränkte.



In der Gruppe der PBSP's gibt es eine mäßige bis schwere Zellreaktion in Bezug auf polymorphkernige Zellen, während es eine minimale bis leichte Zellreaktion in Bezug auf Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen, Riesenzellen und Nekrose gibt. Es gibt eine minimale bis keine Gewebereaktion, wie durch Neovaskularisations-, Fibrose- und Fettinfiltratmessungen angezeigt. Diese Reaktionen liegen bei diesem Pankreasmodell mit Fremdkörperplatzierung 2 Wochen nach der Operation innerhalb der Erwartungen. In der chirurgischen Kontrollgruppe gibt es auch eine mäßige bis schwere Zellantwort in Bezug auf polymorphkernige Zellen, während es eine minimale bis leichte Zellantwort in Bezug auf Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen, Riesenzellen und Nekrose gibt. Es gibt eine minimale bis keine Gewebereaktion, wie durch Neovaskularisations-, Fibrose- und Fettinfiltratmessungen angezeigt. Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen sind in der chirurgischen Kontrollgruppe signifikant häufiger als in der PBSP Gruppe, was mit dem höheren Auftreten schwerer Infektionen und Pankreatitis in der chirurgischen Kontrollgruppe während der Nekropsie korrespondiert.

Siehe Abbildung 41- 43 für repräsentative Histologiebilder für alle Gruppen.

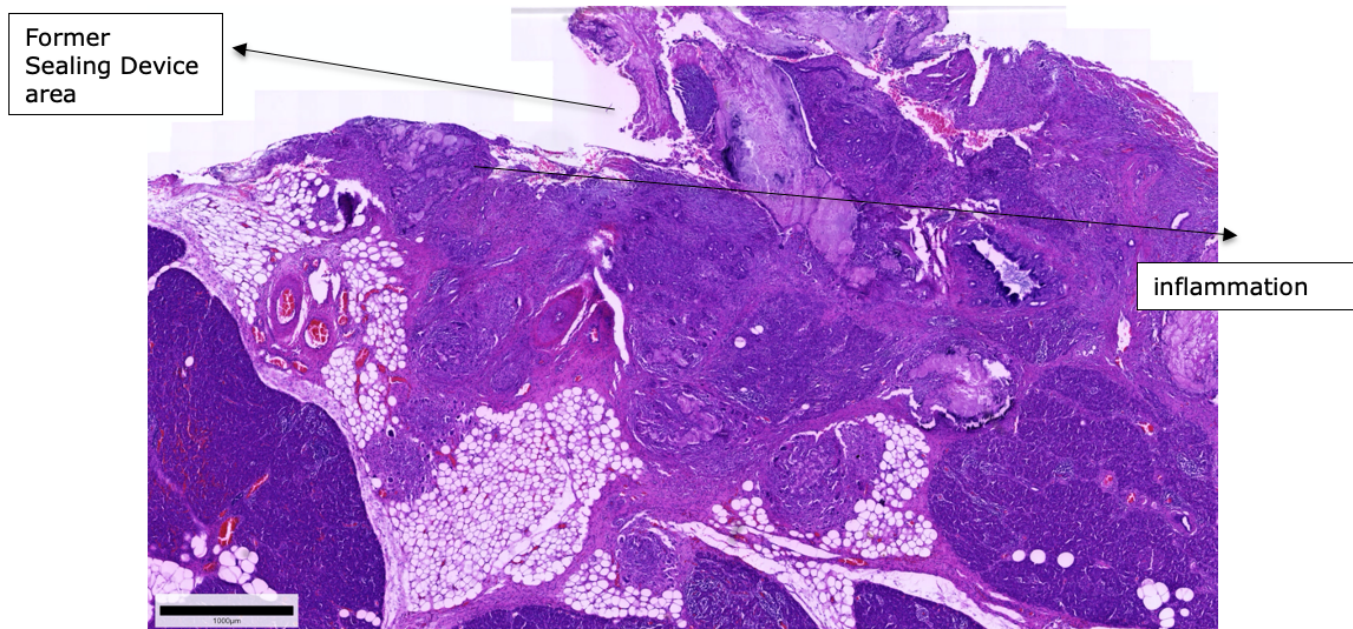


Abbildung 41 Detail Entwicklung des Pankreasleckagemodells P3 (T7); 20x



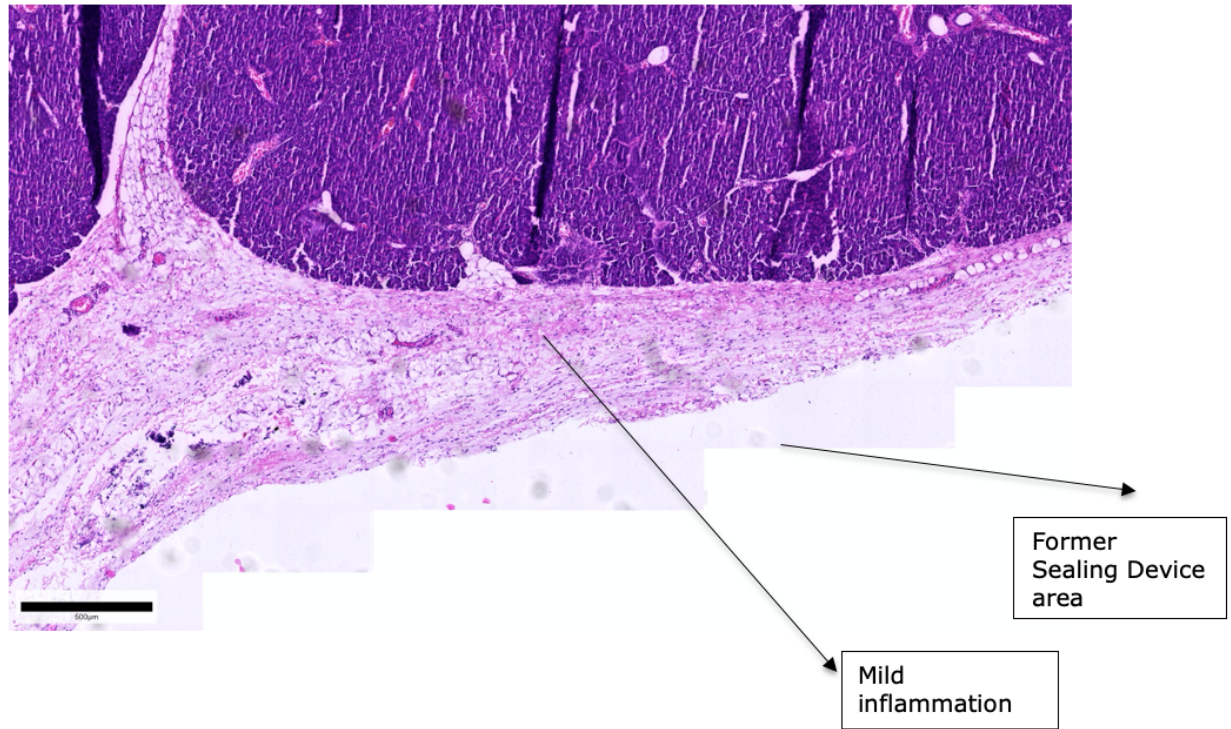


Abbildung 42 Detail PBSP Gruppe P17 (T14); 10x

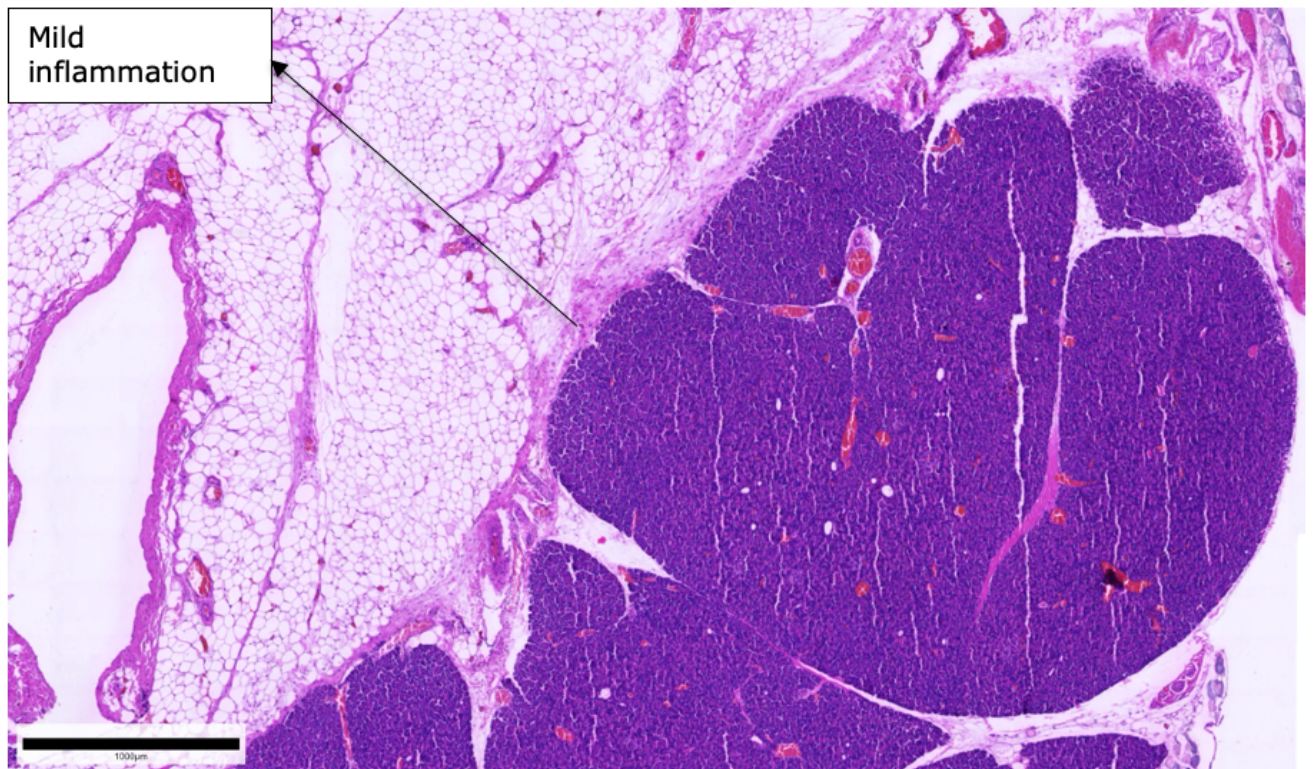


Abbildung 43 Detail chirurgische Kontrollgruppe P11 (T14); 20x

### 5.7.3 Blutungsversuch

Die Proben wurden in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin- und Eosin-Färbung gefärbt und es wurden repräsentative Schnitte für die histologische Auswertung entnommen. Für die TachoSil-Gruppe wurden nur 2 Exemplare untersucht. Alle verfügbaren histologischen Bilder aller analysierten Tiere sind in den Dateien von Polyganics verfügbar. Im Hauptteil dieses Berichts sind repräsentative Bilder für alle Gruppen enthalten.

Die Proben wurden auf Anzeichen einer Infektion, Entzündung, Fremdkörperreaktion, Heilungsprozesse und andere offensichtliche Anzeichen untersucht. Die durchschnittlichen Ergebnisse sind in Tabelle 20 unten zusammengefasst. Repräsentative histologische Bilder der Leber bei der Nekropsie für alle drei Gruppen sind in Abbildung 44- 49 dargestellt.

Zusammenfassend zeigen alle Tiere kurz (1-3 Tage) nach Implantation eines Fremdkörpers mittels eines Patches auf einem Leberdefekt ein normales histologisches Muster. Der mäßige Gehalt an polymorphkernigen Zellen und der minimale bis geringe Gehalt an Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen und Riesenzellen weisen auf eine Entzündungsreaktion hin, die nach der Applikation eines Fremdkörpers erwartungsgemäß ist. Es gibt eine minimale Nekroserate. Es gibt bei allen Gruppen eine minimale Neovaskularisation und sehr wenig Fibrose. Hinsichtlich der Zell- und Gewebereaktion gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Group	Animal	Polymorpho-nuclear cells	Lymphocytes	Plasma cells	Macro-phages	Giant cells	Necrosis	Neovas-cularisation	Fibrosis	Fatty infiltrate
Sealing Device	H01	3	1	1	2	2	1	1	1	0
	H02	4	1	1	1	2	1	1	0	0
	H07	3	2	1	1	2	1	1	0	0
	H09	0	2	1	2	2	1	1	0	0
	H12	4	1	1	1	2	2	1	0	0
MEAN ± SD		2.8 ± 1.6	1.4 ± 0.5	1.0 ± 0.0	1.4 ± 0.5	2.0 ± 0.0	1.2 ± 0.4	1.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0
TachoSil	H03	3	1	2	3	2	1	1	0	1
	H06	3	2	1	1	2	1	1	0	0
MEAN ± SD		3.0 ± 0.0	1.5 ± 0.7	1.5 ± 0.0	2.0 ± 1.4	2.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.7
Veriset	H04	3	1	2	2	2	1	1	0	0
	H05	4	1	1	1	2	1	1	1	0
	H08	3	1	2	1	2	1	1	0	0
	H10	3	2	1	1	2	2	1	1	0
	H11	3	1	2	1	2	1	0	1	0
MEAN ± SD		3.2 ± 0.4	1.2 ± 0.4	1.6 ± 0.5	1.2 ± 0.4	2.0 ± 0.0	1.2 ± 0.4	0.8 ± 0.4	0.6 ± 0.5	0.0 ± 0.0
<i>P</i>		0.9	0.7	0.1	0.4	N/A	0.2	0.7	0.3	0.07

