

**Justus-Liebig-Universität Gießen**

**Fachbereich Medizin**

Aus dem Medizinischen Zentrum für Chirurgie, Urologie und Anästhesiologie

Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie

Klinikdirektor: Prof. Dr. med. Michael Sander

**Von der präoperativen Risikostratifizierung zur Risikominimierung durch  
individualisierte perioperative Therapiestrategien bei nicht-herzchirurgischen  
Operationen**

Habilitationsschrift

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach Anästhesiologie

im Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

**Dr. med. Götz Friedrich Schmidt**

Gießen 2025

## Bibliographische Beschreibung

Die vorliegende kumulative Habilitationsschrift basiert auf folgenden Originalpublikationen - aufgeführt in der Reihenfolge, in der sie im Rahmen dieser Arbeit behandelt werden.

1. **Schmidt, G.**, Frieling, N., Schneck, E., Habicher, M., Koch, C., Rubarth, K., Balzer, F., Aßmus, B. and Sander, M. (2024). **Preoperative routine measurement of NT-proBNP predicts postoperative morbidity after non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk: an observational study.** *BMC Anesthesiology* 24, doi:10.1186/s12871-024-02488-8.
2. **Schmidt, G.**, Frieling, N., Schneck, E., Habicher, M., Koch, C., Aßmus, B. and Sander, M. (2024). **Comparison of preoperative NT-proBNP and simple cardiac risk scores for predicting postoperative morbidity after non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk.** *Perioperative Medicine* 13, 44, doi:10.1186/S13741-024-00400-Z.
3. **Schmidt, G.**, Schneck, E., Edinger, F., Jablawi, F., Uhl, E., Koch, C. and Sander, M. (2022). **Impact of the fluid challenge infusion rate on cardiac stroke volume during major spinal neurosurgery: a prospective single center randomized interventional trial.** *BMC Anesthesiology* 22, 400, doi:10.1186/s12871-022-01945-6.
4. Funcke, S.\*, **Schmidt, G.\***, Bergholz, A., Argente Navarro, P., Azparren Cabezón, G., Barbero-Espinosa, S., Diaz-Cambronero, O., Edinger, F., García-Gregorio, N., Habicher, M., Klinkmann, G., Koch, C., Kröker, A., Mencke, T., Moral García, V., Zitzmann, A., Lezius, S., Pepić, A., Sessler, D. I., Sander, M., Haas, S. A., Reuter, D. A. and Saugel, B. (2024). **Cardiac index-guided therapy to maintain optimised postinduction cardiac index in high-risk patients having major open abdominal surgery: the multicentre randomised iPEGASUS trial.** *British Journal of Anaesthesia*, doi:10.1016/j.bja.2024.03.040.
5. **Schmidt, G.**, Rienas, G., Müller, S., Edinger, F., Sander, M., Koch, C. and Henrich, M. (2023). **A 20:1 synergistic mixture of cafedrine/theodrenaline accelerates particle transport velocity in murine tracheal epithelium via IP<sub>3</sub> receptor-associated calcium release.** *Frontiers in Pharmacology* 14, 1155930, doi:10.3389/fphar.2023.1155930.

6. **Schmidt, G.**, Greif, I., Müller, S., Markmann, M., Edinger, F., Sander, M., Koch, C. and Henrich, M. (2024). **Dopamine, norepinephrine, and vasopressin accelerate particle transport velocity in murine tracheal epithelium via substance-specific receptor pathways: dependency on intra- and extracellular Ca<sup>2+</sup> sources.** *Frontiers in Pharmacology* 15, doi:10.3389/fphar.2024.1401983.

**\*geteilte Erstautorenschaft.**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einführung</b> .....	<b>7</b>
1.1. Präoperative Risikostratifizierung vor nicht-herzchirurgischen Operationen .....	8
1.1.1. Operatives Risiko .....	9
1.1.2. Patientenbezogenes Risiko .....	10
1.1.3. Erweiterte Risikoevaluation .....	11
1.1.3.1. Risiko-Scores .....	11
1.1.3.2. Kardiale Biomarker: Troponin und natriuretische Peptide .....	13
1.1.3.3. Weitere apparative Untersuchungen .....	16
1.2. Individualisierte intraoperative hämodynamische Therapie.....	17
1.3. Mukoziliäre Clearance und postoperative pulmonale Komplikationen .....	20
<b>2. Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit</b> .....	<b>23</b>
<b>3. Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse eigener Arbeiten</b> .....	<b>25</b>
3.1. Präoperative Risikostratifizierung .....	25
3.1.1. Präoperatives NT-proBNP als Prädiktor für die postoperative Morbidität.....	25
3.1.2. Vergleich der Prädiktion des präoperativen NT-proBNP mit klinischen Risiko-Scores hinsichtlich der postoperativen Morbidität .....	27
3.2. Individualisierte intraoperative hämodynamische Therapie.....	29
3.2.1. Einfluss der Infusionsgeschwindigkeit eines Flüssigkeitsbolus auf die initiale hämodynamische Wirksamkeit .....	29
3.2.2. Der Herzindex nach Narkoseinduktion als Ziel der perioperativen hämodynamischen Therapie .....	31
3.3. Auswirkung perioperativ relevanter Pharmaka auf die mukoziliäre Clearance .....	32
3.3.1. Cafedrin/Theodrenalin als etablierte 20:1 Mischung (Akrinor®).....	33
3.3.2. Dopamin, Noradrenalin und Vasopressin .....	34
<b>4. Diskussion</b> .....	<b>36</b>
4.1. Präoperative Risikostratifizierung .....	36
4.2. Individualisierte hämodynamische Therapie .....	42
4.3. Auswirkung perioperativ relevanter Pharmaka auf die mukoziliäre Clearance .....	46
4.4. Limitationen.....	51

4.5. Zusammenfassende Diskussion der Implikationen für individualisierte perioperative Therapiestrategien bei nicht-herzchirurgischen Operationen .....	53
<b>5. Zusammenfassung.....</b>	<b>59</b>
<b>6. Zugrundeliegende Originalpublikationen .....</b>	<b>61</b>
6.1. Preoperative routine measurement of NT-proBNP predicts postoperative morbidity after non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk: an observational study ..	61
6.2. Comparison of preoperative NT-proBNP and simple cardiac risk scores for predicting postoperative morbidity after non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk.....	75
6.3. Impact of the fluid challenge infusion rate on cardiac stroke volume during major spinal neurosurgery: a prospective single center randomized interventional trial .....	88
6.4. Cardiac index-guided therapy to maintain optimised postinduction cardiac index in high-risk patients having major open abdominal surgery: the multicentre randomised iPEGASUS trial.....	99
6.5. A 20:1 synergetic mixture of cafedrine/theodrenaline accelerates particle transport velocity in murine tracheal epithelium via IP <sub>3</sub> receptor-associated calcium release .....	111
6.6. Dopamine, norepinephrine, and vasopressin accelerate particle transport velocity in murine tracheal epithelium via substance-specific receptor pathways: dependency on intra- and extracellular Ca <sup>2+</sup> sources .....	126
<b>7. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>144</b>
<b>8. Ehrenwörtliche Erklärung.....</b>	<b>159</b>
<b>9. Danksagung.....</b>	<b>160</b>

Aufgrund der besseren Lesbarkeit wird in dieser kumulativen Habilitationsschrift das generische Maskulinum verwendet. Selbstverständlich soll dementsprechend die Verwendung der männlichen Form geschlechtsneutral verstanden werden.

## Abkürzungsverzeichnis

ACS-NSQIP	- American College of Surgery-National Surgical Quality Improvement Program
AUB-HAS2	- American University of Beirut HAS2-Risiko-Score
AUCROC	- Area under the receiver operating characteristic curve
BNP	- B-natriuretisches Peptid
cAMP	- Zyklisches Adenosinmonophosphat
CI	- Cardiac Index
ESAIC	- European Society of Anaesthesiology and Intensive Care
ESC	- European Society of Cardiology
hs-TnI/T	- Hochsensitives Troponin I/T
HFpEF	- Heart failure with preserved ejection fraction
HZV	- Herzzeitvolumen
IP <sub>3</sub>	- Inositoltriphosphat
MACE	- Major adverse cardiac event
MAP	- Mean arterial pressure
MINS	- Myocardial injury after non-cardiac surgery
PMI	- Postoperative myocardial injury/infarction
POM	- Perioperatives Management
PPV	- Pulse Pressure Variation
RCRI	- Revised Cardiac Risk Index
ROC	- Receiver Operating Characteristic
RT-PCR	- Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
SOCE	- Store-operated calcium entry
SV	- Schlagvolumen
SVV	- Schlagvolumenvariation

## 1. Einführung

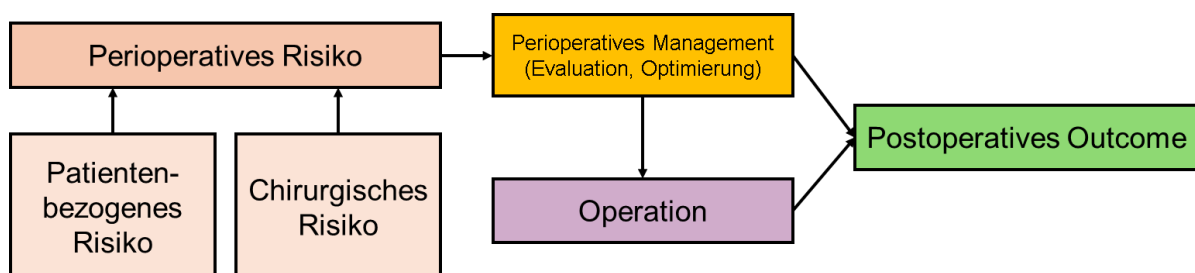
Im Jahr 2023 wurden in Deutschland über 16 Millionen stationäre Operationen durchgeführt, wovon der Großteil – über 9 Millionen Operationen - auf ältere Patienten ab 60 Jahren entfiel [1]. Die Sterblichkeit nach nicht-herzchirurgischer Operation wird in Europa auf circa 2-4% geschätzt, wobei gewisse länderspezifische Unterschiede bestehen [2]. In einer großen Analyse aus dem Jahr 2012 wurde in einer europaweiten Observationsstudie mit 4% eine unerwartet hohe Krankenhausmortalität nach nicht-herzchirurgischer Operation festgestellt [3]. In Deutschland überlebten zu diesem Zeitpunkt 2,5% der Patienten die Operation bzw. den sich anschließenden Krankenhausaufenthalt nicht [3]. Eine relevante Reduktion der postoperativen Mortalität ist seither nicht eingetreten, wenngleich im Kontext alternder europäischer Gesellschaften zunehmend Operationen bei noch älteren und entsprechend multimorbideren Patienten erforderlich werden. Circa jeder zehnte Patient musste 2012 nach einer Operation auf einer Intensivstation behandelt werden [3]. Aber nicht nur die Krankenhausmortalität ist in Anbetracht der großen Zahl operativer Eingriffe beachtlich. Auch das Auftreten unerwünschter kardialer Ereignisse (major adverse cardiac event, MACE), wie zum Beispiel die Manifestation einer akuten Herzinsuffizienz, hämodynamisch relevanter Herzrhythmusstörungen, oder myokardialer Verletzungen und Infarkte bei Patienten über 65 Jahren oder mit kardiovaskulären Risikofaktoren ist in einer Schweizer Analyse mit 15,2% nach 30 Tagen und 20,6% nach einem Jahr keine seltene Komplikation im postoperativen Verlauf [4]. So wird gegenwärtig geschätzt, dass jedes Jahr in Europa circa 660.000 relevante kardiale oder zerebrovaskuläre Komplikationen eintreten, die alle langfristig zu einer Zunahme der Morbidität mit Reduktion der Lebensqualität der Patienten beitragen [2]. Eine nicht-herzchirurgische Operation stellt somit immer auch einen Risikofaktor für weitere Komplikationen – auch deutlich nach Ende des initialen stationären Krankenhausaufenthaltes – dar. Neben kardialen Komplikationen können auch pulmonale Ereignisse den postoperativen Verlauf verkomplizieren. So erleiden je nach Operation zwischen 0,5% und 20% aller Patienten auf chirurgischen Normalstationen im postoperativen Verlauf eine nosokomiale Pneumonie – was letztlich wiederum mit einem signifikant höheren Mortalitätsrisiko einhergeht [5]. Entsprechend der zunehmenden Altersverschiebung in der demographischen Entwicklung wird absolut mit einer Zunahme von Operationen und dementsprechend auch der hiernach eintretenden Komplikationen mit allen Folgen für die langfristige Morbidität und Mortalität der Patienten gerechnet.

Ein integraler Bestandteil der perioperativen Behandlung von Patienten, die sich einer Operation unterziehen, stellt die präoperative Evaluation im Sinne einer differenzierten Risikoeinschätzung und -stratifizierung dar, die bei elektiven Eingriffen eine differenzierte präoperative Optimierung nach sich ziehen kann. Hier kommt der Anästhesiologie als zentraler Ansprechpartner der chirurgischen Fachabteilungen für perioperativ-medizinische

Fragestellungen eine herausragende Bedeutung zu. Deshalb wurden in den letzten Jahren bereits umfangreiche, dezidierte und interdisziplinär konsentrierte Leitlinien mit standardisierten Empfehlungen veröffentlicht [2,6,7]. Dennoch sind insbesondere im Kontext der weitestgehend unveränderten, hohen Komplikationsraten auch unter Berücksichtigung der gesamtgesellschaftlichen Dimension der großen Anzahl nicht-herzchirurgischer Operationen weitere Verbesserungen der perioperativen medizinischen Versorgung anzustreben.

### 1.1. Präoperative Risikostratifizierung vor nicht-herzchirurgischen Operationen

Im Rahmen der präoperativen anästhesiologischen Vorstellung steht neben den medikolegalen Aspekten und Erfordernissen einer differenzierten Risikoevaluation, deren Ergebnisse letztlich dem aufgeklärten Patienten eine informierte Entscheidung über den bevorstehenden Eingriff sowie das Anästhesieverfahren und das perioperative Management ermöglichen, die Prävention von perioperativen Komplikationen im Fokus. So konnte in einer großen internationalen Kohortenstudie nicht nur eine 30-Tage-Mortalität von circa 2% gezeigt, sondern bei 45% der Todesfälle eine kardiovaskuläre Todesursache festgestellt werden [8]. Daher konzentriert sich die weitere Einführung in die Risikostratifizierung auch im Kontext zu den später in dieser Habilitationsschrift dargelegten Ergebnissen auf die kardiopulmonale Risikostratifizierung. Selbstverständlich berücksichtigt die vollständige präoperative Evaluation auch andere Vorerkrankungen, die individuell weitere Diagnostik, Interventionen oder Implikationen für das perioperative Management bedingen können. Zunächst steht am Anfang der präoperativen Evaluation die Abschätzung des operativen Risikos anhand anamnestischer und klinischer Informationen, das zusammen mit dem patientenbezogenen Risiko letztlich das perioperative Management und damit das postoperative Outcome bedingt (*Abbildung 1*).



**Abbildung 1.** Übersicht perioperative Risikoevaluation und perioperatives Management.

Auch der Zeitpunkt der präoperativen Risikoevaluation bedarf insbesondere im Kontext etwaiger Optimierungsmöglichkeiten einer gesonderten Erwähnung. So ist generell eine frühestmögliche Vorstellung zum präoperativen Risiko-Assessment angezeigt - idealerweise zum selben Zeitpunkt, an dem die Operation seitens der Chirurgie indiziert und terminiert

wird [2]. Die bislang häufig gelebte klinische Praxis, Patienten erst am Vortag vor der geplanten Operation einer dezidierten anästhesiologischen Vorstellung zuzuführen, ist vor kleinen Eingriffen bei jungen Patienten ohne Risikofaktoren in der Mehrzahl der Fälle möglich, sollte aber insbesondere bei Patienten mit relevanten Komorbiditäten und nicht beliebig verschiebbaren Operationen, wie zum Beispiel bei großer viszeralchirurgischer Tumorchirurgie, vermieden werden. Abseits organisatorischer Erwägungen durch Operationsverschiebungen aufgrund eines etwaigen weiteren Diagnostikbedarfs, reduziert sich auch das mögliche Zeitfenster für eine präoperative Optimierung beträchtlich.

### **1.1.1. Operatives Risiko**

Am Beginn der anästhesiologischen Evaluation steht zunächst die Beurteilung des rein operativ bedingten Risikos. Hierbei unterscheiden aktuelle Leitlinien in niedriges, intermediäres und hohes operatives Risiko, wobei neben den Eingriffstypen auch lokale Faktoren berücksichtigt werden können [2,7]. Die Einteilung in eine der drei Risikoklassifikationen beschreibt das Risiko für MACE, das hier als das 30-Tage-Risiko für Tod, Myokardinfarkt oder Stroke definiert ist. Operationen mit <1% MACE-Inzidenz werden in die Kategorie „niedriges Risiko“ eingeordnet, wohingegen bei intermediärem Eingriffsrisiko mit 1-5% und bei hohem Risiko mit >5% MACE-Inzidenz zu rechnen ist. Die Beurteilung des operativen Risikos allein gibt bereits Implikationen hinsichtlich der erweiterten präoperativen Risikoevaluation, etwaiger benötigter weiterer Diagnostik sowie des anästhesiologischen perioperativen Managements. Eine Übersicht über typische Eingriffe mit niedrigem, intermediärem oder hohem operativem Risiko gibt *Tabelle 1*.

Im Anschluss erfolgt die im Vergleich deutlich aufwendigere Evaluation des patientenbezogenen Risikos, das vor allem klinische Befunde, die zunächst mittels Anamnese und körperliche Untersuchung erhoben werden, berücksichtigt.