**Tabelle 20 Übersicht über die Bewertung der Zell- und Gewebereaktion**



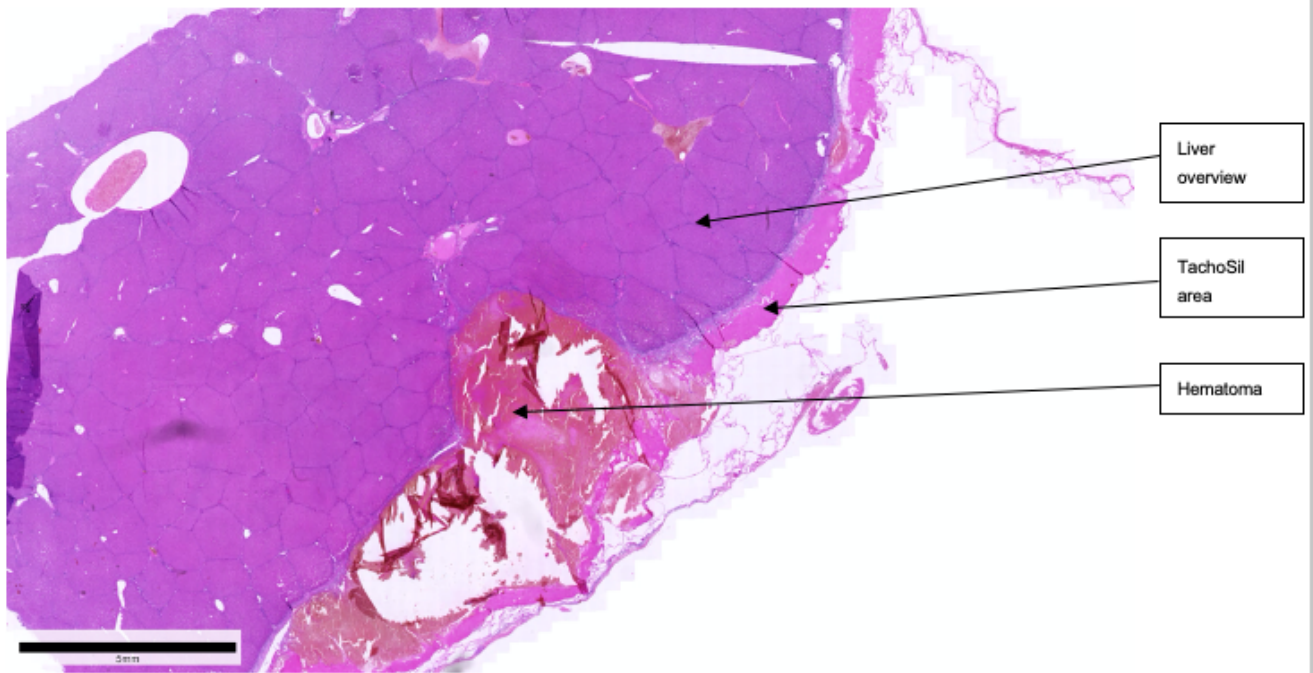


Abbildung 44 Detail TachoSil 1,25x H3

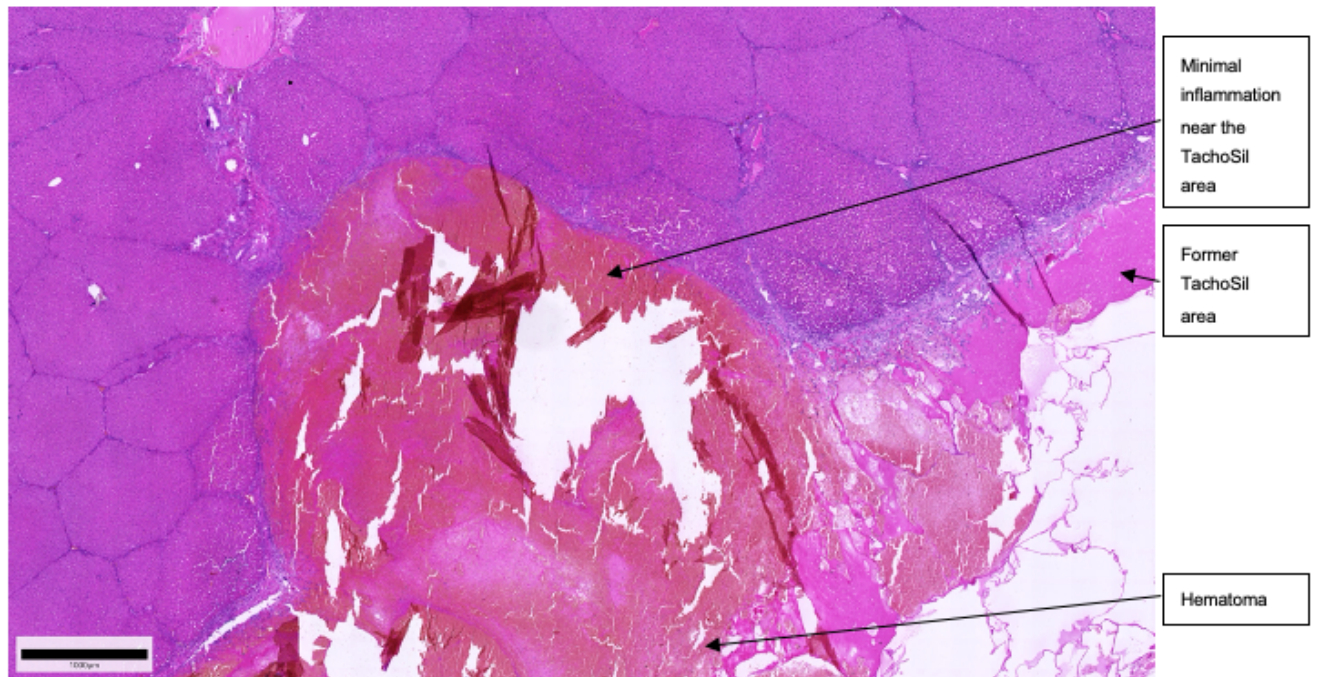


Abbildung 45 Übersicht TachoSil 20x H3



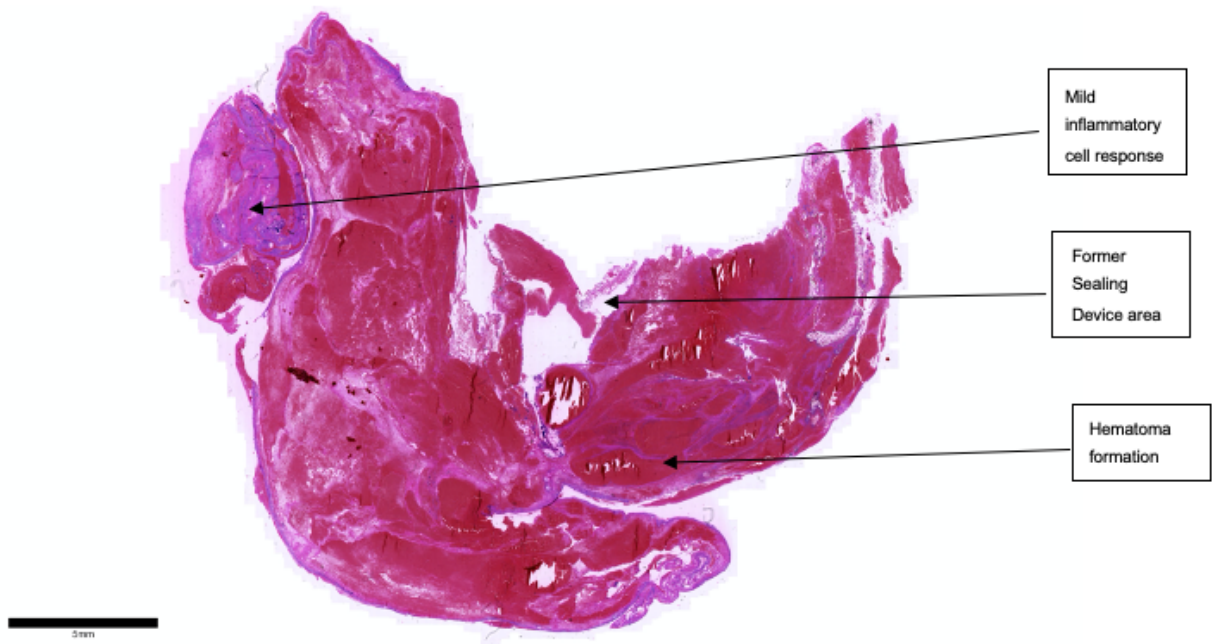


Abbildung 46 Übersicht PBSP 1,25x H2

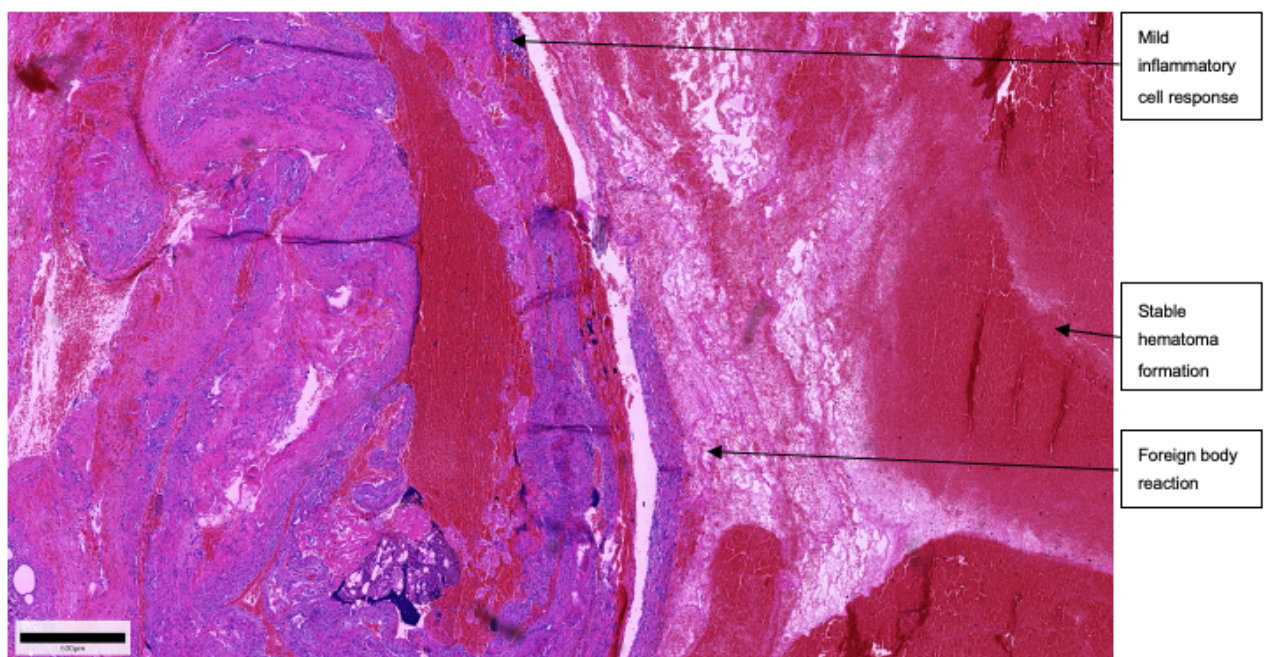


Abbildung 47 Detailversiegelungsvorrichtung 10x; H2

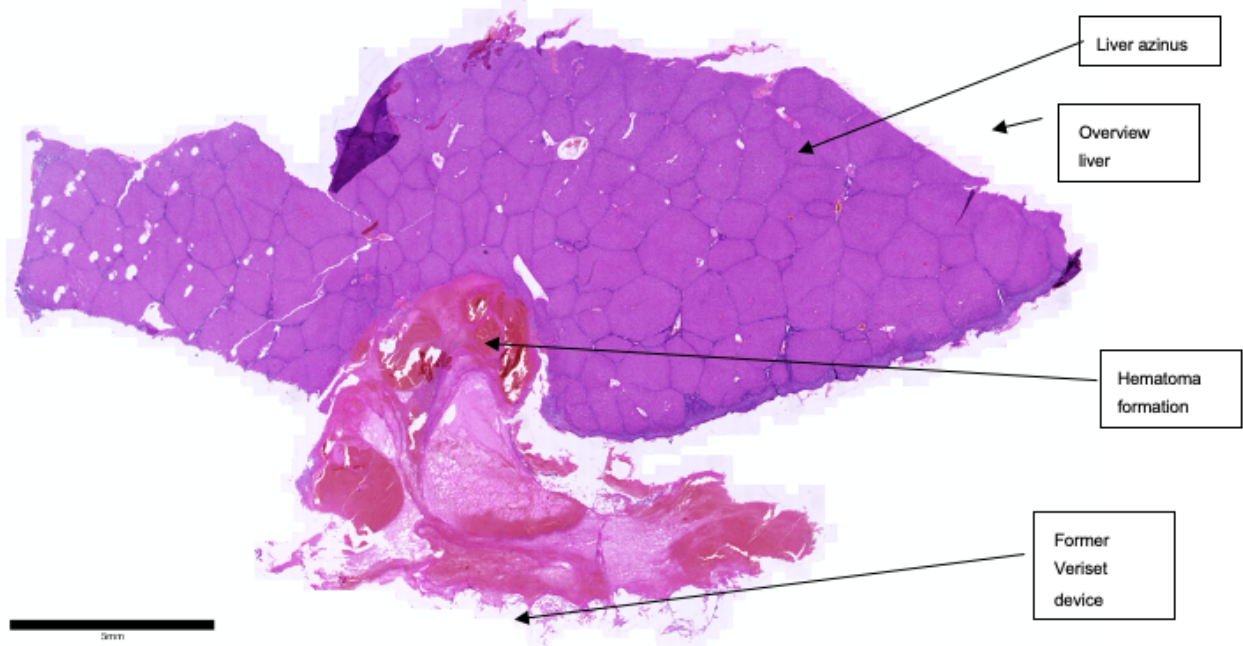


Abbildung 48 Übersicht Veriset 1,25x H4

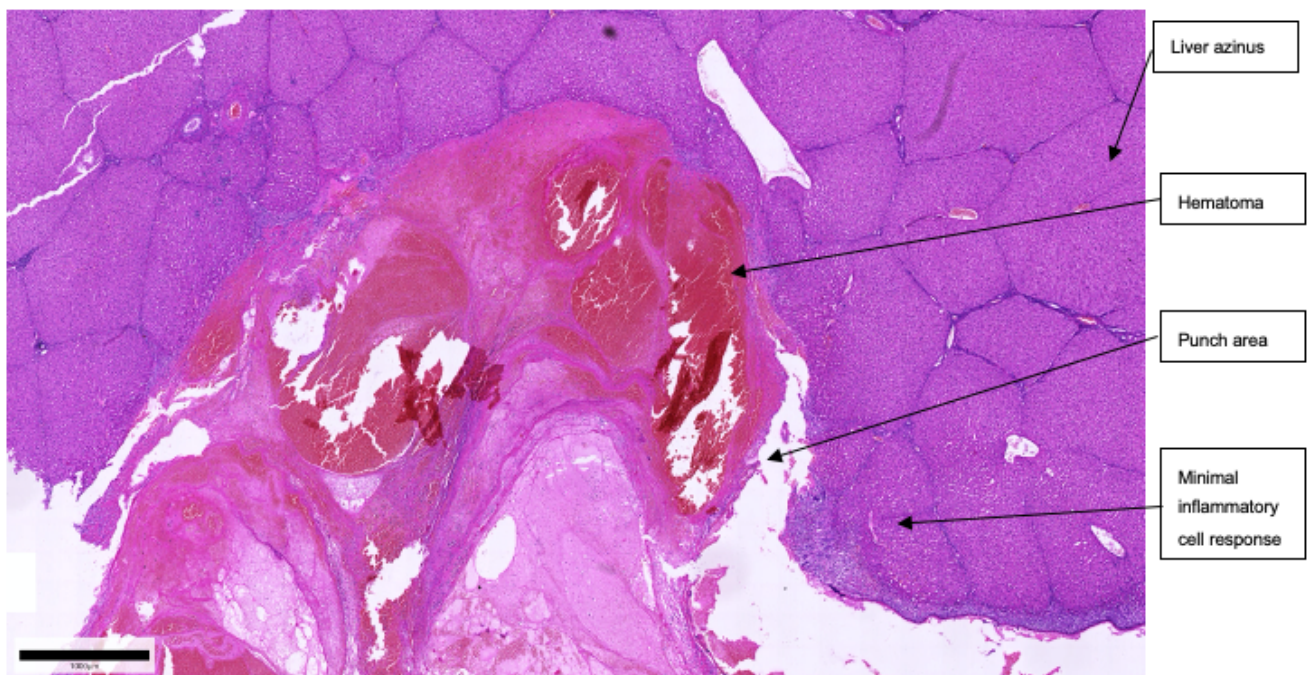


Abbildung 49 Detail Veriset 20x; H4

### 5.7.4 Degradationsversuch

Die Proben wurden in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin- und Eosin-Färbung gefärbt und repräsentative Schnitte wurden für die histologische Auswertung entnommen. Während der Verarbeitung lösten sich die PBSP's auf und waren in den Objektträgern nicht mehr zu beobachten, jedoch konnten die Stellen, an der die sich vorher befanden, verfolgt und noch auf lokale Gewebereaktionen untersucht werden.

Die histologische Untersuchung der Leber (vollständige Details siehe Tabelle 21 und Abschnitt APPENDIX L) zeigte einige minimale Entzündungsprozesse und einen Beginn eines Remodelling nach 2 Wochen, alles innerhalb der Erwartungen kurz nach Implantation eines Fremdkörpers. Diese Patches reduzierten sich im Laufe der Zeit zu den verbleibenden Zeitpunkten und zeigten eine normale Heilungsreaktion und Gewebereaktionen an. Es wurden keine mineralisierten Bereiche gefunden und nur keine bis minimale Nekrose war an den Nachuntersuchungspunkten vorhanden.

	Group	2 weeks (n = 3)		3 months (n = 2)		6 months (n = 3)		12 months (n = 3)		15 months (n = 3)	
		Average	Stdev.	Average	Stdev.	Average	Stdev.	Average	Stdev.	Average	Stdev.
Cell response	Polymorpho-nuclear cells	1.2	0.4	1.0	NA	1.0	0.0	1,0	0,0	1,0	0,0
	Lymphocytes	1.5	0.5	1.3	NA	1.3	0.5	1,0	0,0	0,5	0,5
	Plasma cells	2.0	0.5	1.0	NA	1.0	0.0	1,0	0,0	0,5	0,5
	Macrophages	2.4	0.7	0.7	NA	0.7	0.5	1,0	0,0	0,9	0,3
	Giant cells	1.6	0.5	1.0	NA	1.0	0.0	1,0	0,0	0,7	0,5
	Necrosis	1.1	0.3	0.7	NA	0.7	0.5	1,0	0,0	0,4	0,5
Tissue response	Neovascularization	1.1	0.3	1.1	NA	1.0	0.0	1,0	0,0	0,8	0,4
	Fibrosis	1.4	0.5	0.0	NA	1.0	0.0	1,0	0,0	0,6	0,5
	Fatty infiltrate	0.0	0.0	0.0	NA	0.0	0.0	0,0	0,0	0,1	0,3

Tabelle 21 Übersicht über die Bewertung der mittleren Zell- und Gewebereaktion (Leber)

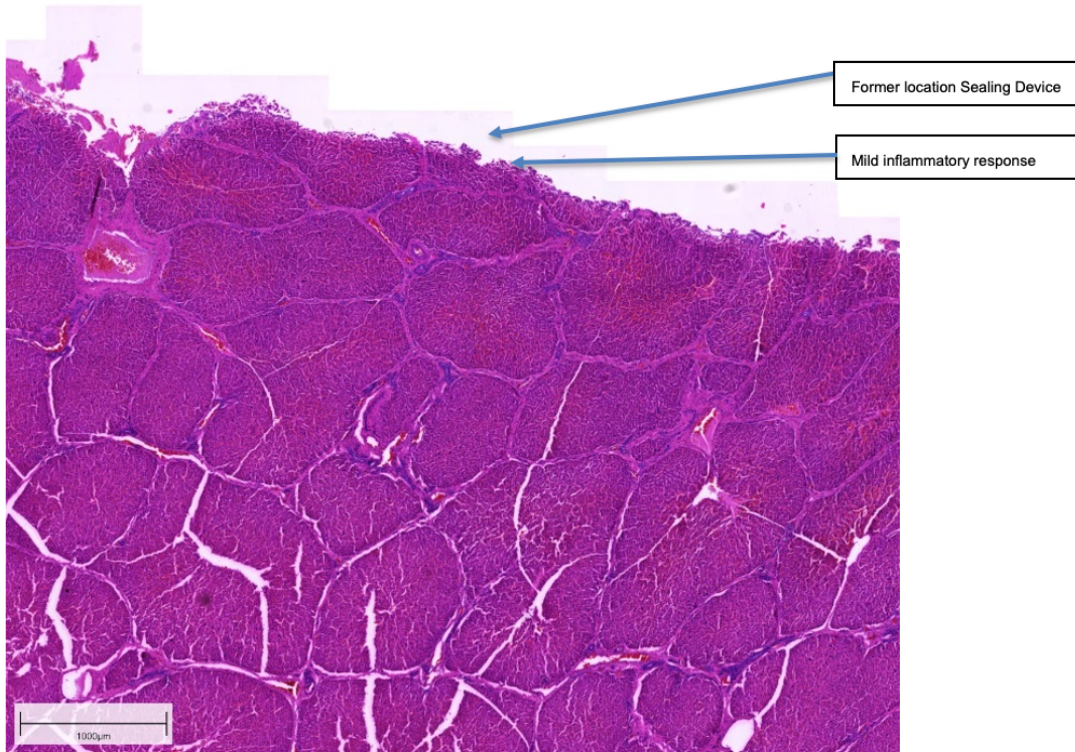


Hinsichtlich der intramuskulär implantierten Patches waren die Zell- und Gewebereaktionen ähnlich den Zell- und Gewebereaktionen auf die verschiedenen Nahtmaterialien. Die Ergebnisse nach 2 Wochen zeigen eine erwartete Fremdkörperreaktion und Entzündung an allen Implantationspunkten, die zwischen den Implantationsstellen des Patches und den Implantationsstellen des Nahtmaterials ähnlich sind ( $p > 0,05$  bei allen Parametern). Nach 3 und 6 Monaten hat dieser Effekt nachgelassen. Eine Übersicht über den Vergleich der Zell- und Gewebereaktionsbewertung zwischen Vorrichtungs- und Nahtimplantationsstellen finden Sie in Tabelle 22 unten. In den statistischen Vergleich werden nur die drei Tiere einbezogen, die nach 2 Wochen terminiert wurden, da nur begrenzte Daten für die Nahtmaterial-Implantationsstellen bei 3- und 6-Monats-Follow-up verfügbar sind. Zu allen Zeitpunkten verfügbare Daten weisen auf gleiche Reaktionen in Bezug auf die Naht- und Implantationsstellen des Patches hin. Aufgrund der Auflösung des Nahtmaterials und der Bewegung des Muskels konnten nach 3 Monaten nicht alle Stellen zurückverfolgt werden, was die verfügbaren Daten einschränkt. Im verfügbaren Material gab es zu keinem Zeitpunkt unerwartete Reaktionen und Interaktionen von Materialien. Die detaillierte Bewertung der Muskelimplantationsstellen finden Sie im Abschnitt APPENDIX L.

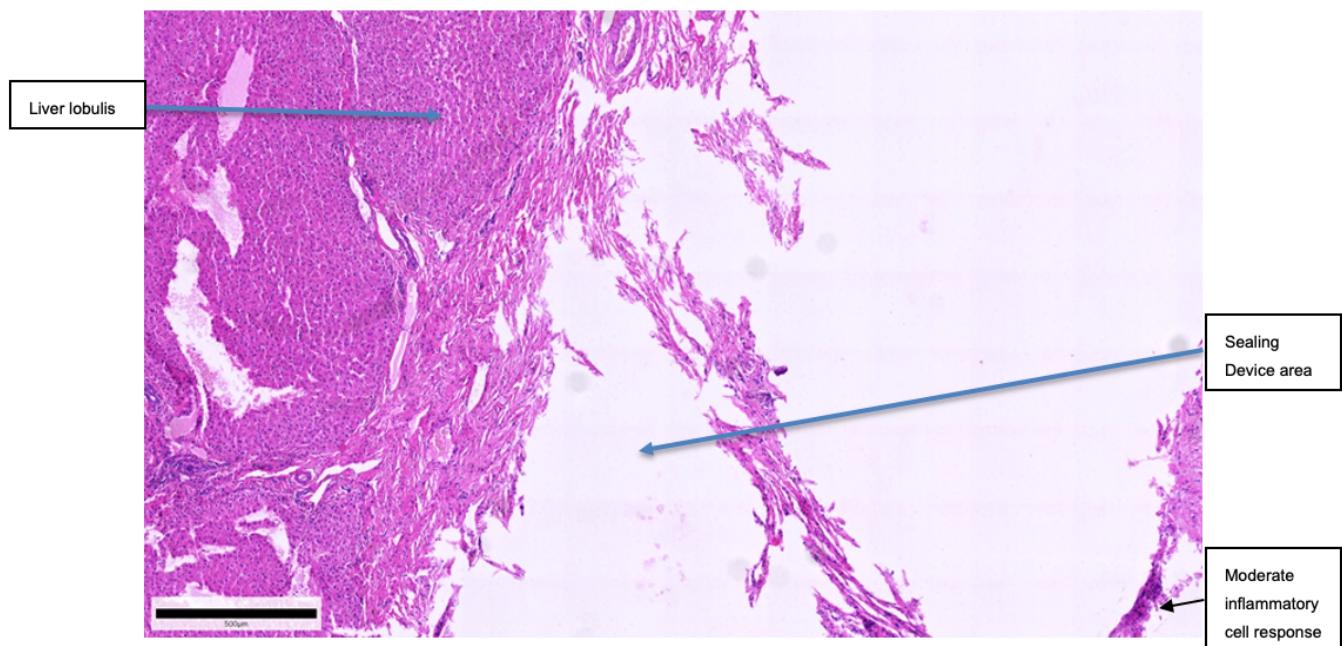
	Group	DEVICE (n = 12)		SUTURES (n = 9)		VICRYL AND DEVICE (n = 8)		MONOCRYL AND DEVICE (n = 9)		BIOSYN AND DEVICE (n = 9)		<i>P</i>
		Average	Stdev.	Average	Stdev.	Average	Stdev.	Average	Stdev.	Average	Stdev.	
<b>Cell response</b>	<b>Polymorpho- nuclear cells</b>	1.3	0.5	1.2	0.4	1.2	0.4	1.0	0.0	1.0	0.0	0.3
	<b>Lymphocytes</b>	1.4	0.5	1.4	0.5	1.4	0.5	1.4	0.5	1.4	0.5	1.0
	<b>Plasma cells</b>	1.8	0.4	2.2	0.4	2.2	0.4	2.1	0.3	2.0	0.5	0.2
	<b>Macrophages</b>	2.4	0.7	2.4	0.7	2.6	0.5	2.7	0.5	2.7	0.5	0.8
	<b>Giant cells</b>	1.7	0.5	1.7	0.5	1.7	0.5	1.9	0.3	1.8	0.4	0.8
	<b>Necrosis</b>	1.1	0.3	1.1	0.3	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.6
<b>Tissue response</b>	<b>Neovascu- larization</b>	1.2	0.4	1.0	0.0	1.1	0.4	1.0	0.0	1.1	0.3	0.6
	<b>Fibrosis</b>	1.4	0.5	1.4	0.5	1.4	0.5	1.4	0.5	1.6	0.5	1.0
	<b>Fatty infiltrate</b>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	N/A

Tabelle 22 Vergleich der Implantationsstellen für Muskelpflaster mit Zell- und Gewebereaktion nach 2 Wochen (Tier 1.1, 1.2 und 1.3)

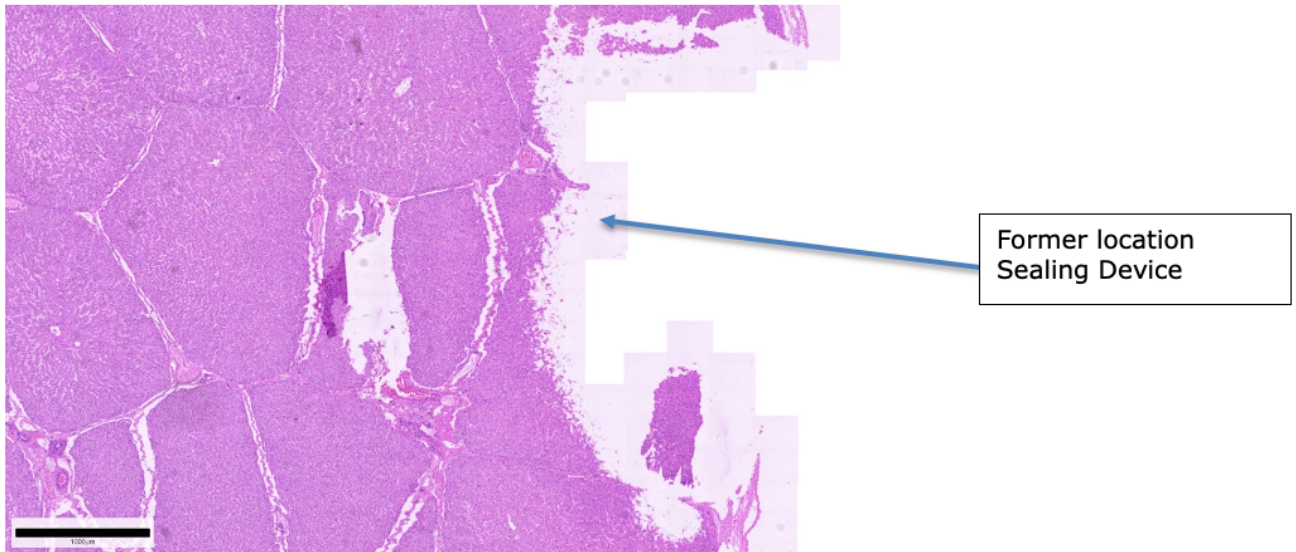
Siehe Abbildung 50- 54 unten für repräsentative Mikrophotographien der Patches in Leber und Muskel zu allen Zeitpunkten. Alle verfügbaren Histologiebilder wurden von Polyganics digital gespeichert.



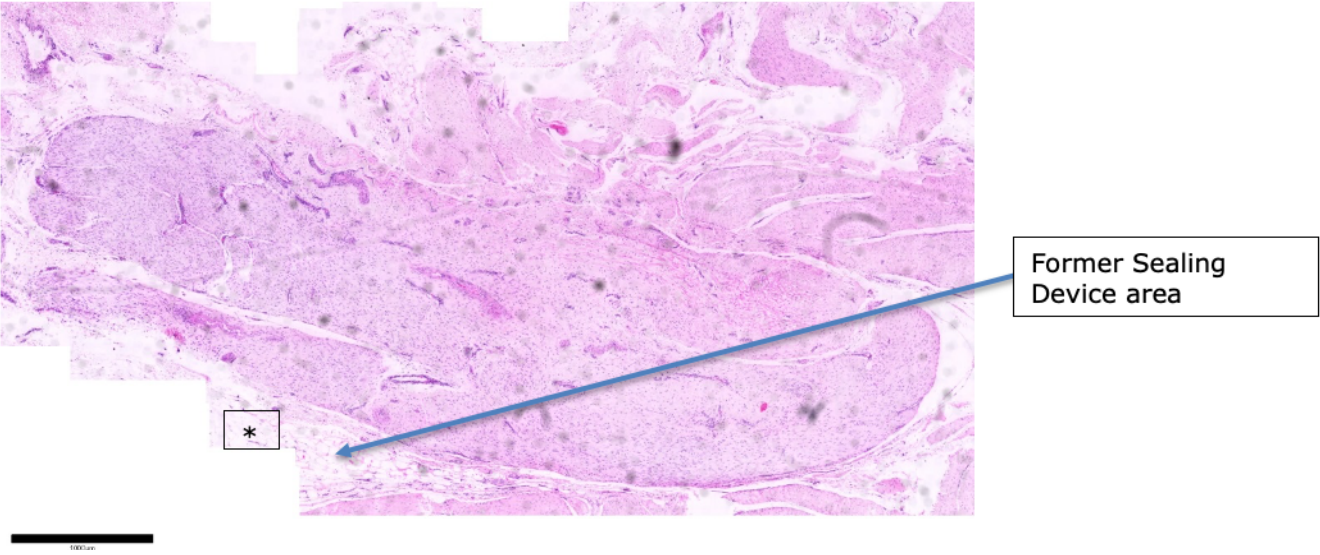
**Abbildung 50** Repräsentative Mikrophotographie der Leber und dem PBSP, Tier 1.1, HE gefärbt, 20x; 2 Wochen follow up



**Abbildung 51** Repräsentative Detail-Mikrophotographie der Leber und dem PBSP, Tier 6.3, HE gefärbt, 10x; 6 Monate follow up



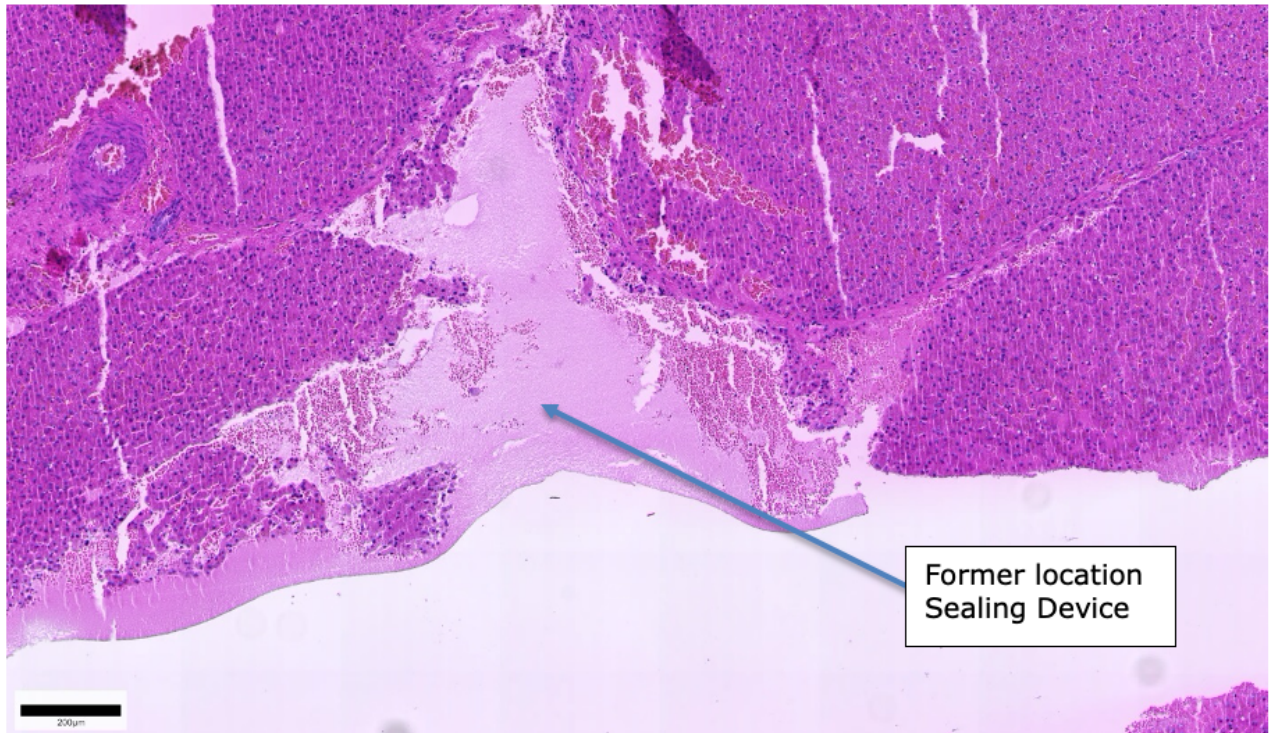
**Abbildung 52** Repräsentative Übersichts-Mikrophotographie des PBS Patch auf Lebergewebe, Tier 12.2, HE-Färbung, 2,5x; 12 Monate follow up



\* Das bei der Sektion gefundene Hartgewebe war histologisch nicht sichtbar.

**Abbildung 53** Übersicht über die Hartgewebestruktur und den PBSP auf Lebergewebe, Tier 12.3, HE-gefärbt, 2,5x; 12 Monaten follow up





**Abbildung 54** Repräsentative Übersichts- Mikrophotographie des PBSP, intramuskulär, Tier 18.1, HE-gefärbt, 1.25x; 15 Monate follow up

Die histologische Bewertung aller anderen entnommenen Organe zeigte keine unerwarteten Reaktionen oder Befunde. Alle Organe waren zu allen drei Zeitpunkten frei von jeglichen Resten der implantierten Materialien.



## 6 DISKUSSION UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

Trotz verbesserter Operationstechniken und der Einführung fortschrittlicher Technologien in die klinische Routine bleiben chirurgische Undichtigkeiten an den parenchymatösen Organen (Leber und Pankreas) und perioperative Blutungen eine Herausforderung in der HPB-Chirurgie. Die chirurgisch induzierte Leckage dieser Organe trägt wesentlich zur perioperativen Morbidität und Mortalität bei und beeinträchtigt auch das onkologische Ergebnis (29,30). Alle technischen Verbesserungen wie fortschrittliche chirurgische Techniken, Einführung neuer Geräte und der weit verbreitete Einsatz minimaler oder sogar robotergestützter Verfahren haben die postoperative Leckagerate in den letzten Jahren, wenn überhaupt nur ein wenig verbessert (31-33). In den letzten 5 Jahren wurden mehr als 150 medizinische Produkte zur Wirksamkeit von topischen Versiegelungen in der HPB-Chirurgie in der Literatur veröffentlicht (14). Allerdings mit Ausnahme einiger prospektiver Studien, die meisten davon sind Evidenzberichte der Stufe III, die im Gegensatz zur weit verbreiteten Verwendung topischer Hämostyptika und Versiegelungsprodukte bei HPB-Operationen eine schlechte klinische Evidenz widerspiegeln. Dies unterstreicht die Notwendigkeit einer Gewebeversiegelung, die POPF und Gallenaustritt effektiv verhindert. Ein idealer Patch würde auch eine Hämostase bewirken. Diese Eigenschaften würden den Patch attraktiv für die Routinechirurgie und benutzerfreundlich machen, da es in einem breiten Operationsfeld anwendbar wäre. Bei einem breiten Anwendungsspektrum wäre es auch kostenattraktiv.

Aus gestalterischer Sicht sind folgende spezifische Anforderungen an die HPB-OP zu erfüllen:

- A. Starke und dauerhafte (Langzeit-)Haftung auf fast allen Organoberflächen.
- B. Resistenz gegenüber der aggressiven Wirkung von Galle und Pankreasflüssigkeit, da diese beiden Flüssigkeiten die Morbidität und Mortalität bei HBP-Chirurgie maßgeblich beeinflussen.
- C. hervorragende hämostatische Eigenschaften. Im Gegensatz zu anderen routinemäßig verwendeten Patches erfolgt die Blutstillung nicht durch gerinnungsaktivierende Komponenten wie Fibrin oder Zellulose, sondern durch die starke Anheftung an Organ- oder Gefäßoberflächen.

Um die Eigenschaften des neu entwickelten PBSP zu bewerten, wurde daher ein umfangreiches Benchmarking in vitro und in vivo mit klinisch eingesetzten

Alternativprodukten durchgeführt. Für die in-vivo-Bewertungen wurde daher ein neu etabliertes POPF- und Galle-Leakage-Modell vom Schwein sowie ein Leberblutungsmodell vom Schwein verwendet, um die Effektivität des Sealing Devices zu überprüfen und die Überlegenheit des Produktes mit den konventionellen Produkten und Techniken zu beweisen.

## Galleversuch

In dieser Studie wurden die Leistung und die Sicherheit in einem kurzfristigen definierten Zeitraum des PBSP durch Vergleich mit zwei Kontrollen, Veriset und der chirurgischen Nahtkontrolle bewertet. Im Rahmen dessen wurde zuvor ein standardisiertes Galleleckagemodell etabliert, um eine reproduzierbare Gallenleckage zu haben, um die Fähigkeit zur Reduzierung eines Gallelecks testen und nachweisen zu können. Ein reproduzierbarer Defekt wurde durch Durchtrennen eines Gallengangsstes des linken Leberlappens erzeugt. Wenn ein bestimmter iatrogen Defekt klinisch induziert wird, ist die konventionelle Prozedur im Rahmen der Operation am Menschen das Vernähen des Defektes, daher wird die chirurgische Naht als eine der Kontrollen in dieser Studie verwendet. Veriset ist ein im Handel erhältliches Medizinprodukt, das in der Leberchirurgie verwendet wird und über eine vergleichbare Adhäsionstechnologie wie der von uns entwickelte PBSP verfügt, was Veriset zum am besten geeigneten Kontrollartikel im Vergleich macht. Die chirurgische Kontrollgruppe galt als „Negativ“-Kontrollrepräsentant für die Standardbehandlung dieser Studie.

21 Tiere wurden ursprünglich in die Studie aufgenommen (N = 7 für jede Behandlungsgruppe). Ein Tier in der Veriset-Gruppe und ein Tier in der (PBSP) Sealing Device-Gruppe mussten aufgrund unerwünschter Ereignisse vorzeitig eingeschläfert werden und wurden daher nicht weiterverfolgt. Diese Tiere wurden nicht ersetzt. Die endgültige Stichprobengröße beträgt daher 19 Tiere (6 in der Gruppe des PBSP, 6 in der Veriset-Gruppe und 7 in der chirurgischen Kontrollgruppe).

Klinische Beobachtungen für unerwünschte Ereignisse wurden täglich durchgeführt. Die Bilirubinspiegel im Tierblut wurden zu Studienbeginn, 3 Tage und 7 Tage (Beendigung) nachverfolgt. Aufgrund der Verstopfung der Drainagen während der Nachsorge war nur die Beurteilung der Blutproben am Tag 7 nach Beendigung

repräsentativ und konnte dementsprechend verlässlich bestimmt werden. Die Bilirubinspiegel in den Bauchflüssigkeiten nach 7 Tagen für das PBSP waren vergleichbar mit den Bilirubinspiegeln der Nahtgruppe und signifikant niedriger im Vergleich zur Veriset-Gruppe. Dies zeigt, dass das PBSP (Sealing Device) in diesem Tiermodell die Gallenleckage effizient reduzieren bis komplett aufhalten kann. Bei der Autopsie wurde bestätigt, dass das PBSP im Vergleich zu Veriset eine bessere Leistung in Bezug auf Biliom- und Hämatombildung zeigte. Sowohl bei dem (Sealing Device) PBSP (n=6) als auch bei der Nahtgruppe (n=7) wurde jeweils ein Biliom gefunden, während in der Veriset-Gruppe (n=6) 5 Tiere ein Biliom zeigten. In der Gruppe des PBSP wurde festgestellt, dass die Patches auf dem Defekt von einer stabilen Fibrinkapsel bedeckt waren, die zusammen mit dem Patch die Galle enthielt und so den Kontakt der Galle mit anderen Bauchorganen verhinderte.

Die Studie zeigte, dass die Drainagen aufgrund von Fibrinablagerungen verstopfen und nicht so gut verwertbar sind, wie es beim Menschen der Fall im Rahmen der postoperativen Nachsorge ist. Dies könnte in einer klinischen Umgebung zu falsch negativen Bilirubin-Ergebnissen führen, und es könnte diskutiert werden, ob die Bilirubinspiegel nur in Drainageflüssigkeiten ausreichen, um eine Gallenleckage beim Schwein zu definieren.

In der histologischen Analyse des Lebergewebes nach der Obduktion zeigte sich in allen Gruppen ein moderater Entzündungsprozess im Zusammenhang mit dem Heilungsprozess aufgrund des chirurgischen Eingriffs, der für alle drei Gruppen vergleichbar war. Die Gruppe mit dem PBSP erzielte bei Riesenzellen (Durchschnitt 2,8) etwas höhere Werte als die Veriset- (Durchschnitt 1,8) und die Naht- (Durchschnitt 0,7) Gruppen. Diese etwas höhere Rate an mittelschweren Entzündungen liegt jedoch noch im Rahmen der Erwartungen, wenn ein Fremdkörper implantiert wurde und birgt in der 7-tägigen Nachuntersuchung in dieser Studie kein Risiko einer Gewebeschädigung.

Diese Leistungsstudie gab einen Hinweis darauf, dass das PBSP aufgrund visueller Beobachtung bis zu 7 Tage postoperativ in der Lage ist, einen Gallenaustritt zu stoppen, ohne dass irgendwelche unerwünschten Ereignisse im Zusammenhang mit dem Gerät angezeigt werden. Die Flüssigkeit aus den Drainagebeuteln (Farbe) sowie

die Autopsie zeigten, dass das PBSP ausreichend funktionierte, um die Leckage einzudämmen. Die PBSP`s befanden sich noch am Defekt und enthielten bei fast allen Tieren die Galle.

### Pankreasversuch

In dieser randomisierten kontrollierten Studie wurde ein adäquates Pankreasfistelmodell beim Schwein entwickelt und die Leistung des PBSP mit einer chirurgischen Kontrollgruppe verglichen. 10 Tiere wurden für die Modellentwicklung und 14 Tiere für die Vergleichsstudie aufgenommen (n = 7 in beiden Gruppen).

Die ersten 5 Tiere der Modellentwicklungsphase wurden verwendet, um ein reproduzierbares Pankreasfistelmodell zu etablieren.

Die Pankreaslinksresektion erwies sich in der Modellbildungsphase als effizienteres Verfahren zur Induktion einer standardisierten Pankreasfistel, da sichergestellt werden konnte, dass bei allen Tieren, die eine linkslaterale Pankreasresektion erhielten, auch eine Pankreasfistel ausbildeten. Die horizontale Durchtrennung/Inzision bis zum Ductus Wirsungianus beim ersten Tier zeigte dies nicht, da das Tiere durch diese Prozedur eine sehr unauffällige postoperative Pankreasfistel entwickelte. Um eine aggressivere Pankreasfistel zu induzieren, welche zwar das Tier in der postoperativen Phase im Allgemeinzustand deutlich reduzierte und kränker machte, erwies sich die laterale Pankreaslinksresektion als beste Methode, welche das Tier in dem von uns definierten Überlebenszeitraum überleben lies und in jedem Fall eine Pankreasfistel ausbilden ließ.

Während der Modellentwicklungsphase wurde bei dem zweiten der 5 Tiere aus der Modellentwicklungsgruppe die optimale Anwendung des PBSP ermittelt, was zu einer Anleitung für eine Faltechnik führte, um den Pankreasstumpf stattdessen in zwei Patches zu umhüllen (eines über dem Stumpf, der andere um das vorherige Patch und den Stumpf, um die Kanten des ersten Patches zu versiegeln). Diese Technik wurde anschließend bei den 7 Tieren der Vergleichs-Sealing Device-Gruppe angewendet, die mit 7 chirurgischen Kontrolltieren verglichen wurden.

Die Operationsdauer unterschied sich zwischen den Vergleichsgruppen nicht signifikant. Die Anwendung von Muskelrelaxantien, um eine einfachere Operation zu ermöglichen, erwies sich während des Versuchs als schwierig für die Nachsorge der Tiere. Einige Tiere hatten Probleme während der Genesung, da die Hinterbeine immer vom Muskelrelaxantienüberhang betroffen waren, nachdem sie das Bewusstsein wiedererlangt hatten und versucht hatten aufzustehen. Es wurde beschlossen, auf die intraoperativen Muskelrelaxantien zu verzichten, um den Komfort für die Tiere während der Erholungsphase zu erhöhen. Bei allen Tieren, mit Ausnahme eines Tieres, das nach der Operation immer noch Schwierigkeiten beim Aufstehen hatte, erwies sich die Nichtverabreichung von Muskelrelaxantien als vorteilhaft für die Genesung nach der Operation. Die Chirurgen (wir) gaben an, dass die Bauchspeicheldrüsenoperation trotz der etwas schwierigeren Öffnung des Bauches für die Operation auch ohne die Muskelrelaxantien problemlos verlief. Es wird empfohlen, in diesem Modell zukünftig keine intraoperativen Muskelrelaxantien zu verwenden.

Insgesamt wurden während der Studie 31 unerwünschte Ereignisse berichtet, von denen 6 schwerwiegend waren. Es gab keine produktbezogenen unerwünschten Ereignisse in Bezug auf das PBSP. Es war im Vorfeld zu erwarten, dass die Tiere im Rahmen des Versuchs eine hohe Nebenwirkungsrate aufweisen werden, da wie bereits in der Einleitung beschrieben sowohl die Leber als auch die Pankreaschirurgie mit einer hohen Mortalität und Morbidität einhergehen. Abgesehen von den oben erwähnten Schwierigkeiten bei der Erholung der Tiere nach der Operation, die durch die Änderung der Verabreichung von Muskelrelaxantien während der Operation behoben wurden, traten in der Studie keine unerwarteten Nebenwirkungen auf. Es gibt keine produktbezogenen Nebenwirkungen.

Im Follow-up sind Hämoglobin, Hämatokrit und Kreatinin in der chirurgischen Kontrollgruppe signifikant niedriger als in der PBSP Gruppe. AST, ALT und AST/ALT-Verhältnis sind in der chirurgischen Kontrollgruppe signifikant höher als in der PBSP Gruppe. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Tiere, welche mit dem PBSP versorgt wurden, im Durchschnitt weniger gesundheitliche Probleme im Zusammenhang mit Blutverlust und Leberfunktion während der Nachuntersuchung haben, als die Tiere in der chirurgischen Kontrollgruppe. Dies wird durch die Ergebnisse in Bezug auf

unerwünschte Ereignisse, Nekropsie und Histologie gestützt. Andere Ergebnisse liegen innerhalb der Referenzbereiche für beide Gruppen und unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen. Aufgrund der Anzahl fehlender Daten sind die Serum- und Drainagemessungen mit Vorsicht zu interpretieren.

Hinsichtlich der Drainagemaßnahmen gibt es in der Literatur keine Referenzwerte für Schweine, wenn erhöhte Alpha-Amylase-Werte als klinisch signifikant angesehen werden. Die Alpha-Amylase scheint bei allen Folgemessungen für beide Gruppen stark erhöht zu sein. Lipase ist bei allen Folgemessungen für beide Gruppen erhöht. Aufgrund von diversen Komplikationen im Rahmen des Abnahmeversuchs von Flüssigkeitsabnahmen aus den abgeleiteten Drainagen (Drainage verklumpt, Drainage locker, keine Drainageflüssigkeit gesammelt), sind die Drainagedaten nicht zuverlässig und werden nicht weiter analysiert. Die makroskopischen, CT-Scans (Absatz APPENDIX F) und mikroskopischen Ergebnisse geben einen besseren und zuverlässigeren Eindruck von der Versiegelungswirkung des PBSP.

Bei der Autopsie zeigt sich, dass die Rate von Pankreatitis, Infektionen, Adhäsionen und Flüssigkeitsansammlungen im Abdomen in der chirurgischen Kontrollgruppe höher ist als in der Gruppe mit dem PBSP, was auf eine wirksamere Kontrolle der Pankreasleckage mit dem PBSP, im Vergleich zur chirurgischen Kontrolle hinweist.

Die histologische Auswertung zeigt eine normale Situation in diesem Pankreasmodell 2 Wochen nach der Operation mit Implantation eines Fremdkörpers in der Gruppe des PBSP. Die chirurgische Kontrollgruppe weist gleiche Maße auf, mit Ausnahme von signifikant höheren Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen, was der höheren Komplikationsrate in Bezug auf Pankreatitis und Infektionen in der chirurgischen Kontrollgruppe im Vergleich zum PBSP entspricht.

Die Ergebnisse dieser Leistungsstudie geben einen Hinweis darauf, dass der PBSP in der Lage ist, eine Pankreasleckage nach Anwendung eines Pankreasdefekts in einem Schweinmodell zu kontrollieren. In der Modellentwicklungsphase wurde die optimale Applikationsweise am Pankreasstumpf entwickelt. Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie ist das PBSP als sicher und wirksam für die intra- und postoperative Kontrolle von Pankreasleckagen in einem Pankreasdefektmodell beim Schwein



indiziert. Postoperativ wurde die Pankreasleckage während der 14-tägigen Nachbeobachtung kontrolliert. Seine Leistung ist signifikant besser als die der chirurgischen Kontrollgruppe hinsichtlich des postoperativen Wohlbefindens und der Nebenwirkungen sowie der Befunde bei der Autopsie und Histologie.

### Blutungsversuch

In dieser Studie wurde die Leistung des PBSP mit der Leistung der Konkurrenzprodukte TachoSil und Veriset in einem Blutungsmodell der Schweineleber verglichen. Es sollten 15 Tiere (n = 5 in jeder Gruppe) mit jeweils 10 Leberdefekten eingeschlossen und bis 72 Stunden postoperativ nachbeobachtet werden.

12 Tiere wurden schließlich in die Studie eingeschlossen. Die Gruppen PBSP (Sealing Device) und Veriset nahmen jeweils 5 Tiere in jede Gruppe auf, während die TachoSil-Gruppe nach zwei Tieren aufgrund extrem geringer Leistung des Produktes und daraus resultierendem Tierleid beendet wurde. Der Tierarzt und das Operationsteam (wir) hielten es für unethisch, mehr Tiere in den TachoSil-Arm aufzunehmen.

Die Dauer der Operation unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen. Die Blutungsraten waren wie beabsichtigt im Durchschnitt moderat und in allen drei Gruppen sowohl visuell als auch gravimetrisch gemessen gleich. Die Korrelation zwischen den Bewertungsskalen ist jedoch gering (0,1-0,2, wobei (+/-) 1,0 für perfekte Anpassung steht und 0 für überhaupt keine Anpassung. Basierend auf diesen Ergebnissen ist die visuelle Bewertungsskala nicht repräsentativ für den gravimetrischen Goldstandard. Die Schulung in Bezug auf die visuelle Beurteilung war vor Studienbeginn minimal. Um die visuelle Bewertungsskala für Blutungen zuverlässig verwenden zu können, ist daher in zukünftigen Studien eine gründlichere Schulung in der visuellen Beurteilung erforderlich.