**Tabelle 1.** Operatives Risiko ohne patientenbezogene Faktoren, modifiziert nach [2,7].

Niedriges Risiko	Intermediäres Risiko	Hohes Risiko
Operationen an den Augen	Eingriffe im Kopf-Hals-Bereich	Gefäßchirurgie (Aorta, offene peripher-arterielle Eingriffe)
Dentalchirurgie	Karotischirurgie	Amputationen
Schilddrüsenchirurgie	Endovaskuläre Gefäßchirurgie	Ösophaguschirurgie
Brustchirurgie	Große Wirbelsäulenchirurgie	Pneumektomie
Oberflächliche Hauteingriffe	Kleine Thoraxchirurgie (Thorakoskopie mit begrenzter Resektion)	Leber- und Gallengangs-chirurgie
Kleine urologische Chirurgie (z.B. transurethrale Resektionen)	Intraabdominelle Operationen	Dünndarm- und Pankreas-chirurgie
Kleine gynäkologische Chirurgie (z.B. Hysteroskopie)	Große gynäkologische und urologische Eingriffe	Transplantationen (Leber, Lunge)
Kleine orthopädische Chirurgie (z.B. Arthroskopie)	Endoprothetik	Operation bei Darm-perforationen
		Operation an der Nebenniere
		Zystektomie

### 1.1.2. Patientenbezogenes Risiko

Zu Beginn der Einschätzung des patientenbezogenen Risikos steht eine gründliche Anamnese, die bereits bekannte Vorerkrankungen, eine Dauermedikation und spezifische anästhesiologische Parameter, wie den Verlauf von Voroperationen und die Selbsteinschätzung der Belastbarkeit, miteinschließt [7]. Hier wird abseits vorbestehender Diagnosen, wie zum Beispiel einer Herzinsuffizienz oder koronarvaskulären Erkrankung, neben den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren (arterielle Hypertonie, familiäre Disposition auf Herzerkrankungen, Nikotinabusus und Fettstoffwechselstörung) auch das Patientenalter berücksichtigt. Im Rahmen der präoperativen Evaluation wird ein Alter über 65 Jahren grundsätzlich als ein weiterer Risikofaktor angesehen [2]. Eine anschließende fokussierte klinisch-körperliche Untersuchung von Herz und Lunge ergibt unabhängig von bereits vorliegenden Diagnosen erste und einfach zu erhebende „objektive“ Befunde des klinischen Zustandes der vorgestellten Patienten. Hierbei liegt der Fokus auf der Evaluation bekannter und gegebenenfalls der Detektion unbekannter kardialer und vaskulärer Erkrankungen, die den perioperativen Verlauf beeinflussen können. Das Ziel der Evaluation des patientenbezogenen Risikos ist jedoch nicht nur den Ist-Zustand zu erheben, sondern die Patienten – wenn präoperativ möglich und notwendig - einer adäquaten, den Leitlinien entsprechenden, Diagnostik und Therapie zuzuführen.

Allerdings leitet sich auch aus der Anamnese und körperlichen Untersuchung der spezifische Bedarf einer präoperativen Diagnostik zur weiteren Risikoeinschätzung ab. Hier empfehlen aktuelle Leitlinien in Abhängigkeit vom operativen Risiko in Kombination mit den erhobenen

patientenbezogenen Faktoren mit unterschiedlichem Empfehlungsgrad eine routinemäßige Ruhe-EKG-Untersuchung und die Bestimmung der kardialen Biomarker hochsensitives Troponin I/T (hs-TnI/T) und (NT-pro)BNP, über die *Abbildung 2* eine Übersicht gibt [2,7]. Standardisierte Risiko-Scores können die Risikoeinschätzen ebenfalls unterstützen.

		<b>Patientenbezogenes Risiko</b>		
		<65 Jahre ohne Risikofaktoren	≥65 Jahre oder Risikofaktoren	Bekannte kardio-vaskuläre Erkrankung
Operatives Risiko	Niedrig	<u>Keine</u> weitere Routinediagnostik		
	Mittel	<u>Keine</u> weitere Routinediagnostik	I IIa	<u>EKG</u> und <u>hsTnI/T</u> präoperativ + 24h, 48h postoperativ <u>(NT-pro)BNP</u> präoperativ
	Hoch	≥45 Jahre (IIa)	I IIa	<u>EKG</u> und <u>hsTnI/T</u> präoperativ + 24h, 48h postoperativ <u>(NT-pro)BNP</u> präoperativ

**Abbildung 2.** Übersicht über die Indikation weiterer Routinediagnostik (Ruhe-EKG, Biomarker) in Abhängigkeit des operativen und patientenbezogenen Risikos mit Angabe des Empfehlungsgrades (I: „ist empfohlen“, IIa: „sollte erwogen werden“), modifiziert nach [2].

### 1.1.3. Erweiterte Risikoevaluation

#### 1.1.3.1. Risiko-Scores

Verschiedene Risiko-Scores für die präoperative Risikoabschätzung postoperativer Komplikationen sind in den letzten Jahrzehnten vorgeschlagen worden, womit meistens das Risiko für MACE in unterschiedlichen Definitionen vorhergesagt werden soll. Gemeinsam ist den meisten Risiko-Scores, dass die jeweilige MACE-Definition das Risiko für die 30-Tage-Mortalität enthält [9–11]. Weitere, je nach Score inkludierte Endpunkte erstrecken sich auf die 30-Tage-Inzidenz postoperativer Myokardinfarkte, Herz-Kreislauf-Stillstände und Schlaganfälle. Hierbei ist insgesamt eine große Variation an berücksichtigten klinischen Kriterien und in der Komplexität der Berechnung festzustellen. Während einfache Risiko-Scores lediglich wenige Kriterien mit jeweils einem Punkt aufaddieren und somit im klinischen Alltag bettseitig unmittelbar berechnet werden können, berücksichtigen komplexe Risiko-Modelle, wie der American College of Surgery-National Surgical Quality Improvement Program (ACS-NSQIP) Surgical Risk Calculator, eine Vielzahl an Parametern. Hierfür wird

zur Berechnung der Wahrscheinlichkeit verschiedenster postoperativer Outcomes, die individuell und auf das durchschnittliche Risiko der Gesamtkohorte bezogen ausgegeben werden, ein Online-Kalkulator benötigt [12]. In Deutschland kommt klassischerweise der weit verbreitete und 1999 erstmalig vorgeschlagene Revised Cardiac Risk Index (RCRI) nach Lee zum Einsatz, dessen Anwendung auch in den nationalen Leitlinien zur präoperativen Evaluation vor nicht-herzthoraxchirurgischen Eingriffen empfohlen wird [7]. Die europäischen Leitlinien stellen jedoch fest, dass ein kardiovaskulärer Risiko-Score nicht zur Evaluation der Notwendigkeit weiterer diagnostischer Maßnahmen herangezogen werden sollte, sondern diese ausschließlich anhand klinischer Kriterien indiziert werden sollten [2]. Ferner können derzeit keine bestimmten Risiko-Scores ausdrücklich zur Anwendung empfohlen bzw. nicht empfohlen werden. So basiert der 2019 erstmalig publizierte American University of Beirut (AUB-)HAS2 Risiko-Score ähnlich des RCRI zwar auch auf wenigen Kriterien, die jedoch in der Ausprägung mehr klinisch und nicht an festen Vordiagnosen orientiert sind [13]. Ferner existieren Risiko-Scores für bestimmte Risikokollektive, um zum Beispiel das Mortalitätsrisiko für Patienten mit einer vorbestehenden Herzinsuffizienz abzuschätzen [9]. Eine Übersicht über die Kriterien und das vorhergesagte Outcome des RCRI, AUB-HAS2 sowie eines Risiko-Scores von Andersson et al. gibt *Tabelle 2*.

**Tabelle 2.** Übersicht über einfache Risiko-Scores.

	<b>RCRI [11]</b>	<b>AUB-HAS2 [10]</b>	<b>Andersson et al. [9]</b>
<b>Parameter</b>	Je 1 Punkt für: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Herzinsuffizienz</li> <li>• Ischämische Herzerkrankung</li> <li>• Zerebrovaskuläre Erkrankung</li> <li>• Insulinpflichtiger Diabetes mellitus</li> <li>• Serumkreatinin <math>\geq 2</math> mg/dl</li> <li>• Thorakaler, abdomineller oder suprainguinaler Gefäß-Eingriff</li> </ul>	Je 1 Punkt für: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bekannte Herzerkrankung</li> <li>• Angina oder Dyspnoe</li> <li>• Alter <math>\geq 75</math> Jahre</li> <li>• Anämie (Hb <math>&lt; 12</math> g/dl)</li> <li>• Gefäßchirurgie</li> <li>• Notfallereingriff</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alter (bis 7 Punkte)</li> <li>• Gewicht (bis 4 Punkte)</li> <li>• Notfallereingriff (5 Punkte)</li> <li>• Thorakaler, -abdomineller oder suprainguinaler Gefäß-Eingriff (3 Punkte)</li> </ul> Je 1 Punkt für: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Männliches Geschlecht</li> <li>• Zerebrovaskuläre Erkrankung</li> <li>• Niereninsuffizienz</li> <li>• Insulinpflichtiger Diabetes mellitus</li> </ul>
<b>Outcome</b>	30-Tage-Mortalität, Myokardinfarkt, Herzstillstand	30-Tage-Mortalität, Myokardinfarkt, Schlaganfall	30-Tage-Mortalität
<b>Vorhersage</b>	Punktzahl 1: 6,0% 2: 10,1% $\geq 3$ : 15%	Punktzahl 0: 0,3% 1: 1,6% 2: 7,1% 3: 17% $\geq 4$ : $> 17\%$	Punktzahl $< 5$ : $< 2\%$ 5 - 8: 2 - 5% 9 - 11: 5 - 10% 12 - 14: 10 - 20% 15 - 16: 20 - 30% 17 - 19: 30 - 50% $\geq 20$ : $> 50\%$

RCRI = Revised cardiac risk index; AUB-HAS2 = American University of Beirut-HAS2 risk index.