Insgesamt wurden während der Studie 10 unerwünschte Ereignisse berichtet. Es gab 5 produktbezogene schwerwiegende unerwünschte Ereignisse: 3 in der TachoSil-Gruppe und 2 in der Veriset-Gruppe. Alle SUEs in der TachoSil-Gruppe beinhalteten eine unzureichende Leistung des Hämostyptikums intra- und postoperativ, von denen eines zu einem vorzeitigen Abbruch des Tieres und eines zu einer Protokollabweichung führte, die das Tier in die PBSP-Gruppe wechseln ließ. Das dritte

Tier befand sich in einem schlechten Gesundheitszustand, blieb aber bis zur geplanten Beendigung am Leben. Beide SUE in der Veriset-Gruppe wurden aufgrund einer schlechten Leistung der Produkte vorzeitig beendet, eines intraoperativ und eines am ersten postoperativen Tag. Alle anderen UE waren fast schwerwiegend und beinhalteten Appetitlosigkeit, Obstipation, rote Flecken, Fieber oder Wundinfektionen, die entweder mit dem Tiermodell oder mit dem Verfahren zusammenhängen. Es gab keine SUEs oder produktbezogenen UEs in der Sealing Device-Gruppe. Basierend auf den Ergebnissen in Bezug auf die (S)AE kann geschlossen werden, dass das PBSP zur Verhinderung von intra- und postoperativen Blutungen und Gallenleckagen und damit Komplikationen und unerwünschten Ereignissen besser geeignet war als die bereits auf dem Markt etablierten Hämostyptika.

In Bezug auf die postoperative Blutentnahme liegen alle Ergebnisse innerhalb der Referenzwerte, mit Ausnahme von ALT und AST, die strukturell zu hoch sind, während HBE-, Hämoglobin- und Hämatokritwerte während der drei Tage der Nachbeobachtung zu niedrig sind. Diese Ergebnisse sind bei der Nachuntersuchung in einem Leberblutungsmodell zu erwarten. Die Ergebnisse liegen im Rahmen der Erwartungen für die Nachsorge nach einem iatrogenen Leberdefekt, der mit einem Hämostyptikum behandelt wurde. Allerdings wurden die Gerinnungswerte zur Überprüfung der korrekten Heparinisierung nicht ausreichend erhoben. Bei Tier H08-H12 wurde nur PTT gesammelt, die anderen Tiere geben keine Auskunft über eine erfolgreiche Heparinisierung. Generell kann jedoch festgestellt werden, dass bei gleicher Heparinmenge (10.000 Einheiten) vor der eigentlichen Operation und einem ähnlichen Gewicht der Schweine alle Schweine ausreichend gerinnungsdefizient waren. Bei den Tieren, bei denen die PTT-Werte vorliegen, zeigten die Postheparinisierungswerte mindestens ein zwei- bis vierfaches der Werte vor der Heparinisierung (PTT-Mittelwert vor der Heparinisierung 38,75; PTT-Mittelwert nach Heparinisierung 97,50; n = 4). Dies wird bei den TachoSil-Tieren H03 / H06 noch betont, bei denen TachoSil beim heparinisierten Schwein (H06) keine Wirkung zeigte und bei einem TachoSil-Tier, bei dem kein Heparin verabreicht wurde, TachoSil seine Wirkung entfalten konnte (H03). Da die Heparinisierung bei den Tieren H08-H12 laborchemisch aufgezeigt werden kann (bei diesen Tieren wurden die PTT-Werte vor und nach der Heparinisierung gesammelt) und eine ausreichende Heparinisierung nachgewiesen werden konnte, ist ein Rückschluss der Ergebnisse von H08-H12 auf

die anderen Tiere möglich, da das gleiche Heparinisierungsverfahren bei den Schweinen verwendet wurde und diese die gleichen Merkmale aufweisen, dass diese Abweichung keinen Einfluss auf die Studienergebnisse hat.

Bei der Autopsie wurden in der Sealing Device-Gruppe keine Hämatome, Biliome oder Anzeichen von Leberabszessen gefunden, im Gegensatz zu 4 von 5 Tieren mit Hämatombildung in der Veriset-Gruppe. Das eine Tier in der Nekropsie der TachoSil-Gruppe zeigte ebenfalls mehrere ausgeprägte Hämatombildungen. Basierend auf den Obduktionsergebnissen kann der Schluss gezogen werden, dass der PBSP zur Verhinderung von intra- und postoperativen Blutungen und Gallenaustritt besser geeignet war als beide Kontrollprodukte.

Histologisch weist der Befund kurz (1-3 Tage) nach Implantation eines Fremdkörpers auf eine normale Entzündungsreaktion hin. Es gibt keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Es gibt keine unerwarteten Ergebnisse.

Diese Leistungsstudie kommt zu dem Schluss, dass der PBSP in der Lage ist, eine adäquate intraoperative Hämostase in einem Schweineleberdefektmodell zu erreichen. Postoperativ wurde die erneute Blutung in allen Fällen durch den PBSP während der 72-stündigen Nachuntersuchung kontrolliert. Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie ist der PBSP als sicher und wirksam für die intra- und postoperative Blutungskontrolle in einem Blutungsmodell der Schweineleber indiziert. Seine Leistung ist besser als die des Veriset-Geräts und es ist besser als das TachoSil-Gerät in diesem heparinisierten Schweineleberdefektmodell in Bezug auf die intraoperative Blutungskontrolle. Postoperativ schneidet der PBSP hinsichtlich der Kontrolle von erneuten Blutungen und unerwünschten Ereignissen besser ab als das Veriset-Kontrollprodukt. TachoSil konnte postoperativ nicht bewertet werden, da die Patches intraoperativ schlecht funktionierten, was zu einer vorzeitigen Tötung der Versuchstiere in der Gruppe führte.

#### Degradationsversuch

In dieser Studie wurde das Abbauverhalten in Kombination mit den langfristigen lokalen Auswirkungen des PBSP's auf einen oberflächlichen Leberdefekt in einem

Schweinemodell untersucht. Als sekundäres Ziel wurde die Interaktion zwischen dem PBSP und zusätzlichen Materialien in der paravertebralen (autochthonen) Muskulatur bei demselben Tier wie im primären Ziel beschrieben beurteilt. Dieser Abschnitt fasst die Ergebnisse nach 2 Wochen, 3 Monaten, 6 Monaten, 12 Monaten und 15 Monaten nach der primären Operation zusammen.

Für diese Studie wurden 15 Tiere in die Studie aufgenommen. 2 Wochen, 3 Monate, 6 Monate, 12 Monate und 15 Monate nach der Operation wurden je 3 Tiere pro Zeitpunkt geplant, um das Abbauverhalten der Patches auf Leberdefekten und intramuskulär zu beurteilen. Klinische Beobachtungen für unerwünschte Ereignisse wurden täglich durchgeführt. 17 unerwünschte Ereignisse wurden bei 9 verschiedenen Tieren berichtet. Ein Tier in der 3-Monats-Follow-up-Gruppe musste aufgrund einer traumatischen Wunddehiszenz (Platzbauch) am 10. Postoperativen Tag im Rahmen des Follow-up (schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis; Tiermodellbezogen) vorzeitig eingeschläfert werden. Das Tier wurde nicht ersetzt. Die übrigen Tiere zeigten weder im Ernährungszustand noch im Allgemeinzustand klinisch signifikante Auffälligkeiten. Die Tiere spielten weiter mit ihren Spielsachen und zeigten kein komplexes auffälliges Verhalten.

Basierend auf vordefinierten hämatologischen und biochemischen Befunden zeigen postoperative Labormessungen im Durchschnitt ein normales Erholungsmuster nach einer größeren Leberoperation mit Implantation des PBSP`s beim Schwein während der Nachbeobachtung von 6 Monaten. Es gibt einige Ausreißer bei den Ergebnissen bei verschiedenen Tieren, die jedoch kein Muster liefern und vermutlich durch Variationen der Testmethoden verursacht wurden. Insgesamt liegen alle postoperativen Labormaßnahmen im Rahmen der Erwartungen und Referenzwerten und geben keinen Anlass zu Bedenken. Es gibt keine Hinweise auf einen negativen Einfluss des PBSP`s auf die systemische Funktion des Organismus.

Die makroskopischen Befunde waren sehr konsistent: Alle Organe waren normal und die Patches waren immer noch vorhanden. Bei der Nachbeobachtung nach 2 Wochen und 3 Monaten hat sich der Patch aufgrund der visuellen Beobachtung nicht wesentlich abgebaut. Bei der Nachuntersuchung von 6 Monaten ist die weiße Schaumschicht komplett resorbiert und die türkisfarbene Schicht hat begonnen, sich zu zersetzen und

zeigte sich im Rahmen der manuellen Manipulation sehr brüchig. Alle Geräte befinden sich noch am Einsatzort. Bei der Nachuntersuchung von 12 und 15 Monaten sind an einigen Implantationsstellen nur noch minimale Reste der türkisfarbenen Barrierschicht zu finden. Die PBSP's haften auf normale Weise am umliegenden Gewebe, wie es die Organe nach einer Bauchoperation tun, um die wundheilende Oberfläche der Organe zu bedecken und zu stabilisieren. Die Patches induzierten eine Entwicklung einer Fibrinkapsel zur Stabilisierung des Wundheilungsprozesses vor dem Zeitpunkt von 14 Tagen. Es wurden keine Adhäsionen mit anderen umgebenden Geweben beobachtet, abgesehen von den normalen Adhäsionen, die bei der Art der durchgeführten Operation normalerweise beobachtet werden.

Der histologische Befund der Leber unterstützt die makroskopischen Befunde: Es werden keine Auffälligkeiten gefunden. Bis zu 15 Monate nach der Implantation reagieren die Leber- und Muskelbereiche erwartungsgemäß auf eine Fremdkörperimplantation. Nach 2 Wochen Nachbeobachtung kommt es wie erwartet zu einer leichten bis mittelschweren Entzündungsreaktion. Dies wird zu den verbleibenden Zeitpunkten minimiert. Es gibt zu keinem Zeitpunkt Anzeichen einer Mineralisierung und es wurde nur keine bis geringe Nekrose beobachtet. An den intramuskulären Implantationsstellen führt der Patch zu einer Fremdkörperreaktion, die mit der Reaktion beim alleinigen Implantieren des Nahtmaterials vergleichbar ist. Alle anderen Organe wurden auf Anomalien untersucht und zu allen Zeitpunkten wurden keine vorgefunden.

Bis zu 3 Monaten wurde kein merklicher Abbau beobachtet. Zum Zeitpunkt von 6 Monaten war die Schaumschicht vollständig resorbiert und die türkisfarbene Sperrschicht zersetzte sich, was auf eine 50-75% Degradation hinweist. Zum Zeitpunkt der Nachbeobachtung nach 12 Monaten und 15 Monaten waren die Patches deutlich abgebaut oder vollständig resorbiert (75-100%), basierend auf der makroskopischen Auswertung.

Zusammenfassend gibt diese Degradationsstudie einen Hinweis darauf, dass der PBSP im Hinblick auf das Degradationsverhalten bis zu 15 Monate nach der Implantation erwartungsgemäß funktioniert. Die PBSP's hatten sich nach 15 Monaten Nachuntersuchung um ungefähr 75-100 % abgebaut (die weiße Schaumschicht hatte

sich aufgelöst; die türkisfarbene Schicht war größtenteils abgebaut und mit einigen zerbrechlichen Resten resorbiert). Bei histologischen, hämatologischen und biochemischen Markern gibt es keine unerwarteten Befunde. 17 unerwünschte Ereignisse wurden gemeldet, von denen ein schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis nicht mit dem PBSP in Zusammenhang stand. Es gab keine unerwarteten produktbezogenen unerwünschten Ereignisse für den PBSP.

Zusammenfassend bietet das PBSP einen ausreichenden Versiegelungsschutz in vivo und besitzt gleichzeitig ein im Vergleich zu den bereits etablierten Produkten erweitertes hämostatisches Potenzial, während das weit verbreitete TachoSil® im verwendeten heparinisierten Tiermodell keine Hämostase erzielen konnte.

Die im Rahmen dieser Arbeit vorgelegten In-vitro- und In-vivo-Daten legen nahe, dass das PBSP-Design die Anforderungen an ein in der Leber- und Pankreaschirurgie wirksames Versiegelungsprodukt erfüllt. Der in vivo Studie „Galleversuch“ zeigt, dass der PBSP zu einer relativen Risikoreduktion des Gallenaustrittes nach Induktion einer Galleleckage von 80 % führte. In der POPF-Studie (Pankreasversuch) war die Anwendung des PBSPs ebenso wirksam wie das Übernähen des Pankreasstumpfes, der als Goldstandard bei Pankreas-Linksresektionen gilt (45). Ein wichtiges Ergebnis ist, dass der PBSP keine schwere Pankreatitis auslöste, da es sich um eine leichte Pankreatitis ohne Ansammlung von Pankreasflüssigkeit handelte. Während in der chirurgischen Kontrollgruppe fünf von sieben Tieren eine schwere Pankreatitis bei der Autopsie zeigten.

Dies ist das erste biologisch abbaubare Produkt mit einer dauerhaften Resistenz gegen Pankreassaft und Galle. Der PBSP ist in der Lage, klinisch relevante Pankreasfisteln abzuwenden und ist daher ein vielversprechender Kandidat für die weitere Evaluierung in klinischen Studien.

Es gibt Einschränkungen für diese Studie. Die Zugprüfung zeigt die anfängliche Haftung des Patches nach dem Auftragen an. Je stärker der Patch an der Organoberfläche haftet, desto besser verhindert es POPF und Gallenaustritt und sorgt für eine Hämostase. In der Literatur sind jedoch keine klinisch relevanten Schwellenwerte verfügbar und der Test diente zur Charakterisierung des PBSP in den unterschiedlichen Stadien der Produktentwicklung im Vergleich zu den Konkurrenzprodukten. Bei den In-vitro-Experimenten erschwerte der Autolyseprozess der Leber die Interaktion mit den Hämostyptika. Darüber hinaus können



Gallenleckagen und deren Interaktion mit den applizierten Hämostyptika in vitro nicht untersucht werden, da die klinisch relevanten parenchymalen Gallenleckagen in der Regel wenige Tage postoperativ auftreten. Die damit verbundenen dynamischen Prozesse bei Reparatur- und Reorganisationssprozessen können nicht nachgeahmt werden. Daher waren die In-vivo-Experimente von entscheidender Bedeutung und notwendig. Darüber hinaus hatten die diversen Blockaden und Verstopfungen der Drainagen im Tiermodell einen erheblichen Einfluss auf die postoperative Enzymbestimmung. Umso wichtiger waren die Ergebnisse der Obduktionen und eine POPF zeigte sich durch einen Anstieg der Enzymwerte, aber auch durch die Obduktionsbefunde. Bei diesen Sektionsbefunden waren die mit dem PBSP behandelten Tiere vor Komplikationen im Zusammenhang mit Pankreasfisteln oder Gallenaustritt geschützt. Zusammengenommen zeigten die Tierversuche die Sicherheit und Wirksamkeit des PBSP im Rahmen von Pankreas- und Leberoperationen.

Das neu entwickelte PBSP funktionierte sowohl in Gallen- als auch in Pankreas-Leckage-Tiermodellen zuverlässig und reproduzierbar. Es ist jedoch schwierig, die wahre Komplexität von Operationen am Menschen, wie zum Beispiel erkrankte Organe, sowie Risikofaktoren für Pankreasfisteln und Gallenaustritt in einem gesunden Tiermodell darzustellen. Aufgrund der oben genannten Einschränkungen, einschließlich der nicht zu verwertbaren Drainagen und unterschiedlicher Enzymsekretionen in einem Schweinetiermodell, kann das In-vivo-POPF- und Gallenmodell diese Bedingungen und die Effizienz des PBSP nur nachahmen. Es ist auch wichtig zu beachten, dass die Ergebnisse nur teilweise auf die HPB-Chirurgie übertragen werden können.

Daher ist ein Pilotprojekt am Menschen, gefolgt von einer randomisierten kontrollierten klinischen Studie, um die Evidenz zu stärken, geplant.

Aufgrund des breiten Anwendungsfeldes und der vielversprechenden Effekte, die in dieser Studie gezeigt wurden, könnte die Gewebeversiegelung für die Routinechirurgie wünschenswert sein, insbesondere aufgrund der Kosteneinsparung durch Reduzierung von Komplikationen und auch aufgrund der Zeitersparnis für Patienten mit malignen Erkrankungen des HPB-Systems. Um den Weg in den klinischen Alltag zu ebnen, bedarf es einer gesundheitsökonomischen Analyse, die aktuelle Folgekosten und Einsparpotenziale durch eine effiziente Gewebeversiegelung analysiert.

Zusammenfassend wurde ein dediziertes und leistungsstarkes funktionelles Gewebeversiegelungspatch auf evidenzbasierte Weise entwickelt, welche einschließlich In-vitro- und in den In-vivo-Tests aufgezeigt werden konnte. Durch die Anwendung des neuen PBSP konnten wir erstmals eine Reduktion eines klinisch relevanten Gallen- und Pankreaslecks zeigen. Darüber hinaus war die hämostatische Leistung mindestens so hoch oder besser als die Leistung etablierter hämostatischer Produkte. Diese Ergebnisse sind vielversprechend für eine zukünftige klinische Anwendung dieses neuartigen synthetischen und biologisch abbaubaren mehrschichtigen Versiegelungspatches auf Polyurethanbasis für die HBP-Chirurgie.

## **7 ZUSAMMENFASSUNG**

### **Ziel:**

Ziel dieser Forschungsarbeit ist die Bewertung der praktischen Anwendbarkeit eines neuen synthetischen und biologisch abbaubaren Versiegelungspatches (auf Polyurethanbasis) (PBSP) für die Hepato-Pankreato-Biliäre-Chirurgie (HPB).

### **Zusammenfassende Hintergrunddaten:**

Bisher sind liegen keine zugelassenen Versiegelungspatches zur Vorbeugung von postoperativen Pankreasfisteln (POPF) oder Gallenleckagen vor.

### **Methoden:**

Nach dem Benchmarking des PBSP mit im Handel erhältlichen Produkten mit historischer Verwendung in der HPB-Chirurgie (Tachosil®, Hemopatch® und Veriset®) wurden Leistungstests in randomisierten kontrollierten Tierversuchen mit Schweinen durchgeführt. Diese Studien konzentrierten sich auf die Blutstillung sowie die Verhinderung von POPF und Gallenleckagen.

### **Ergebnisse:**

Das neu entwickelte PBSP übertraf Tachosil®, Hemopatch® und Veriset® bei Zugversuchen ( $p < 0,05$ ). Das neue Pflaster war das einzige Pflaster mit vollständiger intra- und postoperativer Blutstillung (72 Stunden nach der Anwendung) im Vergleich zu Tachosil® und Veriset® in einer Schweineleberabriebstudie an 12 Tieren ( $p > 0,05$ ). Zusätzlich verhindert das neue Pflaster nachweislich die Entwicklung von POPF ( $p < 0,05$ ) und die Rate der postoperativen Pankreatitis war signifikant niedriger ( $p < 0,05$ ) im Vergleich zu den Kontrollgruppen in einem Schweinepankreasfistelmodell bei 24 Tieren (siehe oben). Darüber hinaus war die Inzidenz von Gallenleckagen nach 7 Tagen in der neuen Versiegelungsgruppe im Vergleich zur Veriset®-Gruppe signifikant niedriger ( $p < 0,05$ ) und ebenso gut wie das Nähen (positive Kontrollgruppe) in einem Schweinegallenleckagemodell basierend auf 21 Tieren (7 Tage Follow-up).

### **Schlussfolgerungen:**

Dies ist unseres Wissens der erste Bericht über ein bioresorbierbares Versiegelungsfließ, das postoperative Pankreasfisteln und Gallenleckagen verhindert. Die vielversprechenden präklinischen Daten rechtfertigen klinische Studien zur weiteren Bewertung dieses neu entwickelten Patches am Menschen.

### **7.1 Abstract**

**Objective:** To assess the feasibility of a new synthetic and biodegradable polyurethane-based sealant patch (PBSP) for hepato-pancreato-biliary (HPB) surgery.

**Summary background data:** To date, no approved sealants are available indicated for the prevention of postoperative pancreatic fistulas (POPF) or bile leakage.

**Methods:** Benchmarking of the PBSP with commercially available products with a historical use in HPB surgery (Tachosil®, Hemopatch® and Veriset®) was followed by

performance testing in randomized controlled porcine animal studies. These studies focused on haemostasis as well as preventing of POPF and bile leakage.

**Results:** The newly designed PBSP outperformed Tachosil®, Hemopatch® and Veriset® in tensile testing ( $p < 0.05$ ). The new patch was the only patch with complete intra- and postoperative hemostasis (72 hours after application) compared to Tachosil® and Veriset® in a porcine liver abrasion study on 12 animals ( $p > 0.05$ ). Additionally, the new patch demonstrably prevents the development of POPF ( $p < 0.05$ ) and the rate of postoperative pancreatitis was significantly lower ( $p < 0.05$ ) as compared to the control groups in a porcine pancreatic fistula model on 24 animals (14 days follow-up). Furthermore, the incidence of bile leakage after 7 days was significantly lower in the new patch group compared to the Veriset® group ( $p < 0.05$ ) and as good as suturing in a porcine bile leakage model based on 21 animals (7 days follow-up).

**Conclusions:** This is – to our knowledge - the first report of a bioresorbable patch, which prevents pancreatic fistulas and bile leakage. The promising preclinical data justify clinical trials for further evaluation of this newly developed patch.

## 8 ANHÄNGE

### 8.1 Galleversuch

#### 8.1.1 APPENDIX A: Postoperative Galleleckage Tabelle

Group/Animal	Day	Billirubin (mg/dl) Blood	Billirubin (mg/dl) Drain	Visual color observation
Sealing Device	1	0,176		
#11	3	0,159	0,188	serous
	7	hemolysis	1,025	serous
Sealing Device	1	0,147		
#12	3	0,206	0,39	serous
	7	0,153	1,1	serous

Sealing Device	1	0,224		
#13	3	0,141	0,443	serous
	7	hemolysis	0,606	serous
Excluded	1	-	-	-
#14	3	-	-	-
	7	-	-	-
Sealing Device	1	0,188		
#15	3	0,135	0,129	serous
	7	0,171	0,218	serous
Veriset	1	0,194		
#16	3	0,176	0,376	serous
	7	0,159	12,141	yellow/brown
Surgery	1	0,182		
#17	3	0,171	0,147	serous
	7	0,112	0,688	serous
Surgery	1	0,153		
#18	3	0,176	0,129	serous
	7	0,171	0,288	serous
Surgery	1	0,235		
#19	3	0,188	0,241	serous
	7	0,171	0,712	serous
Surgery	1	0,182		
#20	3	0,01	0,082	serous
	7	0,182	0,465	serous
Veriset	1	0,171		
#21	3	0,165	0,018	serous
	7	0,171	25,429	yellow/brown
Veriset	1	0,171		
#22	3	0,171	0,265	serous
	7	0,188	40,276	yellow/brown
Surgery	1	0,159		
#23	3	0,153	0,394	serous
	7	0,153	0,665	serous
Veriset	1	0,171		
#24	3	0,159	0,429	serous
	7	0,135	11,935	yellow/brown
Excluded	1			
#25	3			-
	7			-
Sealing Device	1	0,265		

#26	3	0,088	0,218	serous
	7	0,194	0,247	serous
Veriset	1			
#27	3	0,165	0,406	serous
	7	0,265	0,759	yellow/brown
Surgery	1	0,2		
#28	3	0,182	0,112	serous
	7	0,171	5,153	yellow/brown
Sealing Device	1	0,182		
#29	3	0,171	0,2	serous
	7	0,165	2,176	yellow
Veriset	1	0,182		
#30	3	0,188	0,176	serous
	7	0,171	0,541	yellow/brown
Surgery	1	0,376		
#31	3	0,235	0,194	serous
	7	0,2	0,418	serous





<b>Animal</b>	<b>Group</b>	<b>Polymorphonuclear cells</b>	<b>Lymphocytes</b>	<b>Plasma cells</b>	<b>Macrophages</b>	<b>Giant cells</b>	<b>Necrosis</b>	<b>Neovascularisation</b>	<b>Fibrosis</b>	<b>Fatty infiltrate</b>
17	Suturing	3	1	1	1	2	1	3	1	0
18	Suturing	4	1	1	1	0	1	3	1	0
19	Suturing	2	1	1	1	3	1	3	1	0
20	Suturing	3	2	2	2	0	3	3	1	0
23	Suturing	3	2	2	2	0	1	3	0	0
28	Suturing	4	1	1	1	0	2	2	0	0
31	Suturing	4	1	1	1	0	1	3	1	0
	<b>Average</b>	<b>3.3</b>	<b>1.3</b>	<b>1.3</b>	<b>1.3</b>	<b>0.7</b>	<b>1.4</b>	<b>2.9</b>	<b>0.7</b>	<b>0.0</b>
	<b>Stdev</b>	<b>0.8</b>	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>1.3</b>	<b>0.8</b>	<b>0.4</b>	<b>0.5</b>	<b>0.0</b>

<b>Animal</b>	<b>Group</b>	<b>Polymorphonuclear cells</b>	<b>Lymphocytes</b>	<b>Plasma cells</b>	<b>Macrophages</b>	<b>Giant cells</b>	<b>Necrosis</b>	<b>Neovascularisation</b>	<b>Fibrosis</b>	<b>Fatty infiltrate</b>
16	Veriset	3	1	1	1	0	1	2	1	0
21	Veriset	3	2	2	2	3	1	3	1	0
22	Veriset	4	1	1	1	4	2	3	1	0
24	Veriset	3	2	2	2	0	2	2	0	0
25	Veriset	Excluded	Excluded	Excluded	Excluded	Excluded	Excluded	Excluded	Excluded	Excluded
27	Veriset	4	1	1	1	4	1	1	1	0
30	Veriset	3	2	2	2	0	3	2	1	0
<b>Average</b>		<b>3.3</b>	<b>1.5</b>	<b>1.5</b>	<b>1.5</b>	<b>1.8</b>	<b>1.7</b>	<b>2.2</b>	<b>0.8</b>	<b>0.0</b>
<b>Stdev</b>		<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>2.0</b>	<b>0.8</b>	<b>0.8</b>	<b>0.4</b>	<b>0.0</b>

### 8.1.3 APPENDIX C: Übersicht der unerwünschten Ereignisse

Group	Pig Number	AE number	Description	Relatedness grading	Severity Grading
	S14	S14-1	Surgery – Peritonitis. Animal excluded from study.	Animal model related	Serious
	S26	S26-1	Surgery day - slight dyspnea, not related to tightness of neck bandage. Quick and good recovery. Not related to device.	Procedure related	Not Serious
	S26	S26-2	Day 6 - Big volume serous liquid from wound; no dehiscence visible. Pig does not allow close inspection. Pig in good mood and healthy temperature, will therefore get inspected after necropsy.	Procedure related	Not Serious
<b>Veriset</b>	S16	S16-1	Surgery Day - Low appetite and nausea. Treated with infusion and MCP. Better later on the day at Day 2.	Animal model related	Not Serious
	S24	S24-1	Day 7 - Wound dehiscence in caudal part. Left untreated due to imminent necropsy.	Procedure related	Not Serious
	S25	S25-1	Surgery day - Severe dyspnoea and pneumonia postoperatively. Developed lung edema. Treated with diuretics, steroids and oxygen but animal died during the evening hours. Suspected cause of death at necropsy is intestinal torsion and gastric dilation due to dyspnoea and death from cardiovascular collapse. Not device-related.	Procedure related	Serious
	S30	S30-1	Day 3 - Light diarrhea	Animal model related	Not Serious
	S30	S30-2	Day 4 - Wound slight bleeding during movement; plm. 2 cm wound dehiscence in caudal part of wound. Wound cleaned and treated locally. Treatment (aseptically) at day 5 as well. Wound only affects skin layer. Analgesics and antibiotics during whole 7 days, so no additional burden to the animal.	Procedure related	Not Serious
<b>Surgical Control</b>	S18	S18-1	Day 6 - Fever (but good appetite). Fever treated with 4ml Metamizol. Resolved.	Animal model related	Not Serious
	S19	S19-1	Day 2 - Slight diarrhea, little appetite; treated with infusion and Metronidazol IV. Continued until Day 3 and then resolved.	Animal model related	Near Serious

	S23	S23-1	Day 7 - Wound dehiscence in caudal part of wound, necrotic and purulent. Wound open and infected. Left untreated due to imminent necropsy.	Procedure related	Not Serious
	S28	S28-1	Day 2 - Light diarrhea	Animal model related	Not Serious
	S28	S28-2	Day 2 - Slight hyperema around surgical site. Treated locally with aseptic spray; solved by day 4.	Procedure related	Not Serious
	S31	S31-1	Day 4 - Light diarrhea	Animal model related	Not Serious

## 8.2 Pankreasversuch

### 8.2.1 APPENDIX D: OP -und Nekropsiedaten

Aufgrund der großen Anzahl von Bildern, die während der Operation und der Autopsie gesammelt wurden, wurden alle Bilder getrennt von dieser Arbeit in einer Datenbank gesammelt. Repräsentative Bilder für alle Gruppen sind in dieser Arbeit enthalten.

	<b>Necropsy findings in Case Report File</b>
<b>Model development group</b>	
P01	Fluid collection in surgical field
	Put some extra fluid in blood sample fuses for reevaluation
	Drains were not sufficient enough to collect the fluid because the drains were filled with fibrin and dirt
	Local pancreatitis
P02	Big wound infection
	No Fascia dehiscence
	Fluid collection between pancreas and gastro
	Patches were contained in fibrin capsule on the pancreas tail stump
	Peritonitis
P03	No remarks
P04	No remarks
P05	Pancreatitis seen
	Spleen stick of the stump on the pancreas
	Mild wound infection
	Clotted drains
	Part of the gastro stuck to the pancreatic region
	Part of pancreatitis process was spread to the bowel
P06	Local pancreatitis
	No wound infection
	Fluid collection between stomach and pancreas
P07	Mild pancreatitis process
	We saw fluid collection under the patch
	Patch did not attach perfectly on the pancreas
	A lot of fibrin layers between the intestine
P08	Inflamed spleen in the caudal pole
	Spleen attached to the pancreatic region
	Pancreas looks not good (pancreatitis)
	Fluid collection between kidney and pancreas and spleen
P09	No remarks
P10	Euthanized after day 5 (pig did not eat or drink much, did not move well; had a lateral hernia in the wound)
	No fluid collection
	Good attachment of patch

	No pancreatitis process in the rest of the pancreas; just the stump region where patch was
	Fibrin capsule got covered up by spleen
<b>Sealing device group</b>	
P14	Small infection wound
	Adhesion of gastro and bowel superficial
	Good clean pancreatic region
	No fistula formation
	Capsule on the pancreas
P16	Necropsy was done after second re-operation (5 PM) at 8 PM in the evening by the veterinarian (Aline Reitmeier)
	because the pig was still very bad and clearly in pain.
	The pictures were done under anesthesia and sent to a specialized pathologist.
	The intestine shows clear signs of ischemia. So probably there was a bowel torsion during wake up phase.
P17	Good patch adhesion, no fluid collection present
	Wound infection with abscess formation (superficial)
P22	Clear abdomen
	Spleen attached on the fibrin capsule where the patch was within
	No pancreatitis macroscopically
P19	Small wound infection
	No adhesive of the bowel
	No pancreatic leakage
	Patch at same place
	Drains were not at same place
P20	No peritonitis or adhesions between bowel
	Stable patch-fibrin capsule formation on the stump
	No hematoma formation
	No fluid collection
	Spleen attached on the fibrin capsule
P21	Drains full of fibrin and dislocated
	Minimal adhesions between bowel
	No fluid collection in pancreatic area
	Patch was good attached
	No pancreatitis
<b>Surgical Control group</b>	
P11	Pancreatitis process
	Local peritonitis, milky fluid collection and blood
	No CT scan done
	Wound looked good
P12	Massive adhesions: spleen totally adhered to pancreas and bowel
	Spleen rupture due to mobilization process
	Just small piece of pancreas was left

	Big wound infection with fat and muscle necrosis; outside the cavity wall
P13	Fulminant wound infection
	Very bad pancreatitis
	Sticking bowel
	Fluid collection present
P15	Fibrin structure nearby pancreas region was obstructing bowel -> mechanical ileus
	Big gastroparesis (puke clinically)
	Pancreatitis with hematoma
	Big wound infection with muscle and fat necrosis
P23	Massive adherence between the bowel and operated area
	Suture was loose on the stump with moderate pancreatitis process
	Hematoma formation near the pancreatic stump
	Fluid collection present
P24	Massive adherence with fibrin layer between the bowel and operated area
	Hematoma formation in the stump region
	Moderate pancreatitis
P18	Big fascia dehiscence, wound infection, ruptured suture, intra-abdominal infection.
	Pancreas was auto digestive, suture was not present at its place, no fluid collection, bowel was partially black
	through the fascia dehiscence.
	No necropsy pictures available (no assistance early in the morning)



## 8.2.2 APPENDIX E: Unerwünschte Ereignisse

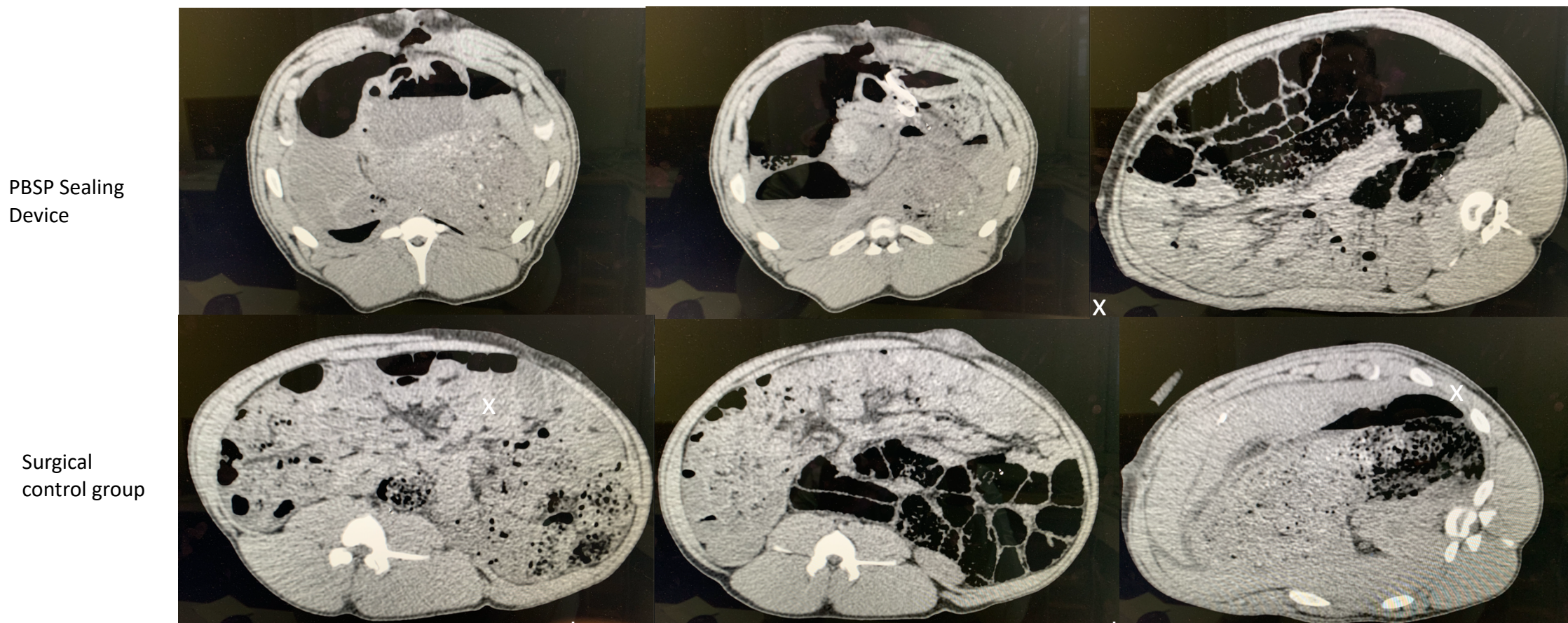
Group	Animal number	AE number	Timepoint	Description	Relatedness grading	Severity Grading
Model development	P01	P1-01	Surgery	Accidental damage of the duodenum (Pars horizontalis). Sutured with 4.0 PDS.	Procedure related	Not serious
		P1-02	Day 1	Low appetite in afternoon, better after additional analgesia. Not steady on legs, lying most of time. Analgesia and Novalgine twice daily until Day 2.	Animal model related	Not serious
	P02	P2-01	Surgery	Very rough recovery, high lactate, long time to standing (into day 1 troubles standing). IV AB metronidazol and ceturoxim post op, 1 day post op almost recovered. Good appetite.	Procedure related	Not serious
		P2-02	Day 2	Suspected wound hernia. Extra monitoring (4x daily).	Procedure related	Not serious
		P2-03	Day 4	Very quiet, does not want to walk. Very reduced, so working group decided to euthanize at Day 5 instead of monitoring over the weekend.	Procedure related	Serious
	P04	P04-01	Day 1	Very weak. Revision surgery to stop bleeding from pancreatic stump. Hb 4.7 g/dL, stable since yesterday, warming with blankets. NaCl infusion 500mL. Temp 35.7 degrees C before treatment. Resolved day 3.	Procedure related	Serious

	P04-02	Day 3	Pain in afternoon, treated with added Metamizol. Better on day 4.	Procedure related	Near serious
P05	P05-01	Day 1	Lying a lot. Treated with 2ml MCP in infusion (NaCl). 2ml Buprenovet iv.	Animal model related	Not serious
	P05-02	Day 4	Not very happy. 2ml MCP in 250ml NaCl infusion and 1.5ml Buprenovet iv.	Animal model related	Not serious
P06	P06-01	Surgery	Very hectic recovery, hyperthermic, excitation. Did not readily stand up, paresis of right hind limb. Went on until Day 1	Procedure related	Not serious
P07	P07-01	Day 2 - 4	Wound swollen; subcutaneous infection. Treatment with Amox/clav.	Procedure related	Near serious
	P07-02	Day 3	Diarrhea from oral AB; treated with Stulmisan	Animal model related	Not serious
P08	P08-01	Day 1 - 6	Red and swollen wound; hematoma. Treated with Amoxicillin and Clavulanic acid (oral).	Procedure related	Near serious
	P08-02	Day 5	Diarrhea; treated with stulmisan powder, probably caused by oral antibiotics.	Animal model related	Not serious
	P08-03	Day 6/7	No appetite; treated with 2ml Metclopamid in 250ml NaCl against nausea. Not resolved at termination.	Animal model related	Not serious
P09	P09-01	Day 2	Poor appetite in the morning; better after pain meds	Animal model related	Not serious
	P09-02	Day 2	Analgesia - add on Metamizol. Small hematoma at incision site.	Procedure related	Not serious
	P09-03	Day 4	Poor appetite; better after Metoclopramid and 250ml NaCl	Animal model related	Not serious

<b>Sealing Device</b>	P14	P14-01	Day 2	Reduced food intake; kept up till day 4 then received extra pain treatment. Resolved at day 5	Animal model related	Not serious
	P16	P16-01	Surgery	Euthanasia due to very ill pig. Re-operated at evening of surgery. Unable to find exact cause of ill performance, most probably intestinal problems (torsion). Pig euthanised.	Animal model related	Serious
	P19	P19-01	Day 3	Reduced food intake, resolved at day 4	Animal model related	Not serious
		P19-02	Day 7	CVC loose (scratched fi); replaced under anesthesia. No implications for pig.	Animal model related	Not serious
	P20	P20-01	Day 2	Reduced; does not want to move. Diarrhea. Resolved day 4.	Animal model related	Not serious
	P21	P21-01	Day 2	Reduced, does not want to move. Resolved at day 5.	Animal model related	Not serious
		P21-02	Day 3	CVC loose (scratched fi); replaced under anesthesia. No implications for pig.	Animal model related	Not serious
	P22	P22-01	Day 1	CVC loose (scratched fi); replaced under anesthesia. No implications for pig.	Animal model related	Not serious
<b>Surgical Control</b>	P15	P15-01	Day 2	Euthanasia at day 2 due to mechanical ileus, gastroparesis, pancreatitis and wound infection (cause: torsion of small intestine)	Procedure related	Serious
	P18	P18-01	Surgery	Difficult recovery (standing up). Resolved at day 2.	Animal model related	Near serious

		P18-02	Day 10	Euthanasia at day 10 due to wound dehiscence and infection; most probably due to scratching at sutures with hind paw.	Animal model related	Serious
	P24	P24-01	Day 2 - 3	Quiet; does not want to move. No eating/drinking.	Animal model related	Not serious
		P24-02	Day 4	Animal died at day 4 (night day 3 to day 4) due to most probably multi system organ failure due to failure surgical pancreas defect treatment.	Procedure related	Serious

### 8.2.3 APPENDIX F: Computertomographie Bilder



**Abbildung 55**

x) Ehemaliger chirurgischer Bereich in der PBSP Gruppe – KEINE Ansammlung von Pankreasflüssigkeit

\*) Ehemaliger OP-Bereich der OP-Kontrollgruppe mit Flüssigkeitsansammlung

Alle CT-Scans wurden 14 Tage post mortem gemacht (bevor die Nekropsien durchgeführt wurden))

In der chir. Kontrollgruppe ist eine deutliche Flüssigkeitsbildung an der Resektionsfläche (linke laterale Pankreasresektion) zu erkennen. Außerdem ist eine Erweiterung der Gallenwege und Flüssigkeitsbildung im Sinne einer Pankreasveränderung des Pankreasparenchyms zu erkennen, die im Vergleich zur PBSP Gruppe nicht erkennbar ist.

Die Dilatation der Gallengänge, die im Rahmen der CT-Untersuchung in der chirurgischen Kontrollgruppe nachweisbar ist, ist ein indirekter Hinweis auf eine gallenmechanische Kompression durch das intrahepatische und extrahepatische Gallengangssystem, die auf eine Pankreatitis oder andere Obstruktionen zurückzuführen ist während der Operation.

## 8.3 (Leber)Blutungsversuch

### 8.3.1 APPENDIX G: OP -und Nekropsiedaten

Aufgrund der großen Anzahl von Bildern, die während der Operation und der Autopsie gesammelt wurden, wurden alle Bilder getrennt von dieser Arbeit in einer Datenbank gesammelt. Repräsentative Bilder für alle drei Gruppen sind in der Arbeit enthalten.