Allerdings existiert bis heute kein Risiko-Score, der neben klinischen Charakteristika auch das Ergebnis einer präoperative Biomarkermessung berücksichtigt, sodass kardiale Biomarker im Folgenden noch als separate und eigenständige Entität zur Risiko-Abschätzung behandelt werden müssen.

### **1.1.3.2. Kardiale Biomarker: Troponin und natriuretische Peptide**

Im Rahmen der kardiologischen Routine- und Notfalldiagnostik sind die Bestimmung kardialer Biomarker seit Jahrzehnten etabliert [14,15]. Die Messung des kardialen Troponin I bzw. T spielt in der Ischämiediagnostik im Rahmen eines akuten Koronarsyndroms ohne ST-Streckenveränderung im Ruhe-EKG eine entscheidende Rolle zur Unterscheidung eines akuten Myokardinfarkts von einer Episode instabiler Angina pectoris-Beschwerden [14]. Weiter verbessert wurde die Ischämiediagnostik mittels hochsensitiver Assays, die auch nur leichte, aber dennoch prognoserelevante Erhöhungen des kardialen hs-TnI/T detektieren können [16]. Aber auch im Rahmen der Erstdiagnostik und Verlaufskontrolle einer Herzinsuffizienz sind kardiale Biomarker, hier das B-natriuretische Peptid (BNP) und dessen inaktives Vorläuferfragment NT-proBNP, aus der kardiologischen Routineversorgung nicht mehr wegzudenken [17].

Mit der nahezu ubiquitären Verfügbarkeit und zunehmenden Sensitivität dieser Biomarker gerieten diese in den letzten Jahren in den Fokus hinsichtlich Risikoprädiktion und postoperativer Komplikationserkennung. Unabhängig von einer Operation zeigte sich in einer großen Observationsstudie mit 164.054 Patienten mit einer medianen Nachverfolgungszeit von fast 12 Jahren, dass das hsTnI/T nicht nur mit der Inzidenz arteriosklerotischer kardiovaskulärer Erkrankungen im weiteren Verlauf, sondern auch mit der Gesamtmortalität, Schlaganfällen und der Inzidenz einer Herzinsuffizienz assoziiert war [18]. Dementsprechend erschien eine Evaluation im perioperativen Umfeld vielversprechend und die Assoziation zwischen dem präoperativem hsTnI/T und postoperativen unerwünschten Ereignissen und Mortalität konnte zwischenzeitig vielfach belegt werden [19,20]. So war in einer multi-zentrischen Observationsstudie nicht nur die Rate an kardiovaskulären Komplikationen bei Patienten mit präoperativem hsTnT über 14 pg/ml mit 9,4% im Vergleich zu 1,9% deutlich erhöht, sondern es resultierte auch eine mit 6,9% zu 1,2% erhöhte Gesamtmortalität [20]. Mittels präoperativer hsTnI/T-Messung konnte hier zumindest in statistischen Modellen die Risikoprädiktion im Vergleich zu etablierten Risiko-Scores, hier dem RCRI, verbessert werden [20]. Neben der präoperativen Troponin-Bestimmung kommt auch dem postoperativen Verlauf eine relevante Bedeutung zu. So etablierte sich in den letzten Jahren der Begriff einer myokardialen Verletzung nach nicht-herzchirurgischer Operation (myocardial injury after non-cardiac surgery, MINS), der in den derzeitigen Leitlinien als

postoperative myocardial injury/infarction (PMI) subsumiert wird [2]. Gemeinsam ist beiden Begriffen die Definition als akuter Myokardschaden ischämischer Genese, unabhängig von manifesten, klinischen Symptomen oder EKG-Veränderungen. Die Herausforderung des PMI ist gerade, dass bis zu 90% dieser Myokardschäden postoperativ mangels Symptomatik ohne routinemäßige Bestimmung des hsTnI/T nicht erkannt werden würden [21]. Jedoch stellt das Vorliegen eines PMI ein klares, häufiges und prognostisch relevantes klinisches Alarmsignal dar, dessen Inzidenz je nach untersuchter Kohorte zwischen 9% und 17% angegeben wird [8,22,23]. Patienten mit PMI weisen nicht nur eine drastisch erhöhte 30-Tage-Mortalität auf, sie haben auch ein stark erhöhtes Risiko für MACE in den folgenden drei bis fünf Monaten nach der Operation [24]. Die Ätiologie eines PMI beschränkt sich jedoch nicht nur auf koronarischämische Ereignisse. Der Typ 1-Myokardinfarkt mit einem akuten Verschluss eines Koronargefäßes stellt unter den möglichen Ursachen eine Minderheit dar. Die Mehrzahl der PMI gründet sich auf Typ 2-Myokardinfarkten, die aus einem perioperativen Ungleichgewicht aus kardialem Sauerstoffangebot und -verbrauch resultieren und zum Beispiel Folge einer Hypotension oder Anämie sein können. Aber auch andere Auslöser, wie zum Beispiel tachykarde Herzrhythmusstörungen und die Manifestation einer akuten Herzinsuffizienz, sind möglich und bedürfen beim Vorliegen eines PMI einer Evaluation [2,24]. Aus der vorliegenden Evidenz hat die perioperative Biomarker-Messung Eingang in aktuelle nationale und internationale Leitlinien gefunden. So ist die Messung des hsTnI/T vor und 24 sowie 48 Stunden nach einer Operation mit mittlerem oder hohem operativen Risiko für einen Großteil der Patienten mit einer Klasse I-Empfehlung vorgesehen (*Abbildung 2*) [2,7]. Jedoch lässt sich anhand der derzeitigen Datenlage leider feststellen, dass die individuelle Konsequenz, insbesondere aus der routinemäßigen präoperativen hsTnI/T-Messung, häufig limitiert ist. Zwar hält die postoperative Surveillance das Behandlungsteam zum Ausschluss oben genannter reversibler Ursachen an, jedoch sind derzeit evidenzbasierte und langfristig validierte Therapiekonzepte nicht verfügbar. Im Rahmen einer randomisiert-kontrollierten Studie konnte zwar bei Patienten mit MINS, die innerhalb der ersten postoperativen Woche für circa neun Monate Dabigatran als Antikoagulans erhielten, eine reduzierte Inzidenz unerwünschter vaskulärer Ereignisse festgestellt werden [25]. Jedoch wurden die Implikationen hieraus insbesondere bezüglich des Blutungsrisikos sowie aus pathophysiologischen Erwägungen kritisch diskutiert, sodass derzeit für die Verordnung von Dabigatran bei Patienten mit MINS bzw. PMI und niedrigem Blutungsrisiko lediglich eine Klasse IIb-Empfehlung gegeben wird [2]. So empfehlen die derzeitigen European Society of Anaesthesiology and Intensive Care (ESAIC)-Leitlinien zur perioperativen Biomarkermessung zwar die präoperative Bestimmung des hsTnI/T zur Prognoseabschätzung, sehen jedoch keine Evidenz für eine individuelle Risikoprädiktion oder für ein hieraus abgeleitetes, geändertes therapeutisches Management [26]. Dennoch ist

für die Diagnostik eines PMI das Vorhandensein eines präoperativen Ausgangswerts zur Beurteilung der postoperativen Kinetik essenziell [2].