Pig number	Rebleeding	Hematoma	Bile leakage after intervention	Remarks
<b>Sealing Device</b>				
H01	None	None	None	No dehiscence of the wound
				Good wound healing
				All patches were at the same place
				All patches showed stable hematoma
				Patches which stuck to the abdominal cavity were displaced during the preparation
H02	None	None	None	No remarks
H07	None	None	None	No hematoma formation
				Loose sutures in the fascia
				No wound infection
H09	None	None	None	No hematoma formation
				All patches in their places
				No wound infection
H12	None		None	No bleeding
				Superficial wound infection

		Stable hematoma formation under the patch		Stable hematoma formation under the patch
<b>TachoSil</b>				
H03	Several spots	Several spots with hematoma	None	Several spots with hematoma formation diue wound healing process and fibrin layers
				No clear identification which spot was the one for picture
H06	NA	NA	NA	No necropsy due to early termination after surgery
<b>Veriset</b>				
H04	Patch 1	Patch 1	None	Hematoma formation around patch 1
H05		Retrohepatic 2 spots with bad hematoma	None	Retrohepatic little hematoma formation
				2 spots on veriset device and bad hematoma formation
H08	NA	NA	NA	Early termination; no remarks
H10	Multiple spots	Big fluid collection retrohepatic and retrosplenic	None	Rebleeding of general positions with big fluid collection retrohepatic and retrosplenic
				Necropsy plm. 2 hrs after surgery due to failure patches.
H11	Multiple	Retrohepatic blood; multiple hematomas	None	Retrohepatic blood
				4-5 patches not attached and migrated
				Multiple hematoma formation



### 8.3.2 APPENDIX H: Unerwünschte Ereignisse

Group	Animal number	AE number	Time point	Description	Relatedness grading	Severity Grading
<b>Sealing Device</b>	H01	H01-01	Day 1	A little reduced and low appetite, better after medicine (2ml MCP and 250 NaCl infusion)	Animal model related	Not serious
	H02	H02-01	Surgery	Animal got red spots during recovery; 100mg Prednisone iv. Smooth recovery	Procedure related	Not serious
	H07	H07-01	Surgery	Started as TachoSil animal, then switched to Sealing Device group due to very poor performance TachoSil. After switch everything went smooth, Sealing Device worked perfectly on all defects	Device related ( <i>TachoSil</i> )	Serious
	H12	H12-01	Surgery	Animal doing very poor; fever. Echography; no blood intra abdomen. Prednisolone given. Animal did better in the evening (feed and drink).	Procedure related	Near serious
<b>TachoSil</b>	H06	H06-01	Surgery	Euthanasation of animal due because of failure patches 1-3 to control bleeding intra-operatively	Device related	Serious
	H03	H03-01	Day 1-3	Animal health very poor	Device related	Serious
<b>Veriset</b>	H08	H08-01	Day 1	Euthanasia because of multifocal organ failure	Procedure related	Serious
	H04	H04-01	Day 1	Obstipation. Solved by day 2	Animal model related	Not serious
	H10	H10-01	Surgery	Re-bleed at defect 10 twice during surgery; re-bleed at defect 9 during closure. Animal deteriorated quickly after surgery, was euthanised plm 2 hours after surgery. At	Device related	Serious

				necropsy, it turned out defect 1-3 had started to bleed again (patches gone). Death due to ill performance patches		
	H11	H11-01	Surgery	Animal doing very poor; fever. Echography; no blood intra abdomen. Prednisolone given. Animal did better in the evening (feed and drink)	Procedure related	Near serious

### 8.3.3 APPENDIX I: Postoperative Blutprobengewinnungen

Group		Animal number	Day																															
Sealing Device			Leucocytes	Erythrocytes	Hemoglobin	Hematocrit	MCV	HBE (MCH)	MCHC	Thrombocytes	Alcalic Phosphate	A ST (GOT)	A LT (GPT)	y-GT	Bilirubin (complete)	Bilirubin (direct)	LDH	Alph-Amylase	Lipase	Lactate	CRP	Creatinine	Harnstoff	Natrium	Kalium	Calcium	Magnesium	Chloride	Phosphate					
		H01	0,1	17,9	6,7	114,0	0,4	52,4	17,1	32,6	456,0	161,0	28,0	76,0	37,0	5,6	1,5	3,4	NA	NA	NA	>150,00	122,0	3,0	136,0	3,8	NA	0,8	99,0	NA	NA	NA	NA	NA

		0,2	15,2	5,5	92,0	0,3	54,4	16,6	30,6	301,0	144,0	63,0	59,0	29,0	4,9	1,4	NA	NA	NA	NA	>150,00	119,0	3,1	138,0	4,8	NA	0,8	98,0	NA	
		1	19,5	5,2	86,0	0,3	53,0	16,6	31,3	354,0	271,0	170,0	91,0	34,0	6,6	2,0	NA	NA	NA	NA	>150,00	126,0	4,9	141,0	3,8	NA	0,7	98,0	NA	
		2	31,2	6,1	102,0	0,3	55,0	16,8	30,6	288,0	228,0	114,0	106,0	50,0	3,8	1,0	NA	NA	NA	NA	>150,00	113,0	3,8	139,0	4,5	NA	0,8	98,0	NA	
		3	26,5	6,1	103,0	0,3	52,9	16,8	31,8	327,0	297,0	92,0	99,0	46,0	3,1	0,7	NA	NA	NA	NA	>150,00	105,0	3,2	141,0	4,3	NA	0,8	103,0	NA	
	H02	0,1	20,5	6,8	104,0	0,3	47,4	15,2	32,1	514,0	197,0	38,0	63,0	44,0	2,8	0,6	NA	NA	NA	NA	>150,00	111,0	2,5	138,0	3,8	NA	0,8	101,0	NA	
		0,2	19,5	5,8	90,0	0,3	47,2	15,6	33,1	424,0	173,0	114,0	54,0	41,0	3,0	0,6	1,9	NA	NA	NA	>150,00	104,0	2,4	139,0	4,4	NA	0,8	101,0	NA	
		1	23,8	7,1	111,0	0,3	45,2	15,6	34,6	246,0	214,0	267,0	NA	53,0	NA	0,6	NA	NA	NA	NA	>150,00	130,0	7,2	109,0	28,2	NA	0,8	95,0	NA	
		2	27,0	6,7	104,0	0,3	48,2	15,6	32,3	385,0	167,0	87,0	99,0	39,0	2,3	0,3	NA	NA	NA	NA	>150,00	114,0	4,4	140,0	4,6	NA	0,7	105,0	NA	
		3	25,6	6,4	97,0	0,3	49,2	15,2	30,9	338,0	218,0	62,0	96,0	40,0	2,3	0,2	NA	NA	NA	NA	>150,00	94,0	2,9	140,0	4,6	NA	0,8	101,0	NA	
	H07	0,1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		0,2	13,8	5,3	91,0	0,3	55,5	17,0	30,7	115,0	125,0	56,0	94,0	36,0	2,3	0,5	1,7	446,0	NA	NA	14,2	125,0	3,0	141,0	4,4	NA	0,9	102,0	NA	
		1	21,9	6,1	104,0	0,3	55,4	17,1	30,9	148,0	151,0	124,0	118,0	45,0	2,7	0,5	756,0	4727,0	NA	NA	>150	137,0	3,8	144,0	4,0	2,3	0,7	101,0	NA	
		2	18,7	6,4	111,0	0,4	57,1	17,4	30,5	216,0	119,0	87,0	131,0	43,0	2,3	<0,17	727,0	4454,0	NA	NA	>150	131,0	3,8	144,0	4,2	2,4	0,8	103,0	NA	
		3	19,1	6,4	113,0	0,4	56,6	17,6	30,5	114,0	110,0	54,0	124,0	41,0	2,4	0,2	634,0	3313,0	NA	NA	>150	119,0	3,6	142,0	4,2	2,5	0,8	100,0	NA	
	H09	0,1	17,3	6,8	112,0	0,4	50,8	16,4	32,3	545,0	140,0	48,0	91,0	57,0	3,5	0,6	670,0	2038,0	NA	NA	>150	126,0	4,2	140,0	4,1	2,4	0,9	99,0	NA	

		0,2	20,6	6,7	110,0	0,3	48,8	16,4	33,6	663,0	121,0	66,0	76,0	40,0	5,2	1,2	600,0	1538,0	NA	NA	110,8	119,0	3,7	139,0	4,1	2,3	0,9	9,9	NA	
		1	26,3	6,7	110,0	0,3	50,6	16,4	32,4	613,0	165,0	163,0	87,0	44,0	3,7	1,1	1029,0	1806,0	NA	NA	>150	156,0	5,1	142,0	4,3	2,0	0,8	1,0	NA	
		2	30,5	7,0	115,0	0,4	52,4	16,5	31,5	662,0	154,0	103,0	92,0	42,0	3,3	0,6	898,0	1847,0	NA	NA	>150,00	141,0	4,5	141,0	4,5	2,1	0,8	1,0	NA	
		3	30,4	7,3	119,0	0,4	51,7	16,2	31,4	673,0	330,0	102,0	95,0	59,0	3,5	0,6	945,0	1760,0	NA	NA	>150,00	118,0	3,8	140,0	4,8	2,2	0,8	1,0	NA	
	H12	0,1	23,2	6,9	114,0	0,4	50,4	16,6	33,0	489,0	197,0	74,0	96,0	49,0	3,5	0,7	928,0	1937,0	NA	NA	>150,00	83,0	2,5	143,0	3,8	2,5	0,9	1,0	NA	
		0,2	28,2	5,9	98,0	0,3	50,9	16,7	32,8	402,0	165,0	87,0	77,0	32,0	3,6	1,0	729,0	1465,0	NA	NA	>150,00	87,0	2,7	144,0	3,9	2,5	0,9	1,0	NA	
		1	21,0	7,3	123,0	0,4	50,6	16,9	33,4	439,0	268,0	52,8	181,0	45,0	6,6	1,7	2268,0	1840,0	NA	NA	>150,00	105,0	4,5	145,0	4,0	2,2	0,8	9,7	NA	
		2	32,8	7,6	128,0	0,4	51,0	16,9	33,1	436,0	415,0	262,0	197,0	55,0	4,3	1,1	46,6	1146,0	NA	NA	>150,00	91,0	3,1	142,0	3,7	2,2	0,8	9,9	NA	
		3	25,6	7,4	130,0	0,4	58,4	17,5	30,0	456,0	906,0	183,0	188,0	60,0	3,0	0,3	19,4	1761,0	NA	NA	>150,00	79,0	1,9	142,0	3,9	2,4	0,8	1,0	NA	
<b>T</b>																														
<b>a</b>																														
<b>h</b>																														
<b>s</b>																														
<b>i</b>																														
<b>l</b>																														
	H03	0,1	15,2	6,3	103,0	0,3	52,0	16,3	31,4	509,0	238,0	45,0	123,0	50,0	2,0	0,3	716,0	2014,0	9,0	1,3	59,1	151,0	4,3	140,0	4,3	2,5	1,1	1,0	2,8	
		0,2	13,0	5,4	89,0	0,3	51,4	16,5	32,1	410,0	192,0	100,0	101,0	35,0	2,5	0,2	611,0	1562,0	6,0	1,7	43,6	142,0	4,1	142,0	4,5	2,4	1,1	1,0	2,8	

		1	16,7	6,3	104,0	0,3	53,6	16,5	30,8	419,0	276,0	358,0	202,0	43,0	6,2	1,6	NA	NA	NA	NA	>150	156,0	4,2	142,0	3,9	NA	1,0	101,0	NA							
		2	15,2	6,3	105,0	0,3	53,9	16,6	30,8	466,0	202,0	135,0	203,0	40,0	2,8	0,4	NA	NA	NA	NA	>150	143,0	3,3	143,0	4,6	NA	1,0	103,0	NA							
		3	17,1	6,0	99,0	0,3	53,0	16,4	31,0	561,0	163,0	73,0	179,0	35,0	3,5	0,6	NA	NA	NA	NA	>150	162,0	3,8	140,0	4,7	NA	0,9	103,0	NA							
	H06	0,1	18,8	6,6	111,0	0,4	54,1	16,9	31,3	453,0	138,0	52,0	122,0	42,0	2,7	0,2	NA	NA	NA	NA	>150	103,0	2,3	142,0	3,9	NA	1,0	100,0	NA							
		0,2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA						
		1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA						
		2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA						
		3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA						
<b>V</b>																																				
<b>r</b>																																				
<b>i</b>																																				
<b>s</b>																																				
<b>e</b>																																				
<b>t</b>																																				
	H04	0,1	16,8	6,8	115,0	0,4	51,8	17,0	32,8	576,0	137,0	69,0	92,0	30,0	290,0	0,4	NA	NA	NA	NA	107,6	116,0	3,0	141,0	3,8	NA	0,94	98,0	NA							
		0,2	18,2	6,1	103,0	0,3	51,4	17,0	33,1	469,0	119,0	98,0	74,0	24,0	3,6	0,6	NA	NA	NA	NA	120,0	111,0	2,9	142,0	3,7	NA	0,8	99,0	NA							
		1	21,2	6,1	106,0	0,3	53,8	17,3	32,1	478,0	186,0	166,0	84,0	29,0	2,6	0,4	NA	NA	NA	NA	>150	124,0	5,5	142,0	3,8	NA	0,9	96,0	NA							
		2	26,5	6,3	108,0	0,3	52,8	17,2	32,6	541,0	231,0	197,0	93,0	30,0	3,1	0,7	NA	NA	NA	NA	>150	105,0	3,4	142,0	4,6	NA	0,8	102,0	NA							

		3	24,9	6,3	109,0	0,3	52,5	17,2	32,8	560,0	347,0	164,0	93,0	29,0	2,7	0,2	NA	NA	NA	NA	>150	93,0	2,1	142,0	4,4	NA	0,8	103,0	NA	
	H05	0,1	14,6	5,7	95,0	0,3	52,3	16,6	31,7	506,0	209,0	52,0	119,0	37,0	2,5	0,4	NA	NA	NA	NA	132,2	106,0	1,8	138,0	3,8	NA	0,9	98,0	NA	
		0,2	14,5	5,1	82,0	0,3	51,5	16,1	31,3	408,0	168,0	67,0	92,0	26,0	5,1	2,1	NA	NA	NA	NA	143,5	94,0	1,7	138,0	4,0	NA	0,8	100,0	NA	
		1	17,5	5,9	98,0	0,3	53,4	16,6	31,2	286,0	257,0	37,6,0	148,0	34,0	6,0	1,5	NA	NA	NA	NA	>150	125,0	3,4	143,0	4,4	NA	0,9	103,0	NA	
		2	25,9	6,0	102,0	0,3	54,5	17,1	31,3	377,0	205,0	164,0	149,0	39,0	2,4	0,4	NA	NA	NA	NA	>150	120,0	1,4	142,0	5,0	NA	0,9	99,0	NA	
		3	24,5	6,4	107,0	0,4	53,7	16,6	30,9	398,0	288,0	86,0	142,0	38,0	2,7	0,4	NA	NA	NA	NA	>150	105,0	1,2	145,0	5,0	NA	0,9	104,0	NA	
	H08	0,1	16,2	6,8	110,0	0,3	49,6	16,3	32,8	353,0	136,0	60,0	108,0	39,0	2,7	0,4	837,0	NA	NA	NA	83,9	131,0	4,4	141,0	3,8	2,3	0,9	102,0	NA	
		0,2	14,0	5,8	94,0	0,3	48,7	16,2	33,3	319,0	124,0	11,2,0	88,0	29,0	4,7	0,6	748,0	1741,0	NA	NA	12,9	132,0	4,3	141,0	4,0	2,3	0,8	102,0	NA	
		1	12,1	3,4	56,0	0,2	51,1	16,6	32,4	180,0	300,0	97,4,0	230,0	25,0	4,3	1,2	8768,0	NA	NA	NA	>150	202,0	1,1,7	139,0	4,9	1,8	1,0	99,0	NA	
	H10	0,1	16,2	5,6	99,0	0,3	57,7	17,6	30,6	382,0	155,0	50,0	131,0	26,0	2,6	0,3	834,0	2492,0	NA	NA	55,9	95,0	3,7	144,0	4,0	2,5	0,9	103,0	NA	
		0,2	17,2	4,9	87,0	0,3	58,0	17,8	30,7	344,0	136,0	88,0	110,0	20,0	2,8	0,5	705,0	1952,0	NA	NA	54,2	116,0	3,9	145,0	4,9	2,5	1,0	103,0	NA	
		1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	H11	0,1	21,7	5,86	100	0,32	55,1	17,1	31	315	171	53	74	40	2,3	0,4	1467	2668	NA	NA	>150,00	89	2,5	141	4,2	2,36	0,94	101	NA	

		0,2	27,1	5,82	100	0,32	54,6	17,2	31,5	329	143	72	60	28	3	1	1027	2081	NA	NA	>150,00	75	2,3	139	3,8	2,12	0,82	103	NA
		1	15,7	6,0	105,0	0,3	53,2	17,4	32,7	434,0	298,0	228,0	112,0	41,0	4,5	1,1	5,0	2587,0	NA	NA	>150,00	90,0	3,5	139,0	3,9	2,2	0,9	95,0	NA
		2	16,4	6,4	112,0	0,3	52,6	17,4	33,2	352,0	221,0	152,0	115,0	42,0	5,6	1,4	1023,0	2345,0	85,0	NA	>150,00	85,0	4,4	140,0	4,0	2,2	0,9	96,0	NA
		3	16,8	5,5	118,0	0,3	59,8	21,6	36,1	881,0	256,0	107,0	109,0	44,0	4,2	0,8	516,0	2296,0	NA	NA	>150,00	99,0	7,4	136,0	4,0	2,3	0,8	91,0	NA



## 8.4 Degradationsversuch

### 8.4.1 APPENDIX J: Übersicht der entnommenen Blutparameter

Hematology Parameters	Clinical Chemistry Parameters (reported in SI units)
Red Blood Cell Count (RBC)	Sodium (Na)
Hemoglobin (HB)	Potassium (K)
Hematocrit (HCT)	Chloride (Cl)
Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)	Calcium (Ca)
Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)	Inorganic Phosphorus (P)
Mean Cell Volume (MCV)	Blood Urea Nitrogen (BUN)
Reticulocytes (RET)	Creatinine, serum (CREA)
Platelets (PLT)	Glucose, serum (GLU)
Total White Blood Cell Count (TWBC)	Total Cholesterol (TCHOL)
Differential White Blood Cell Count:	Triglycerides (TG)
- Neutrophils (absolute and relative counts) (NEUTRO)	Total Bilirubin (TBIL)
- Lymphocytes (absolute and relative counts) (LYMPH)	Alkaline Phosphatase (ALP)
- Monocytes (absolute and relative counts) (MONO)	Aspartate Aminotransferase (AST)
- Eosinophils (absolute and relative counts) (EOS)	Alanine Aminotransferase (ALT)
- Basophils (absolute and relative counts) (BASO)	Albumin (ALB)
Prothrombin time (PT)	Total Globulin (calculated) (TGLOB)
Activated partial thromboplastin time (APTT)	Albumin/Globulin Ratio (calculated) (A/G)
	Total Protein (TPRO)

#### 8.4.2 APPENDIX K: Übersicht über die entnommenen Organe

Organs <sup>(1)</sup>
Any abnormal tissue or gross lesion <sup>(2)</sup>
Brain
Gall bladder
Heart
Kidneys
Liver
Lungs and bronchi
Lymph nodes (mesenteric and axillary)
Muscle (skeletal)
Ovaries
Skin (including mammary gland)
Spleen
Sternum (including bone marrow)
Thymus

(1): Organe werden bis zur Weiterverarbeitung in 10 % NBF fixiert. Die Lunge wird mit 10 % NBF infundiert.

(2): Läsionen, die als zufällig gelten, werden histologisch nicht untersucht, es sei denn, der Pathologe weist etwas anderes an.



	<b>Average</b>	<b>1.0</b>	<b>1.3</b>	<b>1.0</b>	<b>1.7</b>	<b>1.0</b>	<b>0.7</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>0.0</b>	
	<b>Stdev</b>	<b>0.0</b>	<b>0.5</b>	<b>0.0</b>	<b>0.5</b>	<b>0.0</b>	<b>0.5</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	
<b>6 months</b>	6.1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
	6.1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
	6.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	6.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	6.2	1	1	1	2	1	0	1	1	0	
	6.2	1	1	1	2	1	0	1	1	0	
	6.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	6.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	6.3	1	2	1	2	1	1	1	1	0	
	6.3	1	2	1	2	1	1	1	1	0	
	6.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	6.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		<b>Average</b>	<b>1.0</b>	<b>1.3</b>	<b>1.0</b>	<b>1.7</b>	<b>1.0</b>	<b>0.7</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>0.0</b>
		<b>Stdev</b>	<b>0.0</b>	<b>0.5</b>	<b>0.0</b>	<b>0.5</b>	<b>0.0</b>	<b>0.5</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>
<b>12 months</b>	12.1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
	12.1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
	12.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	12.1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	
	12.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	12.2	1	1	0	1	1	0	1	0	0	
	12.2	1	0	0	1	0	0	1	0	0	
	12.2	1	1	0	1	1	0	1	0	0	
	12.2	1	0	1	1	0	0	1	1	0	
	12.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	12.3	1	1	0	1	1	1	0	1	0	
	12.3	1	1	0	1	0	1	1	1	0	
	12.3	1	0	1	0	1	0	1	0	0	
	12.3	1	1	1	1	1	0	1	0	0	
	12.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		<b>Average</b>	<b>1,0</b>	<b>0,6</b>	<b>0,5</b>	<b>0,9</b>	<b>0,7</b>	<b>0,5</b>	<b>0,9</b>	<b>0,5</b>	<b>0,0</b>
		<b>Stdev</b>	<b>0,0</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,3</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,3</b>	<b>0,5</b>	<b>0,0</b>

<b>15 months</b>	15.1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	15.1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	15.1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
	15.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15.1	1	0	1		''	0	1	1	0	0
	15.2	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0
	15.2	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
	15.2	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0
	15.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15.2	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0
	15.3	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0
	15.3	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0
	15.3	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
	15.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15.3	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0
	<b>Average</b>	<b>1,0</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,9</b>	<b>0,7</b>	<b>0,4</b>	<b>0,8</b>	<b>0,6</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>
<b>Stdev</b>	<b>0,0</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,3</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	

### Histologie-Scoring-Analyse von Muskelimplantationen zu allen Zeitpunkten

		<b>MUSCLE POSITION</b>																		
	<b>Pig number</b>	<b>Measure</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>		
<b>2 weeks</b>	<b>1.1</b>	<b>Polymorphonuclear cells</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		<b>Lymphocytes</b>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
		<b>Plasma cells</b>	2	1	2	3	2	1	2	3	2	1	2	3	2	1	2	3	2	3
		<b>Macrophages</b>	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2
		<b>Giant cells</b>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
		<b>Necrosis</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

		Neovasculari sation	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1		
		Fibrosis	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	2	1	
		Fatty infiltrate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1.2		Polymorphon uclear cells	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
			Lymphocytes	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	
			Plasma cells	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
			Macrophages	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	3	
			Giant cells	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	1	
			Necrosis	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
			Neovasculari sation	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
			Fibrosis	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	2	2
	1.3		Fatty infiltrate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			Polymorphon uclear cells	2	2	1	2	2	2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
			Lymphocytes	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
			Plasma cells	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
			Macrophages	1	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
			Giant cells	1	1	2	1	1	1	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
			Necrosis	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
			Neovasculari sation	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Fibrosis			2	2	1	2	2	2	1	-	2	2	2	1	2	2	2	2	1	
3 months	3.1	Fatty infiltrate	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Polymorphon uclear cells	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		Lymphocytes	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		Plasma cells	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		Macrophages	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-			

		Giant cells	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Necrosis	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Neovasculari sation	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Fibrosis	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Fatty infiltrate	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.2	Polymorphon uclear cells	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lymphocytes	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Plasma cells	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Macrophages	2	2	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Giant cells	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Necrosis	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Neovasculari sation	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Fibrosis	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.3	Fatty infiltrate	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Polymorphon uclear cells	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lymphocytes	2	2	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Plasma cells	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Macrophages	2	2	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Giant cells	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Necrosis	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Neovasculari sation	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 month s	6.1	Fibrosis	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			Fatty infiltrate	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 month s	6.1	Polymorphon uclear cells	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-	
		Lymphocytes	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-	

		Plasma cells	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Macrophages	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Giant cells	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Necrosis	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Neovasculari sation	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Fibrosis	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Fatty infiltrate	0	0	0	-	0	-	0	0	-	-	0	0	-	-	-	-
	6.2	Polymorphon uclear cells	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Lymphocytes	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Plasma cells	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Macrophages	2	2	2	-	2	-	2	2	-	-	2	2	-	-	-	-
		Giant cells	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Necrosis	0	0	0	-	0	-	0	0	-	-	0	0	-	-	-	-
		Neovasculari sation	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
	6.3	Fibrosis	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Fatty infiltrate	0	0	0	-	0	-	0	0	-	-	0	0	-	-	-	-
		Polymorphon uclear cells	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Lymphocytes	2	2	2	-	2	-	2	2	-	-	2	2	-	-	-	-
		Plasma cells	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		Macrophages	2	2	2	-	2	-	2	2	-	-	2	2	-	-	-	-
		Giant cells	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
Necrosis		1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-	
Neovasculari sation	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-		
Fibrosis	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-		
Fatty infiltrate	0	0	0	-	0	-	0	0	-	-	0	0	-	-	-	-		



12 months	12.1	Polymorphonuclear cells	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	
		Lymphocytes	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
		Plasma cells	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
		Macrophages	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
		Giant cells	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
		Necrosis	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
		Neovascularisation	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
		Fibrosis	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	Fatty infiltrate	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	
	12.2	Polymorphonuclear cells	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lymphocytes	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Plasma cells	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Macrophages	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Giant cells	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Necrosis	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Neovascularisation	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Fibrosis	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fatty infiltrate	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	12.3	Polymorphonuclear cells	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lymphocytes	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Plasma cells	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Macrophages	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Giant cells	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Necrosis	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neovascularisation		1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

		<b>Fibrosis</b>	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		<b>Fatty infiltrate</b>	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>15 months</b>	<b>15.1</b>	<b>Polymorphonuclear cells</b>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	
		<b>Lymphocytes</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	0	-	1	-	-
		<b>Plasma cells</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-
		<b>Macrophages</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	0	-	0	-	-
		<b>Giant cells</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-
		<b>Necrosis</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-
		<b>Neovascularisation</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-
		<b>Fibrosis</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-
		<b>Fatty infiltrate</b>	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	0	-	0	-	-
	<b>15.2</b>	<b>Polymorphonuclear cells</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<b>Lymphocytes</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<b>Plasma cells</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<b>Macrophages</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<b>Giant cells</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<b>Necrosis</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<b>Neovascularisation</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<b>Fibrosis</b>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<b>Fatty infiltrate</b>	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>15.3</b>	<b>Polymorphonuclear cells</b>	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<b>Lymphocytes</b>	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Plasma cells</b>		-	0	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Macrophages</b>		-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Giant cells</b>		-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

	<b>Necrosis</b>	-	1	0	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>Neovascularisation</b>	-	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>Fibrosis</b>	-	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>Fatty infiltrate</b>	-	0	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

### Histologie, der gesamten entnommenen Organe zu allen Zeitpunkten

Diese Daten werden im Rahmen der Arbeit nicht aufgeführt, da diese komplett unauffällig gewesen sind und keinen Mehrwert für die Tauglichkeit und Einsetzbarkeit des PBSP's im Organismus hervorbringen.