Wenngleich das hsTnI/T zwar eine latente präoperative Ischämie anzeigen kann, ist die Diagnostik einer Herzinsuffizienz damit grundsätzlich nicht möglich. Dennoch verdient eine Herzinsuffizienz als bekannte oder gar noch unbekannt Komorbidität dezidierte Berücksichtigung im perioperativen Umfeld. Derzeit leiden in Deutschland aktuell bis zu drei Millionen Menschen an einer chronischen Herzinsuffizienz, deren Prävalenz im höherem Lebensalter weiter zunimmt [15]. Gegenwärtig liegt bei circa 20% der älteren Patienten, die sich einer nicht-herzchirurgischen Operation unterziehen, eine chronische Herzinsuffizienz vor [27]. Bereits aus älteren Erhebungen ist bekannt, dass Patienten mit Herzinsuffizienz ein deutlich höheres Risiko für postoperative kardiale Komplikationen aufweisen als Patienten mit chronischem Koronarsyndrom [27,28]. Natriuretische Peptide werden aus Myokardzellen bei zunehmender Wandspannung der Herzhöhlen freigesetzt und induzieren physiologische Vorgänge zur Vasodilatation und Steigerung der Natriurese [29]. Allerdings können sie auch im Rahmen anderer, perioperativ ebenfalls hoch relevanter Komorbiditäten, wie zum Beispiel einer Niereninsuffizienz, Rechtsherzbelastung oder Vorhofflimmern erhöht sein. Ähnlich wie das präoperative hsTnI/T sind auch die natriuretischen Peptide im perioperativen Umfeld nicht nur mit herzinsuffizienzspezifischen Ereignissen, sondern auch mit allgemeinen postoperativen Ereignissen, wie Tod, Myokardinfarkt und Myokardschädigungen assoziiert und können ebenso die Risikoprädiktion im Vergleich zum alleinigen Einsatz des RCRI verbessern [30]. Gleichzeitig ist das NT-proBNP im Vergleich zum hsTnI/T ein unabhängiger und komplementärer Biomarker mit eigener Prädiktivität [31]. Dementsprechend kann gemäß der aktuellen European Society of Cardiology (ESC)-Leitlinien die Messung der natriuretischen Peptide als Klasse II-Empfehlung im selben Patientenkollektiv, für die auch eine Troponin-Bestimmung empfohlen ist, erwogen werden (*Abbildung 2*). Allerdings erkennen die Leitlinien der ESAIC zur perioperativen Biomarkermessung lediglich eine moderate Evidenz zur Risikoprognose einer Gesamtkohorte und keine Evidenz für die individuelle Risikoprädiktion oder ein dezidiertes therapeutisches Management, das aus der präoperativen Bestimmung abgeleitet werden könnte [26]. Zukünftig könnte die Messung natriuretischer Peptide jedoch auch zur Detektion von Patienten mit bisher subklinischer Herzinsuffizienz an Bedeutung gewinnen. Eine Analyse von knapp 10.000 Patienten vor größerer nicht-herzchirurgischer Operation ergab eine Inzidenz postoperativer akuter kardialer Dekompensationen von 2,5% [32]. Erstaunlicherweise bestand bei 51% dieser Patienten präoperativ kein Hinweis auf eine Herzinsuffizienz, wenngleich die Mortalität dieser Patienten nach kardialer Dekompensation im weiteren 1-Jahres-Verlauf drastisch erhöht war. Die Prädiktion einer routinemäßigen Messung des NT-proBNP – unabhängig von etwaigen Vorerkrankungen - wurde im Rahmen dieser Habilitationsschrift hinsichtlich der

postoperativen Morbidität evaluiert und kann Ausgangspunkt für die Etablierung spezifischer therapeutischer Interventionsalgorithmen im perioperativen Umfeld sein. Zur weiteren präoperativen kardialen Evaluation stehen ferner heute diverse apparative Untersuchungsmöglichkeiten zur Verfügung, die im folgenden Abschnitt zusammenfassend skizziert werden.

### **1.1.3.3. Weitere apparative Untersuchungen**

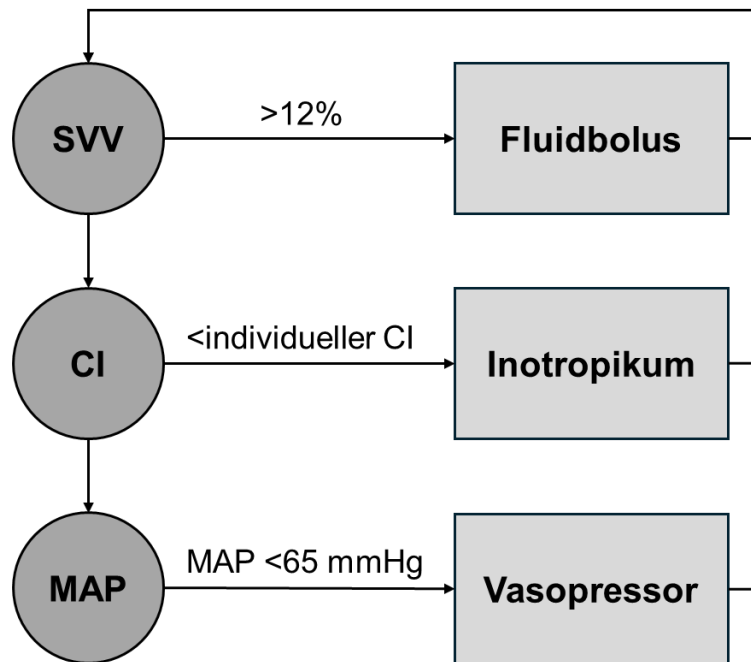
Abseits der bisher beschriebenen Routinediagnostik mittels Ruhe-EKG und Biomarker geben die aktuellen Leitlinien keine weitere Routinediagnostik anhand des operativen oder patientenbezogenen Risikos vor [2,7]. Jedoch können bei Verdacht auf eine kardiale Erkrankung regelhaft verschiedene Routineverfahren zur weiteren präoperativen Diagnostik eingesetzt werden. Zuallererst ist hier aufgrund ihrer Nicht-Invasivität und strahlungsfreier Technik die transthorakale Echokardiographie zu nennen. Sie dient zur Einschätzung der links- und rechtsventrikulären systolischen und diastolischen Funktion, der Evaluation eines vermuteten Klappenvitiums sowie des Volumenstatus und kann zusammen mit den natriuretischen Peptiden die Diagnose einer Herzinsuffizienz sichern [33]. Ferner können regionale Wandbewegungsstörungen auf das Vorliegen eines chronischen Koronarsyndroms hinweisen. Da jedoch der Nutzen einer routinemäßigen präoperativen Echokardiographie vor nicht-herzchirurgischen Eingriffen hinsichtlich des Patientenoutcomes nicht belegt ist, erfolgt die Indikationsstellung primär anhand patientenbezogener Befunde, die das Vorliegen einer bislang unbekanntem kardiovaskulären Erkrankung suggerieren [34,35]. So sollte eine präoperative Echokardiographie bei Patienten, die neben einer deutlich reduzierten Belastbarkeit eine Erhöhung natriuretischer Peptide, periphere Ödeme, ein neues Herzgeräusch oder EKG-Veränderungen aufweisen, durchgeführt werden [2]. Weitere nicht-invasive und invasive Verfahren wie zum Beispiel die Stressechokardiographie, eine Ergometrie oder bildgebende koronare Ischämiediagnostik bis zur invasiven Koronarangiographie richten sich nach den jeweiligen Indikationen zur Evaluation eines bestimmten Krankheitsbildes, wie zum Beispiel dem chronischen Koronarsyndrom anhand der hierfür geltenden Standards und bedürfen dementsprechend einer vorangeschalteten kardiologischen Konsultation [2,14,15]. Ergibt sich aus der weiteren individualisiert indizierten Diagnostik die Diagnose einer Herzinsuffizienz oder eines chronischen Koronarsyndroms sollte diese – in Abhängigkeit von der Dringlichkeit eines Eingriffes – präoperativ inklusive bestehender Risikofaktoren bestmöglich optimiert werden [2]. Für das hieran angeschlossene intraoperative Management stehen verschiedene zielgerichtete hämodynamische Therapieverfahren zur Verfügung, die auch bei kardialen Risikopatienten Anwendung finden können.

## **1.2. Individualisierte intraoperative hämodynamische Therapie**

Das grundsätzliche Ziel der intraoperativen hämodynamischen Therapie ist die Aufrechterhaltung einer adäquaten Homöostase im Kontext der individuellen Erfordernisse und als Reaktion auf intraoperative hämodynamische Alterationen, die durch myokardiale Depression, relativem Volumenmangel durch narkoseassoziierte Vasodilatation, Flüssigkeitsverschiebungen durch Nüchternheit und eröffnete Körperhöhlen sowie den chirurgischen Eingriff, zum Beispiel durch hämodynamisch relevante Blutverluste, bedingt sein können [36]. Die Intention der hämodynamischen Therapie besteht somit darin, eine adäquate Sauerstoffversorgung des Organismus sicherzustellen, wofür nicht nur der Erhalt einer suffizienten Oxygenierung des Blutes, sondern auch der Erhalt eines suffizienten Organperfusionsdrucks und -flusses benötigt wird [37]. Zum Monitoring der Hämodynamik stehen perioperativ verschiedene Verfahren zur Verfügung, wobei sich das anästhesiologische hämodynamische Mindestmonitoring aus der kontinuierlichen Ableitung des EKG, der Pulsoxymetrie, der Kapnographie und Kapnometrie sowie einer Blutdruckmessung zusammensetzt [38]. Der Blutdruck wird hierbei mindestens intermittierend mittels Oszillometrie gemessen, kann jedoch auch nicht-invasiv mittels kontinuierlicher Fingercuff-Messung oder invasiv durch Katheterisieren einer Arterie erhoben werden [37]. Die Indikation für das jeweilige Blutdruck-Messverfahren ergibt sich aus den Ergebnissen der präoperativen Evaluation durch operationsbedingte und patientenspezifische Faktoren. Hierbei stellt der Erhalt eines physiologischen Blutdruckes zunächst Ziel aller hämodynamischen Interventionen dar, weil intraoperative Hypotensionen mit unerwünschten Ereignissen und Endorganschäden, wie einer akuten Nierenschädigung, myokardialen Verletzungen und einem postoperativen Delir assoziiert sein können [39,40]. Wenngleich individualisierte Blutdruckziele Gegenstand aktueller wissenschaftlicher Arbeiten sind, wird eine Hypotonie derzeit als mittlerer arterieller Blutdruck (mean arterial pressure, MAP) unter 65 mmHg angesehen [41]. Dennoch reflektiert der Blutdruck allein nur unzureichend eine adäquate Homöostase, da physiologisch erst ein individuell ausreichendes Herzzeitvolumen (HZV) zusammen mit einer adäquaten Sauerstoffkonzentration die Organversorgung sicherstellt [42]. Dementsprechend ist die Messung des HZV ein integraler Bestandteil zielgerichteter hämodynamischer Therapiestrategien, welches ebenfalls bedarfsadaptiert durch verschiedene Verfahren gemessen werden kann. Goldstandard in der Messung des kardialen Schlagvolumens (SV) stellen trans(kardio)-pulmonale Thermodilutionsverfahren mittels Pulmonalarterien- oder PiCCO-Katheter dar, bei denen das HZV zunächst nach Kalibrierung mittels Steward-Hamilton-Formel gemessen wird. Hierbei schließt sich der Messung der Temperaturänderung des Blutes nach Injektion eines kalten (oder warmen) Indikatorvolumens eine Pulsconturanalyse an, woraus das HZV letztlich kontinuierlich abgeleitet wird [37]. Aber auch nicht- bzw. auto-kalibrierte Verfahren

stehen zur Verfügung, bei denen die invasive Kalibrierung durch Referenzwerte, die sich aus biometrischen Daten des Patienten und/oder einer Analyse der Form der Pulscurve zusammensetzen, ersetzt wird. Ferner kann die auto-kalibrierte Pulsconturanalyse auch bei den nicht-invasiven Fingercuff-Verfahren zur kontinuierlichen Blutdruckmessung zur Anwendung kommen, da hierbei ebenso eine arterielle Blutdruckkurve abgeleitet bzw. berechnet wird [43]. Ferner können mittels automatisierter Analyse der arteriellen Blutdruckkurve und des SV die dynamischen Vorlastparameter Pulse Pressure Variation (PPV) und Schlagvolumenvariation (SVV) abgeleitet werden. Sie repräsentieren unter anderem die atemsynchrone Veränderungen des venösen Rückstroms und folglich der kardialen Vorlast und können somit eine Volumenreagibilität des Patienten anzeigen [44]. So grenzt die Zusammenschau der Parameter des erweiterten hämodynamischen Monitorings die Ursache einer intraoperativen Hypotension ein und kann eine entsprechend zielgerichtete, ursachenfokussierte und somit kausale Therapie ermöglichen, die aus dem klinischen Symptom „Hypotonie“ alleine möglicherweise nicht abgeleitet werden konnte [37]. Entsprechend den verschiedenen möglichen Ursachen einer Hypotonie können verschiedene therapeutische Interventionen durchgeführt werden. Ein Volumendefizit wird beispielsweise durch kristalloide oder kolloidale Infusionslösungen ausgeglichen, wohingegen eine primäre kardiale Pumpleistungsreduktion mittels inotroper Substanzen und ein systemischer Widerstandsverlust mittels Vasopressoren therapiert werden kann. Insbesondere das perioperative Flüssigkeitsmanagement ist hierbei in den Fokus wissenschaftlicher Analysen geraten, da gezeigt wurde, dass eine zu liberale Flüssigkeitsgabe mit Komplikationen und verschlechterten Outcomes assoziiert sein kann [45]. So ließ sich eine zu liberale perioperative Flüssigkeitsgabe nicht nur mit chirurgischen Komplikationen, wie zum Beispiel Anastomoseninsuffizienzen und pulmonalen Komplikationen, sondern auch mit einer insgesamt erhöhten Mortalität bei kritisch kranken Patienten assoziieren [46,47]. Eine zielgerichtete hämodynamische Therapie orientiert sich somit nicht nur am gemessenen Blutdruck, sondern berücksichtigt ebenfalls den Blutfluss (SV, HZV) sowie dynamische Vorlastparameter zur Vorhersage eines intravasalen Flüssigkeitsbedarfs und tritt somit einer übermäßigen – und auch hämodynamisch ineffizienten - Volumengabe entgegen. In der Vergangenheit wurden verschiedene zielgerichtete hämodynamische Therapiealgorithmen mit unterschiedlichen „hämodynamischen Zielen“ hinsichtlich ihres Einflusses auf das individuelle Outcome evaluiert. Beispielhaft ist in *Abbildung 3* ein zielgerichteter hämodynamischer Algorithmus, wie er am Universitätsklinikum Gießen zur Anwendung kam, illustriert. So konnte in einer großen Metanalyse gezeigt werden, dass eine zielgerichtete hämodynamische Therapie Krankenhausverweildauern und auch die postoperative Mortalität reduziert, wenngleich die Effekte innerhalb verschiedener Patientenkollektive unterschiedlich ausgeprägt waren und

der derzeitigen Datenlage insgesamt ein niedriges Evidenzniveau bescheinigt wurde [48,49]. Die größten Effekte ergaben sich entsprechend der vermiedenen Komplikationen in der Viszeralchirurgie, bei Hochrisikoperationen und unter Nutzung dynamischer Vorlastparameter [49].



**Abbildung 3.** Beispielhafter, zielgerichteter hämodynamischer Therapiealgorithmus. Als individueller CI wurde zum Beispiel der CI vor oder nach Narkoseinduktion herangezogen. SVV = Schlagvolumenvariation, CI = Cardiac Index, MAP = Mean arterial pressure.

Somit könnte ein erweitertes hämodynamisches Monitoring mit einer damit einhergehenden zielgerichteten hämodynamischen Therapie, die neben dem arteriellen Blutdruck auch das SV und dynamische Vorlastparameter umfasst, auch bei den im Rahmen der präoperativen Evaluation detektierten Risikopatienten gewinnbringend eingesetzt werden. Insbesondere Patienten, die durch erhöhte natriuretische Peptide und somit möglicherweise mit einer Herzinsuffizienz auffallen, könnten von einem erweiterten hämodynamischen Monitoring profitieren. Die Elevation der natriuretischen Peptide bereits präoperativ zeigt per se eine gewisse kardiale Wandspannungserhöhung und somit Stauung an, sodass hier eine differenzierte Volumentherapie von ganz besonderer Wichtigkeit erscheint, diese sich aber gleichzeitig durch operationsbedingte Volumenverschiebungen ebenso herausfordernd darstellt. Der weiter bestehende Forschungsbedarf hinsichtlich zielgerichteter hämodynamischer Therapiealgorithmen und der Effektivität von Flüssigkeitsgaben wurde im Rahmen dieser Habilitationsschrift in zwei randomisierten Studien adressiert. Des Weiteren ließ sich durch eine zielgerichtete hämodynamische Therapie die Inzidenz pulmonaler

Komplikationen, die nicht nur das akute Lungenversagen, sondern auch Pneumonien umfassen, reduzieren [50].

Neben einer zielgerichteten Optimierung der Hämodynamik kommt im perioperativen Umfeld auch dem Erhalt der physiologischen pulmonalen Integrität eine besondere Bedeutung zu. Ein bedeutender Mechanismus zur Prävention von Verschmutzung und bakterieller Kolonisation der unteren Atemwege ist der mukoziliäre Clearance-Apparat.