### 8.4.4 APPENDIX M: Übersicht der unerwünschten Ereignisse

Group	Pig Number	AE number	Timepoint	Description	Relatedness grading	Severity Grading
3-months FU	3.1	D3-01	19May2018	Pig discovered with wound dehiscence in all layers in the abdominal incision. Spleen was protruding from wound and there was great blood loss. Due to the weakened state of the pig and the huge risk of developing peritonitis, the decision was made to terminate pig 3.1. It was euthanised. There were no indications of wound infection, the dehiscence is thought to be traumatic.	Animal model related	Serious
	3.3	D3-02	Surgery	Very strong bleeding on all locations on the liver. Blood pooled under the patches; one patch loosened in one spot; two additional overlapping pieces applied; bleeding ceased. Pig very tachycardic during procedure; Atrinor, Mg + Ca no improvement, lopressor IV no improvement. 50mg Prednisone iv gave normal heart rate, pig recovered well from anesthesia. Next day all well. Probably caused by allergic reaction to Pancuronium.	Animal model related	Near serious

	3.3	D3-03	2-aug-18	Diarrhea with blood; stool sample sent to pathology. Metromidazol treatment till 7Aug2018; less and less blood in stool. Firbrin and light coloured feces, but formed and normal consistency. 8Aug2018 all OK and happy pig. Then euthanasia following protocol (3MO).	Animal model related	Not serious
<b>6-months FU</b>	6.2	D6-01	Surgery	One patch slight bleeding, second patch applied.	Device related	Not serious
	6.3	D6-02	Surgery	Skin of pig caught fire during first incision, extinguished quickly, burning trauma 1st degree.	Procedure related	Not serious
	6.3	D6-03	Surgery	Patch on liver displaced during placement, 2nd patch applied to cover defect.	Device related	Not serious
<b>12-months FU</b>	12.1	D12-01	Surgery	One liver defect still hemorrhaging after PG device application. Second patch applied.	Device related	Not serious
	12.3	D12-02	Surgery	Restless, troublesome recovery.	Procedure related	Not serious
<b>15-months FU</b>	15.1	D15-01	2-aug-18	Diarrhea; stool sample sent to pathology	Animal model related	Not serious
	15.1	D15-08	28-may-2018	Irregularity in walk (right front paw). Resolved 28/5.	Animal model related	Not serious
	15.1	D15-09	4-jun-18	Superficial wound from a bite on right shoulder. Treated with salve. Resolved.	Animal model related	Not serious
	15.2	D15-06	8-may-2018	Not fit, no appetite. Resolved.	Animal model related	Not serious
	15.2	D15-07	20-may-2018	Slight irregularity in walk. Otherwise fit. Resolved 20/5.	Animal model related	Not serious
	15.3	D15-02	Surgery	One liver defect still hemorrhaging after PG device application. Second patch applied.	Device related	Not serious
	15.3	D15-03	8-may-2018	Not fit, no appetite. Provided medication. Resolved.	Procedure related	Not serious

	15.3	D15-04	26-may-2018	No appetite, lies a lot. Resolved 27/5.	Animal model related	Not serious
	15.3	D15-05	28-may-2018	Liquid from right eye. Cleaned and daily eyedrops (Floaxal). Resolved 4/7.	Animal model related	Not serious

#### 8.4.5 APPENDIX N: Postoperative Blutwerte

Pig #	Hematology									
2 WK group	FU DAY	Hemoglobin <sup>1</sup>	Hematocrit <sup>2</sup>	MCV <sup>3</sup>	HBE (MCH) <sup>4</sup>	MCHC <sup>5</sup>	Thrombo-cytes <sup>6</sup>	Eosinophil absolute <sup>7</sup>	Quick/TPZ <sup>8</sup>	PTT <sup>9</sup>
1.1	T0	99	0,29	69,2	23,7	34,2	260	132	16	47
	T1	99	0,29	69,2	23,7	34,2	260	132	16	47
	T3	135	0,39	68,2	23,6	34,7	331	850	13	47
	T7	133	0,39	68,5	23,5	34,2	490	NA	14	44
	T14	104	0,3	68,6	23,7	34,6	491	1106	12	42
1.2	T0	111	0,33	67,7	23,1	34,2	229	158	13	NA
	T1	137	0,4	69,8	23,5	33,9	194	384	15	44
	T3	123	0,35	67,4	23,9	35,4	227	476	14	49
	T7	116	0,34	68,9	23,7	34,4	324	504	11	36
	T14	110	0,32	68,4	23,7	34,6	356	0	11	21
1.3	T0	118	0,35	65,7	22,3	34	397	212	13	34
	T1	152	0,46	68,6	22,5	32,8	274	NA	15	36
	T3	133	0,38	66	22,9	34,6	320	120	13	38
	T7	102	0,31	67,6	22,2	32,8	619	0	14	43

<sup>1</sup> 120/160 g/L

<sup>2</sup> 0,36-0,50 l/l

<sup>3</sup> 50-65 fl

<sup>4</sup> 17-21 pg

<sup>5</sup> 30-35 g/dL

<sup>6</sup> 220-620 G/L

<sup>7</sup> 0-6 %

<sup>8</sup> no reference value given from the lab

<sup>9</sup> no reference value given from the lab

	T14	101	0,3	68,1	23,2	34	540	460	12	26
<b>3 MO group</b>	<b>FU DAY</b>	<b>Hemoglobin</b>	<b>Hematocrit</b>	<b>MCV</b>	<b>HBE (MCH)</b>	<b>MCHC</b>	<b>Thrombo- cytes</b>	<b>Eosinophil absolute</b>	<b>Quick/TPZ</b>	<b>PTT</b>
3.1	T0	113	0,33	64,1	22	34,3	418	112	13	38
	T2	109	0,32	65,2	22,6	34,6	318	351	12	29
	T7	107	0,32	65,7	21,9	33,4	538	290	5	51
	T14	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	T90	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3.2	T0	93	0,28	60,4	20	33,2	242	0	7	51
	T1	111	0,33	60,1	20,1	33,4	196	228	11	44
	T3	113	0,35	62	19,9	32,1	275	246	13	51
	T7	98	0,31	63,8	20,1	31,5	411	351	163	38
	T14	103	0,34	66,7	20	30	348	584	12	50
	T90	109	0,33	65,3	21,9	33,5	432	270	NA	NA
3.3	T0	107	0,33	59,4	19,5	32,8	272	77	12	43
	T1	109	0,33	60,7	19,8	32,6	247	801	15	70
	T3	90	0,27	59,2	19,8	33,4	338	1464	14	46
	T7	87	0,28	63,2	20	31,6	380	1080	74	35
	T14	93	0,28	61,2	20,1	32,8	396	6412	13	44
	T90	109	0,33	65,3	21,9	33,5	432	270	NA	NA
<b>6 MO group</b>	<b>FU DAY</b>	<b>Hemoglobin</b>	<b>Hematocrit</b>	<b>MCV</b>	<b>HBE (MCH)</b>	<b>MCHC</b>	<b>Thrombo- cytes</b>	<b>Eosinophil absolute</b>	<b>Quick/TPZ</b>	<b>PTT</b>
6.1	T0	115	0,34	69	23,7	34,3	260	NA	12	28
	T1	147	0,44	70,9	23,6	33,3	233	476	15	42
	T3	131	0,39	71,7	24,2	33,7	233	324	13	39
	T7	127	0,37	70,1	24,1	34,4	381	444	11	37
	T14	117	0,35	71,3	23,5	33	328	516	9	39
	T180	127	0,37	67,7	23	34,1	255	77	13	33
6.2	T0	101	0,3	64,4	21,9	34	367	82	12	31
	T2	114	0,34	51	4	5	0	435	16	46

	T3	108	0,32	67,8	22,7	33,5	221	400	14	48
	T7	100	0,29	65,1	22,1	34	454	658	12	40
	T14	102	0,31	67,7	22,3	33	378	1161	9	51
	T180	104	0,3	65,3	22,4	34,4	366	0	13	37
6.3	T0	111	0,32	67,2	23,2	34,5	153	109	13	32
	T3	129	0,38	69,8	23,5	33,7	123	232	13	37
	T7	110	0,32	67,3	23,1	34,3	362	702	11	24
	T13	109	0,33	70	23,2	33,1	289	720	12	43
	T180	111	0,32	66,7	23,2	34,7	293	0	12	34
<b>12 MO group</b>	<b>FU DAY</b>	<b>Hemoglobin</b>	<b>Hematocrit</b>	<b>MCV</b>	<b>HBE (MCH)</b>	<b>MCHC</b>	<b>Thrombo- cytes</b>	<b>Eosinophil absolute</b>	<b>Quick/TPZ</b>	<b>PTT</b>
12.1	T0	114	0,34	68,7	23,3	33,9	416	336	12	31
	T1	110	0,34	71,1	23,3	32,7	375	0	14	46
	T3	135	0,41	70,3	23,4	33,2	230	2353	13	45
	T7	108	0,32	69,6	23,4	33,6	322	2205	12	41
	T14	113	0,34	69,9	23,3	33,4	348	2106	13	53
	T180	109	0,33	65,3	21,9	33,5	432	270	NA	NA
	T360	102	0,3	68,4	23,1	33,8	470	82	>197	>184
12.2	T0	116	0,35	67,2	22,6	33,6	186	109	13	41
	T2	106	0,32	66,7	22,5	33,7	202	693	NA	NA
	T3	132	0,39	65,9	22,6	34,3	348	1220	11	46
	T7	118	0,35	67,1	22,8	34	414	2385	12	48
	T14	86	0,27	67,8	21,9	32,4	412	106	13	65
	T360	107	0,31	64,2	22	34,2	217	360	9	32
12.3	T0	110	0,33	65	21,9	33,6	334	108	13	42
	T1	142	0,42	65	22	33,9	310	104	NA	NA
	T3	123	0,35	64,6	22,7	35,2	403	387	11	36
	T7	115	0,34	65,6	22	33,6	596	464	13	39
	T13	102	0,31	66,8	21,7	32,5	522	507	13	61

	T360	125	0,37	65,8	22	33,5	401	99	12	32
<b>15 MO group</b>	<b>FU DAY</b>	<b>Hemoglobin</b>	<b>Hematocrit</b>	<b>MCV</b>	<b>HBE (MCH)</b>	<b>MCHC</b>	<b>Thrombo- cytes</b>	<b>Eosinophil absolute</b>	<b>Quick/TPZ</b>	<b>PTT</b>
15.1	T0	110	0,31	70	25	35,7	226	99	10	27
	T1	136	0,39	69,4	24,4	35,1	241	222	15	28
	T3	119	0,35	71,3	24,3	34,1	294	420	12	43
	T7	98	0,29	72,1	24	33,3	470	447	12	42
	T14	115	0,36	75,7	24,1	31,9	239	513	108	48
	T430	119	0,37	71,1	23,1	32,4	236	83	12	43
	T0	97	0,29	74,5	24,7	33,2	259	154	13	59
15.2	T2	124	0,36	72,1	25,1	34,8	302	66	14	45
	T3	122	0,36	72,4	24,9	34,4	313	680	12	40
	T7	99	0,31	76,8	24,4	31,8	400	615	13	34
	T14	95	0,28	68,5	23,5	34,3	315	134	11	25
	T430	91	0,28	71,3	23,6	33,2	106	192	12	25
	T0	118	0,35	69,1	23,6	34,2	248	608	15	23
	T0	118	0,35	69,1	23,6	34,2	248	608	15	23
15.3	T1	117	0,35	71,3	23,5	33	273	1099	NA	NA
	T3	100	0,31	71,7	23,3	32,5	367	826	8	46
	T7	108	0,35	74,9	23,2	31	145	870	361	44
	T13	100	0,31	68,8	22,6	32,8	260	62	11	34
	T430	110	0,31	70	25	35,7	226	99	10	27



Pig #	FU Day	Biochemistry																		
		Leucocytes <sup>10</sup>	Alcalic Phosphatase <sup>11</sup>	ALT <sup>12</sup>	AST <sup>13</sup>	γ-GT <sup>14</sup>	GLDH <sup>15</sup>	Bilirubin total <sup>16</sup>	CK (NAC) <sup>17</sup>	Kreatinin <sup>18</sup>	Ureum <sup>19</sup>	Na <sup>20</sup>	K <sup>21</sup>	Ca <sup>22</sup>	Mg <sup>23</sup>	Cl <sup>24</sup>	Ph <sup>25</sup>	Glucose <sup>26</sup>	Albumine <sup>27</sup>	CRP <sup>28</sup>
2 WK	T0	13,2	164	39	15	33	<2	2,4	352	61	2,9	136	4	2,72	0,89	100	1,63	6,93	39,8	>150,00
	T1	13,2	164	39	15	33	<2,0	2,4	352	61	2,9	136	4	2,72	0,89	100	1,63	6,93	39,8	>150,00
	T3	17	92	68	37	35	2	3	1669	68	1,9	140	3,8	2,52	0,86	102	1,92	3,9	39,6	NA
	T7	12,9	95	46	19	36	<2,0	3,4	213	57	1,8	142	3,7	2,48	0,86	101	2,15	4,25	41,3	>150,00
	T14	15,8	104	268	164	34	2,1	2,8	15519	67	1,5	140	4,7	2,63	0,89	100	2,12	4,64	40	>150,00
1.1	T0	7,9	62	27	12	38	<2,0	2,5	482	71	2,1	137	3,4	2,66	0,87	101	1,72	10,9	37,3	26,3
	T1	9,6	76	61	90	45	3,3	3,1	9400	88	3,9	142	3,9	2,47	0,87	102	1,97	4,08	41,7	>150,00
	T3	11,9	52	59	37	35	<2,0	5,4	6188	72	1,8	141	4,2	2,49	0,81	102	1,9	4,6	41,4	>150,00
	T7	8,4	47	43	23	41	<2,0	3,9	733	65	2,2	136	3,9	2,58	0,95	98	1,96	3,8	42,8	>150,00
	T14	8,9	59	38	39	52	2,2	0,7	2368	77	1,8	138	4,3	2,54	1,02	102	2,05	3,34	43,4	9,6
1.2	T0	10,6	262	32	17	46	<2,0	3,1	558	104	1,2	137	3,7	2,75	0,78	103	1,53	6,09	44,6	<4,70
	T1	6,2	318	51	78	42	2,8	4,1	7446	115	2,2	142	4,2	2,44	0,88	105	1,21	2,75	42,3	>150,00
1.3	T0	10,6	262	32	17	46	<2,0	3,1	558	104	1,2	137	3,7	2,75	0,78	103	1,53	6,09	44,6	<4,70
	T1	6,2	318	51	78	42	2,8	4,1	7446	115	2,2	142	4,2	2,44	0,88	105	1,21	2,75	42,3	>150,00

<sup>10</sup> 11-22 G/l

<sup>11</sup> <156 U/l

<sup>12</sup> <68 U/l

<sup>13</sup> <59 U/l

<sup>14</sup> <54 U/l

<sup>15</sup> <6,4 U/l

<sup>16</sup> <1,2 umol/L

<sup>17</sup> <4000 U/l

<sup>18</sup> <160 umol/l

<sup>19</sup> 2,5-6,7 mmol/L

<sup>20</sup> 135-150 mmol/L

<sup>21</sup> 4,2-5,6 mmol/L

<sup>22</sup> 1,8-2,9 mmol/L

<sup>23</sup> 0,5-1,3 mmol/L

<sup>24</sup> 102-106 mmol/L

<sup>25</sup> 1,9-3,2 mmol/L

<sup>26</sup> 4,05-6,6 mmol/L

<sup>27</sup> 28-40 g/L

<sup>28</sup> 10-20 ug/ml

	T3	12	190	45	44	36	3	3,3	2304	97	1,8	144	4,4	2,5	0,82	105	1,75	5,33	36,9	>150,00
	T7	11,8	165	36	22	37	<2,0	3,4	289	64	0,8	141	4,3	2,49	1	101	2,11	3,5	41,6	99,7
	T14	9,2	172	34	22	39	<2,0	1,2	195	75	1,9	141	4,2	2,59	0,98	101	2,08	3,15	41,6	29,6
<b>3 MO</b>		<b>Leucocytes</b>	<b>Alcalic Phosphatase</b>	<b>ALT</b>	<b>AST</b>	<b>γ-GT</b>	<b>GLDH</b>	<b>Bilirubin total</b>	<b>CK (NAC)</b>	<b>Kreatinin</b>	<b>Ureum</b>	<b>Na</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>Cl</b>	<b>Ph</b>	<b>Glucose</b>	<b>Albumine</b>	<b>CRP</b>
	T0	11,2	29	45	24	54	<2,0	2,6	743	112	1,9	137	4,1	2,53	0,99	101	1,91	3,81	39,8	13,5
	T2	11,7	81	57	74	35	<2,0	3	7579	124	3,5	144	4,5	2,4	0,86	108	1,73	4,3	34,7	>150,00
	T7	14,5	28	41	21	35	<2,0	3	399	78	2,5	140	4,5	2,54	0,95	103	2,18	3,59	NA	>150,00
	T14	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	T90	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	T0	10	43	42	17	39	<2,0	2,5	210	87	1,6	140	4,1	2,58	0,8	103	1,61	8,99	43,6	14,3
	T1	11,4	54	110	54	40	<2,0	4,5	10814	93	2	145	4,5	2,45	0,71	109	1,48	4,74	39,6	>150,00
	T3	12,3	39	57	54	38	<2,0	3	3632	82	2,4	144	4,5	2,76	0,97	104	1,83	4,83	43,8	>150,00
	T7	11,7	37	43	29	37	<2,0	2,5	312	69	3,4	140	4,1	2,65	1,02	99	1,89	4,6	40,4	>150,00
	T14	14,6	34	19	41	39	<2,0	3	102	64	3,2	139	3,9	2,63	0,95	101	2	4,21	43,2	>150,00
	T90	13,5	54	31	66	68	<2,0	2,1	2919	103	2,5	140	4,5	2,52	1	102	1,94	3,15	35,8	>150,00
	T0	7,7	34	40	20	45	<2,0	2,8	478	118	2,1	137	3,9	2,86	0,8	102	1,74	5,19	45	<4,7
	T1	8,9	73	54	74	37	<2,0	2,7	8206	115	2,6	141	4,1	2,6	0,73	101	1,58	4,86	44,6	>150,00
	T3	12,2	40	42	29	31	<2,0	3	2546	96	2	140	4,7	2,59	0,87	103	1,78	4,35	41,5	>150,00
	T7	10,8	30	45	30	34	<2,0	2,8	265	87	1,7	142	4,6	2,62	0,99	100	2,06	3,61	40,3	>150,00
	T14	22,9	34	36	16	35	<2,0	3,2	103	90	3,6	139	4,5	2,67	1,04	102	2,16	3,69	45,1	46,7
	T90	13,5	54	31	66	68	<2,0	2,1	2919	103	2,5	140	4,5	2,52	1	102	1,94	3,15	35,8	>150,00
<b>6 MO</b>		<b>Leucocytes</b>	<b>Alcalic Phosphatase</b>	<b>ALT</b>	<b>AST</b>	<b>γ-GT</b>	<b>GLDH</b>	<b>Bilirubin total</b>	<b>CK (NAC)</b>	<b>Kreatinin</b>	<b>Ureum</b>	<b>Na</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>Cl</b>	<b>Ph</b>	<b>Glucose</b>	<b>Albumine</b>	<b>CRP</b>
6.1	T0	10,1	49	43	12	38	<2,0	3	332	104	1,6	139	3,8	2,72	0,8	102	2,08	6,8	41,3	74,7