### **1.3. Mukoziliäre Clearance und postoperative pulmonale Komplikationen**

Eine postoperative Pneumonie stellt die dritthäufigste postoperative infektiologische Komplikation dar und ist für den weiteren postoperativen Verlauf prognostisch hochrelevant [48,51,52]. Daher zielen heute verschiedene perioperative Interventionen auf den Erhalt der pulmonalen Integrität. Hierzu zählen nicht nur eine lungenprotektive Beatmung, sondern unter anderem auch primärprophylaktische Maßnahmen, wie eine adäquate Patientenlagerung und die frühe atem- und physiotherapeutische Beübung inklusive Mobilisation [48]. Beispielhaft konnte allerdings eine zusätzliche, routinemäßige, nicht-invasive postoperative CPAP-Beatmung die Rate an postoperativen, respiratorischen Komplikationen nicht reduzieren [53]. Somit kommt dem primären Erhalt der physiologischen Funktion der pulmonalen Abwehrmechanismen im perioperativen Umfeld eine entsprechend hohe Bedeutung zu und bedarf wissenschaftlichen Erwägungen. Die mukoziliäre Clearance-Funktion der Atemwege ist hierbei ein physiologischer Mechanismus von herausragender Bedeutung, der die Lunge und Atemwege vor Verschmutzung durch exogene Partikel und Pathogene sowie vor bakterieller Kolonisation und letztlich auch Infektion schützt [54]. Die mukoziliäre Clearance wird im dezidiert abgestimmten Zusammenspiel zwischen den zilienträgenden Epithelzellen, Becherzellen, Clara- sowie neuroendokrinen Zellen koordiniert. Die zilienträgenden Epithelzellen stellen hierbei mit ihren apikalen Zilien einen hocheffektiven Mechanismus zur aktiven Säuberung der Atemwege durch oralgerichteten Transport dar. Weitere zilienträgende Epithelzellen sind in den ebenfalls auf zielgerichtete Transportmechanismen angewiesenen Kompartimenten Tuba uterina, Ductus deferens und in den zerebralen Ependymzellen vorhanden [54]. Die Zilien setzen sich aus Ausläufern der Mikrotubuli des Zytoskeletts zusammen und enthalten das kontraktile Strukturprotein Dynein, das durch die Spaltung von Adenosintriphosphat eine Konformationsänderung und damit den Zilienschlag vermittelt. Durch ihre einzigartige Struktur ermöglicht der kontinuierliche und komplex regulierte Zilienschlag nicht nur den Transport von einzelnen inhalierten Partikeln, sondern auch von komplexen Kompositionen aus Mukus, Elektrolyten und Pathogenen in Richtung der oberen Atemwege, wo sie durch den ausgelösten Hustenstoß final aus dem Körper eliminiert werden [55,56]. Die Ziliaraktivität wird jedoch nicht nur durch exogene Faktoren und Pathogene beeinflusst, sondern unterliegt bereits unter physiologischen

Bedingungen einer komplexen Regulation [57]. Zunächst ist die Aktivität des Ziliapparats durch das parasympathische und sympathische Nervensystem mit ihren Transmittern Acetylcholin und Noradrenalin reguliert, die komplexe intrazelluläre Signaltransduktionskaskaden über zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP), zyklisches Guanosinmonophosphat und Second Messenger, wie zum Beispiel Kalzium-Ionen, anstoßen [58,59]. Die ziliare Aktivität wird jedoch auch von exogenen Faktoren beeinflusst, wozu die regionale Temperatur, Feuchtigkeit und mechanische Kräfte zählen [60,61]. Sie reagiert ebenso auf Zytokine im Rahmen einer Inflammationsreaktion sowie parakrine Effekte, die insbesondere durch die Immunzellen des Respirationstrakts, Makrophagen und Mastzellen, induziert werden [62,63]. Patienten mit angeborenen Erkrankungen des Ziliapparats, wie der primären Ziliendyskinesie, leiden lebenslang unter einem dysfunktionalen Ziliarapparat mit einer erheblich eingeschränkten Clearance-Funktion, deren Verlauf durch schwere, rezidivierende pulmonalen Infektionen gekennzeichnet ist [64]. Das komplexe Zusammenspiel aus Schleimproduktion und Partikeltransport in Richtung der oberen Atemwege wird aber auch bei nicht primär erkrankten Patienten im Rahmen einer Infektion pathophysiologisch negativ beeinflusst [65,66]. So bewirken nicht nur reaktive Sauerstoffspezies, sondern auch bakterielle oder fungale Bestandteile eine reduzierte Zilienaktivität mit entsprechend reduzierter Funktion der mukoziliären Clearance [67,68]. Aber auch ohne Infektion beeinflusst das perioperative Umfeld oder eine kritische Erkrankung die mukoziliäre Clearance. So konnte eine grundsätzliche Einschränkung der mukoziliären Clearance-Funktion bei Intensivpatienten gezeigt werden, die durch kontrollierte Beatmung weiter verschlechtert wurde und daher insgesamt mit bakterieller Kolonisation und Infektion im weiteren intensivmedizinischen Verlauf assoziiert war [65,66]. Auch während einer Allgemeinanästhesie mit kontrollierter Beatmung nach endotrachealer Intubation ist eine Reduktion der mukoziliären Clearance zu verzeichnen, wobei hier nicht nur die Einstellung des Respirators, die Temperatur oder die Feuchtigkeit der Inspirationsluft eine signifikante Rolle spielt [69]. Auch Medikamente können die mukoziliäre Clearance positiv wie negativ beeinflussen. So liegen für einige perioperativ applizierte Medikamente Daten hinsichtlich ihrer Beeinflussung der mukoziliären Clearance vor. Während Thiopental die mukoziliäre Clearance nicht zu beeinflussen scheint, wurde unter den alten volatilen Anästhetika Halothan und Ether eine über ihre jeweilige Applikationszeit hinaus anhaltende Reduktion der mukoziliären Clearance festgestellt [69]. Auch wenn ein solcher Einfluss für die heutzutage eingesetzten volatilen Anästhetika Isofluran, Sevofluran und Desfluran nicht bestätigt werden konnte, bewirkten die perioperativ eingesetzten Antagonisten Neostigmin und Sugammadex sehr wohl eine Reduktion der mukoziliären Clearance [70,71]. Für viele perioperativ und insbesondere bei Risikopatienten überproportional häufig eingesetzten Pharmaka liegen jedoch derzeit keine Daten vor. In vitro wird die Zilienfunktion

klassischerweise am lichtmikroskopisch vergrößertem Epithel als ziliäre Schlagfrequenz oder ihrer hieraus bedingten Partikeltransportgeschwindigkeit gemessen [72]. Daher wurden im Rahmen dieser Habilitationsschrift ausgewählte Substanzen von herausragender perioperativer und intensivmedizinischer Bedeutung in zwei grundlagenexperimentellen Versuchsreihen hinsichtlich ihrer möglichen Beeinflussung der mukoziliären Clearance evaluiert.

## 2. Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Wie in der Einführung dargelegt, kommt in zunehmend multimorbiden Gesellschaften mit häufigen operativen Interventionen im hohen Lebensalter der weiteren Verbesserung der anästhesiologischen Risikostratifizierung und der daraus abgeleiteten, optimierten perioperativen Therapie eine besondere Bedeutung zu. Insbesondere das patientenbezogene Risiko kann in diesen Patientenkollektiven abseits der Grunderkrankung, die den operativen Eingriff erforderlich macht, erheblich sein. Die vorhandenen Komorbiditäten tragen einerseits direkt zum Gesamterfolg einer Operation hinsichtlich postoperativer Morbidität, Mortalität und Lebensqualität bei. Andererseits stellt sich die rein klinische Einschätzung des perioperativen Risikos und des hieraus abgeleiteten Optimierungspotenzial exemplarisch insbesondere in Bezug auf eine vorbestehende – aber bislang im Alltag der Patienten nicht symptomatisch gewordene – Herzinsuffizienz als erschwert dar. Daher wurden im Rahmen der ersten beiden Publikationen folgende Fragestellungen hinsichtlich der präoperativen Risikoprädiktion mithilfe des Herzinsuffizienz-Biomarkers NT-proBNP bearbeitet:

- Kann die routinemäßige Messung des präoperativen NT-proBNP die postoperative 30-Tage-Morbidität bei Patienten über 65 Jahren, die sich einem elektiven nicht-herzchirurgischen Eingriff mit intermediärem oder hohem operativen Risiko in Allgemein-anästhesie unterziehen, vorhersagen?
- Welcher Grenzwert des präoperativen NT-proBNP kann in der untersuchten Kohorte bei einer routinemäßigen Messung zur Risikostratifizierung zugrunde gelegt werden?
- Können etablierte klinische Risiko-Scores die postoperative Morbidität ebenso vorhersagen?
- Wie schneidet die Risikoprädiktion der postoperativen Morbidität mittels NT-proBNP im Vergleich zur Prädiktion mittels etablierter klinischer Risiko-Scores ab?
- Kann die Ergänzung des präoperativen NT-proBNP zu etablierten klinischen Risiko-Scores die Prädiktion der postoperativen Morbidität insgesamt verbessern?

Das im Rahmen der ersten Arbeiten untersuchte vulnerable Patientenkollektiv mit erhöhten NT-proBNP-Werten, die das Vorliegen einer Herzinsuffizienz suggerieren, könnte daher von einer zielgerichteten hämodynamischen Therapie, die eine zielgerichtete Flüssigkeitstherapie inkludiert, profitieren. Daher wurden in den nächsten beiden Arbeiten im Rahmen zweier randomisierter, kontrollierter Studien folgende Fragestellungen hinsichtlich zielgerichteter und individualisierter intraoperativer Therapie bearbeitet:

- Hat die Infusionsgeschwindigkeit eines intraoperativen kristalloiden oder kolloidalen Flüssigkeitsbolus, der aufgrund dynamischer Vorlastparameter indiziert wurde, einen Einfluss auf die hämodynamische Wirksamkeit?

- Kann eine algorithmusbasierte perioperative hämodynamische Therapie mit dem Ziel des Erhalts eines individuell maximierten Herzindex nach Narkoseinduktion die postoperative Morbidität und Mortalität reduzieren?