	T1	11,9	57	59	40	37	<2,0	2,5	5642	108	2,6	140	4,5	2,46	0,83	102	2,07	3,67	40,7	>150,00
	T3	10,8	42	51	31	33	<2,0	2,5	3054	2,5	141	4,5	2,5	0,9	102	2,15	2,15	3,89	38	>150,00
	T7	11,1	75	39	17	36	<2,0	2,8	768	91	2,1	139	5,5	2,48	0,91	101	2,05	3,97	40,8	82,6
	T14	12,9	34	34	16	35	<2,0	3	136	103	1,7	138	4,8	2,5	0,85	102	2,11	3,49	40,1	129,5
	T180	7,7	37	69	39	42	<2,0	3	1560	129	2,3	138	4,4	2,52	0,85	102	1,66	5,23	40,2	21
6.2	T0	8,2	61	43	15	40	<2,0	4,2	602	104	1,7	137	3,5	2,8	0,86	101	1,62	7,52	44,3	<4,70
	T2	8,7	113	86	178	40	2	3,1	12305	100	2,7	143	4,2	2,66	0,74	103	1,74	4,41	40,4	>150,00
	T3	10	86	95	142	37	<2,0	2,5	9944	89	3,2	141	4,3	2,62	0,9	101	1,86	3,98	39,1	>150,00
	T7	9,4	78	149	218	34	<2,0	2,8	12365	73	1,7	139	4,3	2,61	0,91	101	1,99	4,33	38	>150,00
	T14	12,9	50	46	17	36	<2,0	2,4	135	86	2	142	4,6	2,68	0,91	104	2,01	4,1	41,6	88
	T180	6,8	77	18	52	45	2	3,6	237	118	2,6	139	4	2,6	0,99	103	1,68	6,02	40,5	46,6
6.3	T0	10,9	104	37	19	35	<2,0	2,6	493	102	1,8	136	4,2	2,68	0,86	101	1,86	5,55	42,2	122,2
	T3	11,6	149	54	103	28	<2,0	3,3	9883	113	1,8	143	3,6	2,17	0,78	107	1,85	3,15	35,6	>150,00
	T7	11,7	90	40	32	33	<2,0	NA	221	71	2,4	135	4,9	2,4	0,95	100	2,09	3,78	40	>150,00
	T13	14,4	80	34	21	44	<2,0	2,6	170	86	2,6	138	4	2,65	0,88	100	2,16	3,38	42,3	88
	T180	7,4	200	77	34	42	<2,0	3	368	96	2,6	138	4,1	2,49	0,96	99	1,77	4,83	39,9	48,5
12 MO		Leucocytes	Alcalic Phosphatase	ALT	AST	y-GT	GLDH	Bilirubin total	CK (NAC)	Kreatinin	Ureum	Na	K	Ca	Mg	Cl	Ph	Glucose	Albumine	CRP
12.1	T0	11,2	56	36	24	47	<2,0	2,4	392	107	1,3	136	3,7	2,66	0,94	99	1,85	7,01	43,6	5,1
	T1	17,4	107	58	111	50	2,8	3,3	9103	92	2,3	141	4,2	2,46	0,98	101	2	2,91	40	>150,00
	T3	18,1	107	63	94	47	9,4	2,5	8441	93	3,6	143	4,5	2,63	0,97	102	1,87	3,09	42,7	>150,00
	T7	14,7	64	38	35	42	<2,0	2,6	487	76	1,3	139	4,5	2,5	0,94	102	2,17	4,35	38	>150,00
	T14	16,2	51	29	28	42	<2,0	2,4	169	69	1,7	139	3,9	2,61	0,86	102	2,01	4,29	39	>150,00
	T180	13,5	54	31	66	68	<2,0	2,1	2919	103	2,5	140	4,5	2,52	1	102	1,94	3,15	35,8	>150,00
	T360	13	118	53	48	87	<2,0	3,5	615	106	4,4	139	5,2	2,57	1,05	100	1,98	3,13	45,8	<9,40
12.2	T0	10,9	160	33	16	44	<2,0	2,7	368	113	2,6	136	4,3	2,71	0,85	98	1,79	7,6	44,7	13,3

	T2	9,9	149	48	62	39	<2,0	2,5	10174	120	3,1	140	4,2	2,43	0,83	103	1,59	4,43	39,3	>150,00
	T3	12,2	51	38	18	29	<2,0	1,5	473	90	2,4	138	5,3	2,55	0,93	100	2,09	3,76	39,7	>150,00
	T7	15,9	117	35	6	37	<2,0	3,1	271	82	2	139	4,3	2,57	0,97	103	1,98	3,91	41,5	>150,00
	T14	10,6	79	27	13	35	<2,0	2,5	311	79	1,4	140	3,3	2,58	0,84	100	1,8	6,43	NA	>150,00
	T360	9	289	68	33	75	<2,0	3,9	675	126	2,9	139	5,5	2,55	0,98	101	1,92	4,16	43,1	16,2
12.3	T0	10,8	88	31	14	37	<2,0	2,7	383	101	1,9	138	3,9	2,7	0,87	101	1,83	8,77	38,4	37
	T1	10,4	152	387	89	36	3	9	54907	113	2,8	142	4,3	2,37	1	101	1,69	3,74	37,9	>150,00
	T3	12,9	51	66	27	33	<2,0	1,3	565	79	2,4	138	4,7	2,55	0,93	100	1,94	3,7	38,8	>150,00
	T7	11,6	104	138	43	35	<2,0	3,1	1129	65	2,9	139	4	2,66	0,98	102	2,06	3,65	38,9	>150,00
	T13	16,9	81	80	18	35	<2,0	2,4	186	81	1,7	139	4,1	2,66	0,91	103	2,1	4,28	1	>150,00
	T360	9,9	136	74	36	81	<2,0	3,1	772	110	2,8	137	5,3	2,59	1,11	97	2,22	5,25	38,4	47
15 MO		Leucocytes	Alcalic Phosphatase	ALT	AST	y-GT	GLDH	Bilirubin total	CK (NAC)	Kreatinin	Ureum	Na	K	Ca	Mg	Cl	Ph	Glucose	Albumine	CRP
15.1	T0	9,9	268	36	16	42	<2,0	2,9	674	123	2,1	136	3,9	2,61	0,85	100	1,55	7,77	41,3	<4,70
	T1	11,1	285	61	160	44	2,1	10,6	17110	122	1,7	142	4,1	2,31	0,79	103	1,6	3,25	39,5	>150,00
	T3	14	232	69	122	35	<2,0	3,1	6132	83	1,8	138	3,9	2,36	0,89	103	1,62	3,87	35	>150,00
	T7	14,9	263	61	35	39	<2,0	2,8	842	70	1,4	141	4,1	2,5	0,94	102	1,94	4,53	37,7	>150,00
	T14	17,1	233	38	16	37	<2,0	2,7	149	86	2,1	138	4,1	2,64	0,92	99	1,76	4,07	39	>150,00
	T180	8,3	851	72	27	54	<2,0	NA	839	113	NA	136	4,1	2,37	0,95	99	1,59	NA	NA	NA
	T430	7,7	29	33	19	33	<2,0	2,2	378	0,87	2	136	3,9	2,56	0,78	100	1,72	6,45	38	6,3
15.2	T0	6,6	46	38	104	40	3,6	3,7	7742	122	2,2	141	3,9	2,32	0,78	105	1,81	4,86	39	>150,00
	T2	8,5	30	35	30	31	<2,0	2,8	1591	83	2,8	140	4,1	2,39	0,89	104	1,75	3,91	34,9	>150,00
	T3	12,3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	T14	6,7	32	23	17	41	<2,0	2,5	130	78	3,8	139	4,1	2,65	0,89	101	1,82	4,46	36,8	>150,00
	T430	9,6	30	59	28	42	<2,0	3,5	888	109	NA	137	3,8	2,4	0,93	98	1,45	NA	NA	<9,40
15.3	T0	15,2	23	23	22	27	<2,0	3,7	488	123	2,5	140	4	2,6	0,7	103	1,72	5,02	43,5	NA
	T1	15,7	42	40	104	26	3,3	0,7	7623	119	2,2	139	4,2	2,3	0,73	103	1,75	5,02	38,3	>150,00
	T3	11,8	26	30	62	69	<2,0	NA	1054	101	3	130	NA	2,28	0,98	100	1,93	3,88	36,3	93,5
	T7	14,5	26	27	28	41	<2,0	2,7	328	91	2,9	142	4,5	2,44	0,93	104	2,03	4,08	37,3	>150,00
	T13	6,2	28	27	23	38	<2,0	2,6	179	112	2,1	139	4	2,59	0,89	101	2,28	3,96	38,2	101,3

	T430	9,9	25	85	34	55	<2,0	<0,17	542	146	NA	138	3,6	2,35	0,86	100	1,61	NA	NA	<9,40
--	------	-----	----	----	----	----	------	-------	-----	-----	----	-----	-----	------	------	-----	------	----	----	-------

## 9 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

PBSP = Polyurethane based sealant patch  
OP= Operation  
UE= Unerwünschtes Ereignis  
POPF = Postoperative Pankreasfistel  
CT= Computertomographie  
HPB(S) = Hepato- Pancreato- Biliary (surgery)  
ISGPF= International study group on pancreatic fistula  
Hb= Hämoglobin  
Hk/ Hkt= Hämatokrit  
LDH= Laktatdehydrogenase  
CRP= C- reaktives Protein  
AST= Aspartat Aminotransferase  
ALT= Alanin Aminotransferase  
FDA= federal drug administration  
GLP= good clinical practice  
PIC= Protease- Inhibitor Cocktail  
BpB= Bromphenolblau  
FTH= Forschungstierhaltung  
UKE= Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf  
kg= Kilogramm  
EKG= Elektrokardiogramm  
NIBP= nicht invasive Blutdruckmessung  
NaCl= Natriumchlorid  
HAES= Hydroxyethylstärke  
ug= Mikrogramm  
i.v.= intravenös  
i.m.= intramuskulär  
T61= Embutramid (zwecks Euthanasie)  
ZVK= zentral venöser Katheter  
CRO= contract research organization  
HDPP= High density Polypropylene  
ISO= International Organization for Standardization  
mm= Milimeter  
cm= Zentimeter  
ml= Milliliter  
G= Gauge (Außendurchmesser Kanüle)  
FiO2= inspiratorische Sauerstoffkonzentration  
PEEP= Endexpiratorischer Druck  
PPlateu= Druck, der nach Applikation des VT gehalten wird, bis die Inspirationszeit abgelaufen ist  
VT= Tidalvolumen  
DHC= Ductus hepaticus communis  
BGA= Blutgasanalyse  
MCH= mittleres corpuskuläres Hämoglobin  
MCHC= mittlere corpuskuläre Hämoglobin Konzentration  
MCV= mittleres corpuskuläres Volumen  
ACT= activated clotting time (aktivierte Koagulationszeit)  
PT= Prothrombinzeit  
PTT= partielle Thromboplastinzeit

aPTT= aktivierte partielle Thromboplastinzeit  
yGT= gamma Glutamyltransferase  
AP= alkalische Phosphatase  
UE= Unerwünschtes Ereignis  
CRF (Doku)  
SD= Standarddeviation (Standardabweichung)  
p= Wahrscheinlichkeit  
SUE= schweres unerwünschtes Ereignis  
Intra-op= intraoperativ  
MOV= Multiorganversagen  
AZ= Allgemeinzustand  
Post OP = postoperativ

## 10 LITERATURVERZEICHNIS

1. Nouri S, Sharif MR, Afzali H, Sharif A, Satkin M. The Advantages and Disadvantages of Methods Used to Control Liver Bleeding: A Review. *Trauma Mon.* 2015;20(4):e28088. doi:10.5812/traumamon.28088
2. Capussotti L, Ferrero A, Viganò L, Sgotto E, Muratore A, Polastri R. Bile Leakage and Liver Resection: Where Is the Risk? *Arch Surg-chicago.* 2006;141(7):690-694. doi:10.1001/archsurg.141.7.690
3. Reed DN, Vitale GC, Wrightson WR, Edwards M, McMasters K. Decreasing mortality of bile leaks after elective hepatic surgery. *Am J Surg.* 2003;185(4):316-318. doi:10.1016/s0002-9610(02)01419-8
4. Yamashita Y, Hamatsu T, Rikimaru T, et al. Bile Leakage After Hepatic Resection. *Ann Surg.* 2001;233(1):45-50. doi:10.1097/00000658-200101000-00008
5. Orci LA, Oldani G, Berney T, et al. Systematic review and meta-analysis of fibrin sealants for patients undergoing pancreatic resection. *Hpb.* 2014;16(1):3-11. doi:10.1111/hpb.12064
6. Bruns H, Büchler MW, Schemmer P. [Liver transection: modern procedure: Technique, results and costs]. *Der Chir Zeitschrift Für Alle Gebiete Der Operativen Medizin.* 2015;86(6):552-560. doi:10.1007/s00104-014-2892-x
7. Nagano Y, Togo S, Tanaka K, et al. Risk Factors and Management of Bile Leakage after Hepatic Resection. *World J Surg.* 2003;27(6):695-698. doi:10.1007/s00268-003-6907-x
8. Broek MAJ van den, Dam RM van, Malagó M, Dejong CHC, Breukelen GJP van, Damink SWMO. Feasibility of randomized controlled trials in liver surgery using surgery-related mortality or morbidity as endpoint. *Br J Surg.* 2009;96(9):1005-1014. doi:10.1002/bjs.6663

9. Lo C-M, Fan S-T, Liu C-L, Lai ECS, Wong J. Biliary Complications After Hepatic Resection: Risk Factors, Management, and Outcome. *Arch Surg-chicago*. 1998;133(2):156-161. doi:10.1001/archsurg.133.2.156
10. Erdogan D, Busch ORC, Gouma DJ, Gulik TM van. Prevention of Biliary Leakage after Partial Liver Resection Using Topical Hemostatic Agents. *Digest Surg*. 2007;24(4):294-299. doi:10.1159/000103661
11. Miao Y, Lu Z, Yeo CJ, et al. Management of the pancreatic transection plane after left (distal) pancreatectomy: Expert consensus guidelines by the International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS). *Surgery*. Published online 2020. doi:10.1016/j.surg.2020.02.018
12. Bassi C, Buchler MW, Fingerhut A, Sarr M. Predictive Factors for Postoperative Pancreatic Fistula. *Ann Surg*. 2015;261(4):e99. doi:10.1097/sla.0000000000000577
13. Bassi C, Butturini G, Molinari E, et al. Pancreatic fistula rate after pancreatic resection. The importance of definitions. *Digest Surg*. 2003;21(1):54-59. doi:10.1159/000075943
14. Zhang H, Zhu F, Shen M, et al. Systematic review and meta-analysis comparing three techniques for pancreatic remnant closure following distal pancreatectomy. *Br J Surg*. 2014;102(1):4-15. doi:10.1002/bjs.9653
15. Harnoss JC, Ulrich AB, Harnoss JM, Diener MK, Büchler MW, Welsh T. Use and results of consensus definitions in pancreatic surgery: a systemic review. *Surgery* 2014;155:47-57
16. Diener MK, Seiler CM, Rossion I, et al. Efficacy of stapler versus hand-sewn closure after distal pancreatectomy (DISPACT): a randomised, controlled multicentre trial. *Lancet*. 2011;377(9776):1514-1522. doi:10.1016/s0140-6736(11)60237-7
17. Knaebel HP, Diener MK, Wente MN, Büchler MW, Seiler CM. Systematic review and meta-analysis of technique for closure of the pancreatic remnant after distal pancreatectomy. *Brit J Surg*. 2005;92(5):539-546. doi:10.1002/bjs.5000
18. Kazuhito Mita, Hideto Ito, Ryo Murabayashi, Hideki Asakawa, Masashi Nabetani, Akira Kamasako, Kazuya Koizumi, Takashi Hayashi. Use of a Fibrinogen/Thrombin-Based Collagen Fleece (TachoComb, TachoSil) With a Stapled Closure to Prevent Pancreatic Fistula Formation Following Distal Pancreatectomy
19. IJitsma AJC, Appeltans BMG, Jong KP de, Porte RJ, Peeters PMJG, Slooff MJH. Extrahepatic bile duct resection in combination with liver resection for hilar cholangiocarcinoma: a report of 42 cases. *J Gastrointest Surg*. 2004;8(6):686-694. doi:10.1016/j.gassur.2004.04.006
20. Capussotti L, Ferrero A, Viganò L, Sgotto E, Muratore A, Polastri R. Bile Leakage and Liver Resection: Where Is the Risk? *Arch Surg-chicago*. 2006;141(7):690-694. doi:10.1001/archsurg.141.7.690



21. Figueras J, Llado L, Miro M, et al. Application of Fibrin Glue Sealant After Hepatectomy Does Not Seem Justified: Results of a Randomized Study in 300 Patients. *Ann Surg.* 2007;245(4):536-542. doi:10.1097/01.sla.0000245846.37046.57
22. Kakaei F, Sadeghi MSS, Sanei B, Hashemzadeh S, Habibzadeh A. A Randomized Clinical Trial Comparing the Effect of Different Haemostatic Agents for Haemostasis of the Liver after Hepatic Resection. *Hpb Surg.* 2013;2013:587608. doi:10.1155/2013/587608
23. Xiong JJ, Tan CL, Szatmary P, et al. Meta-analysis of pancreaticogastrostomy versus pancreaticojejunostomy after pancreaticoduodenectomy. *Brit J Surg.* 2014;101(10):1196-1208. doi:10.1002/bjs.9553
24. Smits FJ, Santvoort HC, Besselink MGH, Rinkes IHMB, Molenaar IQ. Systematic review on the use of matrix-bound sealants in pancreatic resection. *Hpb.* 2015;17(11):1033-1039. doi:10.1111/hpb.12472
25. Lillemoe KD, Cameron JL, Kim MP, et al. Does fibrin glue sealant decrease the rate of pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy? results of a prospective randomized trial. *J Gastrointest Surg.* 2004;8(7):766-774. doi:10.1016/j.gassur.2004.06.011
26. Lewis KM, et al. Randomized, Controlled Comparison of Advanced Hemostatic Pads in Hepatic Surgical Models. *ISRN Surgery* 2014;26(3):141-8
27. Court, et al. Segmental nature of the porcine liver and its potential as a model for experimental partial hepatectomy; *B J Surgery* 2013
28. Soper NJ, Brunt LM, Dunnegan DL, Meininger TA. Laparoscopic distal pancreatectomy in the porcine model. *Surg Endosc* 1993;8:57-61
29. Wente MN, Veit JA, Bassi C, et al. Postpancreatectomy hemorrhage (PPH)—An International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS) definition. *Surgery.* 2007;142(1):20-25. doi:10.1016/j.surg.2007.02.001
30. Petermann D, Demartines N, Schafer M. Surgery Indeed has an Important Role in Long-Term Outcome in Patients with Pancreatic Head Cancer by Zdravkovic et al. *World J Surg.* 2014;38(8):2192-2193. doi:10.1007/s00268-014-2473-7
31. Bockhorn M, Uzunoglu FG, Adham M, et al. Borderline resectable pancreatic cancer: A consensus statement by the International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS). In: Vol 155. *Surgery.* ; 2014:977-988. doi:10.1016/j.surg.2014.02.001
32. POON RTP. Current techniques of liver transection. *Hpb.* 2007;9(3):166-173. doi:10.1080/13651820701216182
33. Lippert E, Klebl FH, Schweller F, et al. Fibrin glue in the endoscopic treatment of fistulae and anastomotic leakages of the gastrointestinal tract. *Int J Colorectal Dis.* 2011;26(3):303-311. doi:10.1007/s00384-010-1104-5

34. Boer MT de, Klaase JM, Verhoef C, et al. Fibrin Sealant for Prevention of Resection Surface-Related Complications After Liver Resection: A Randomized Controlled Trial. *Ann Surg.* 2012;256(2):229-234. doi:10.1097/sla.0b013e3182602819
35. Boonstra EA, Adelmeijer J, Verkade HJ, Boer MT de, Porte RJ, Lisman T. Fibrinolytic Proteins in Human Bile Accelerate Lysis of Plasma Clots and Induce Breakdown of Fibrin Sealants. *Ann Surg.* 2012;256(2):306-312. doi:10.1097/sla.0b013e31824f9e7e
36. Brustia R, Granger B, Scatton O. An update on topical haemostatic agents in liver surgery: systematic review and meta analysis. *J Hepato-bil-pan Sci.* 2016;23(10):609-621. doi:10.1002/jhbp.389
37. Spotnitz WD. Fibrin Sealant: The Only Approved Hemostat, Sealant, and Adhesive-a Laboratory and Clinical Perspective. *Isrn Surg.* 2014;2014:203943. doi:10.1155/2014/203943
38. Adelmeijer J, Porte RJ, Lisman T. In vitro effects of proteases in human pancreatic juice on stability of liquid and carrier-bound fibrin sealants. *Brit J Surg.* 2013;100(11):1498-1504. doi:10.1002/bjs.9243
39. Lewis KM, Li Q, Jones DS, et al. Development and validation of an intraoperative bleeding severity scale for use in clinical studies of hemostatic agents. *Surgery.* 2017;161(3):771-781. doi:10.1016/j.surg.2016.09.022
40. Lewis KM, Atlee HD, Mannone AJ, et al. Comparison of Two Gelatin and Thrombin Combination Hemostats in a Porcine Liver Abrasion Model. *J Invest Surg.* 2013;26(3):141-148. doi:10.3109/08941939.2012.724519
41. Rahbari NN, Elbers H, Koch M, et al. Clamp-Crossing versus stapler hepatectomy for transection of the parenchyma in elective hepatic resection (CRUNSH) - A randomized controlled trial (NCT01049607). *Bmc Surg.* 2011;11(1):22. doi:10.1186/1471-2482-11-22
42. Sandmann M, Heike M, Faehndrich M. Application of the OTSC System for the Closure of Fistulas, Anastomosal Leakages and Perforations within the Gastrointestinal Tract. *Zeitschrift Für Gastroenterologie.* 2011;49(08):981-985. doi:10.1055/s-0029-1245972
43. Lewis KM, et al. Development and validation of an intraoperative bleeding severity scale for use in clinical studies of hemostatic agents. *Surgery* 2016;161(3):771 – 81
44. Hanna EM, Martinie JB, Swan RZ, Iannitti DA. Fibrin sealants and topical agents in hepatobiliary and pancreatic surgery: a critical appraisal. *Langenbecks Arch Surg* 2014;399:832-5
45. Miao Y, Lu Z, Yeo CJ, et al. Management of the pancreatic transection plane after left (distal) pancreatectomy: Expert consensus guidelines by the International Study

## 11 DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. **Maximilian Bockhorn** und meinem ehemaligen Klinikdirektor Prof. Dr. **J. R. Izbicki** für die hervorragende Betreuung und Unterstützung bedanken.

Besonderer Dank gebührt auch **PhD Hilde Geraedts, Harm de Vries und Romke Ribbel** von der Firma **Polyganics**, die mir unentwegt hilfsbereit und tatkräftig zur Seite standen.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern (**Ahmad Zaher Bahar und Zainab Bahar**), meiner Ehefrau Frau **Brechna Rasooli Bahar** sowie meinen Freunden Herrn Dr. **Björn- Ole Stüben** und Herrn Dr. Dr. **Alexander El-Gammal**, die mich immer unterstützt haben und all denen die mich während der Forschungsarbeit und bei der Erstellung dieser Arbeit begleitet haben.

## 12 LEBENS LAUF

**Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.**

### 13 EIDESSTAATLICHE VERSICHERUNG

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: .....  
Dr. med. A. S. Bahar