Im Rahmen der ersten beiden Originalarbeiten wurde ebenfalls eine signifikant erhöhte Rate an postoperativen Infektionen und insbesondere Pneumonien festgestellt. Ferner war der Bedarf an kreislaufunterstützender Therapie, zum Beispiel mittels des Vasopressors Noradrenalin, erhöht. Entsprechend dem grundsätzlichen Wissen, dass die mukoziliäre Clearance im perioperativen Umfeld per se eingeschränkt ist und somit eine erhöhte Vulnerabilität für Infektionen besteht, schienen die Patienten mit erhöhtem NT-proBNP hierfür besonders vulnerabel zu sein. Daher wurde in zwei experimentellen Serien am Mausmodell der Einfluss klinisch relevanter antihypotensiver Medikamente auf die mukoziliäre Clearance evaluiert:

- Besitzt die klinisch etablierte Kombination aus Cafedrin/Theodrenalin (gebräuchlich als 20:1 Mischung, Akrinor®) das Potenzial die mukoziliäre Clearance zu beeinflussen?
- Welchen individuellen Einfluss haben hierbei die Einzelsubstanzen Cafedrin und Theodrenalin?
- Besitzen die überwiegend kontinuierlich applizierten Vasopressoren Dopamin, Noradrenalin und Vasopressin das Potenzial die mukoziliäre Clearance zu beeinflussen?
- Über welche Rezeptoren und intrazelluläre Signaltransduktionskaskaden findet eine mögliche Beeinflussung der mukoziliären Clearance statt?

### **3. Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse eigener Arbeiten**

#### **3.1. Präoperative Risikostratifizierung**

Im Rahmen einer monozentrischen Observationsstudie wurde bei 200 konsekutiven Patienten über 65 Jahre, die sich einer nicht-herz- oder gefäßchirurgischen Operation mit intermediärem oder hohem chirurgischen Risiko in Allgemeinanästhesie unterziehen mussten, präoperativ unabhängig von vorbestehenden Komorbiditäten eine Point-of-care Messung des NT-proBNP durchgeführt. Neben der Erfassung der Basis-Charakteristiken des Patientenkollektives, inklusive der Bestandteile klinischer Risiko-Scores, wurden perioperative Parameter und die Ereignisse im stationären Verlauf aus der Patientenakte sowie Ereignisse bis zum 30. postoperativem Tag mittels Telefon-Follow Up registriert. Der primäre Endpunkt war ein kombinierter Morbiditätsendpunkt, der sich aus der Inzidenz jeglicher ungeplanter Rehospitalisierungen, einer akuten Nierenschädigung, jeglicher bakteriellen Infektionen und kardialer Dekompensationen zusammensetzte. Eine ungeplante Rehospitalisierung war als nicht-elektive stationäre Aufnahme über 24 Stunden definiert. Eine akute Nierenschädigung wurde gemäß der Kidney Disease: Improving Global Outcomes Criteria definiert, wobei bei Nicht-Vorhandensein der Diuresemenge lediglich das Serum-Kreatinin herangezogen wurde [73]. Der Endpunkt jeglicher bakterieller Infektion umfasste jede nachgewiesene oder vermutete bakterielle Infektion, die einer systemischen Antibiotikatherapie bedurfte. Eine kardiale Dekompensation war als die Kombination aus neu aufgetretener bzw. verschlechternder Luftnot oder Kurzatmigkeit mit klinischen oder radiologischen Stauungszeichen, wie zum Beispiel peripheren Ödemen, Rasselgeräuschen und Pleuraergüssen, die behandelt werden mussten, definiert. Sekundäre Endpunkte waren die Einzelkomponenten des primären Endpunkts sowie die Inzidenz postoperativer Myokardinfarkte, Wundheilungsstörungen und die Mortalität am 30. postoperativen Tag. Darüber hinaus wurde der perioperative Medikamentenbedarf, insbesondere intravenöser Diuretika und kreislaufunterstützender Medikamente sowie die Flüssigkeitsbilanz ausgewertet.

##### **3.1.1. Präoperatives NT-proBNP als Prädiktor für die postoperative Morbidität**

In die finale Analyse wurden aufgrund einer abgesagten Operation 199 Patienten mit einer medianen Follow Up-Zeit von 30 [30 – 30] Tagen bei 97,5% komplettierten Follow Up-Erhebungen eingeschlossen. Zuerst wurde mittels Receiver Operating Charakteristik-Analyse (ROC) die Prädiktivität des NT-proBNP auf den gemeinsamen Morbiditätsendpunkt evaluiert. Hier ergab sich eine Fläche unter der Kurve (area under the receiver operating characteristic curve, AUCROC) von 0,679 [0,602 – 0,756] ( $p < 0,001$ ) mit einem gemäß Youden-Index optimalen NT-proBNP-Grenzwert von 443 pg/ml (Sensitivität 55,6%, Spezifität 80,7%). Um eine klinische Nutzung mittels eines einfach implementierbaren, pragmatischen Grenzwerts

zu erleichtern, wurde bei nahezu vergleichbarer Prädiktivität (Sensitivität 54,4%, Spezifität 80,7%) für die folgenden Auswertungen ein Grenzwert von 450 pg/ml genutzt. Hinsichtlich klinischer und anamnestischer Parameter wiesen die Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml bereits in der Analyse der Basischarakteristiken vermehrt Komorbiditäten auf. Allerdings war bei nur 24,3% der Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml bei 10,6% Prävalenz der Gesamtkohorte eine Herzinsuffizienz vorbekannt. Hierunter stellte die Herzinsuffizienz mit erhaltener Pumpfunktion (heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF) den dominierenden Phänotyp dar. Der mediane Wert für das präoperative NT-proBNP lag bei 173 [103 – 274] pg/ml bzw. bei 1309 [730 – 2918] pg/ml in den Gruppen mit NT-proBNP ≤450 pg/ml bzw. >450 pg/ml. Der gemeinsame Morbiditätsendpunkt wurde in der Gruppe mit NT-proBNP >450 pg/ml mit 70,7% im Vergleich zu 32,4% bei den Patienten mit präoperativem NT-proBNP ≤450 pg/ml signifikant häufiger erreicht ( $p<0,001$ ). Kardiale Dekompensationen (20,1% vs. 4,0%,  $p<0,001$ ), akute Nierenschädigungen (39,8% vs. 8,3%,  $p<0,001$ ), Infektionen (46,3% vs. 24,4%,  $p=0,001$ ) und ungeplante Rehospitalisierungen kardialer Genese (4,4% vs. 0,0%,  $p=0,018$ ) traten ebenso signifikant häufiger auf. Die Rate an Myokardinfarkten, ungeplanten Rehospitalisierungen jeglicher Ursache sowie die 30-Tage-Mortalität war zwischen den beiden Gruppen vergleichbar.

Unterschiede hinsichtlich der Flüssigkeitsbilanz sowie der Inzidenz und Schwere perioperativer Hypotensionen bestanden zwischen beiden Gruppen keine. Allerdings benötigten die Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml signifikant höhere kumulierte Dosen des Vasopressors Noradrenalin (82 [0 – 436] µg vs. 261 [4 – 784] µg,  $p=0,007$ ). In der Unteranalyse der aufgetretenen Infektionen zeigte sich, dass eine signifikant höhere Inzidenz postoperativer Pneumonien (10,9% vs. 1,6%,  $p=0,011$ ) und Infektionen anderer bzw. unklarer Genese (22,9% vs. 7,1%,  $p=0,003$ ) diesen Endpunkt bedingten. Abdominelle Infektionen, Infektionen der Operationswunde sowie des Uro-Genital-Traktes traten in beiden Gruppen vergleichbar häufig auf.

Die erhöhte Ereignisrate kardialer Dekompensationen der Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml erforderte innerhalb dieser Gruppe ebenso die vermehrte Gabe von intravenösen Diuretika während des stationären Aufenthalts (0 [0 – 0] mg vs. 0,1 [0 – 6] mg, berechnet als Furosemid-Äquivalent pro Aufenthaltstag,  $p<0,001$ ). Die vermehrte postoperative Morbidität der Patienten spiegelte sich auch innerhalb der deutlich verlängerten intensivstationären (0,8 [0 – 1,1] Tage vs. 1,1 [0,8 – 3,5] Tage,  $p<0,001$ ) sowie Krankenhausverweildauer (8 [6 – 13] Tage vs. 15 [8 – 21] Tage,  $p<0,001$ ) wider.

Abschließend wurde die Prädiktion des NT-proBNP Grenzwerts von 450 pg/ml in einem multivariablen Cox-Regression-Modell adjustiert auf Geschlecht, Alter, Body-Mass-Index, ASA-Klassifikation >2, RCRI >2, chronische Niereninsuffizienz Stadium >3, Anämie und Operationsbereich analysiert. Hier war nur der NT-proBNP-Grenzwert mit einer Hazard Ratio

von 2,92 [1,72 – 4,94] ( $p < 0,001$ ) ein signifikanter Prädiktor für den postoperativen Morbiditätsendpunkt.

Zusammenfassend konnte im Rahmen dieser Observationsstudie durch die routinemäßige NT-proBNP-Messung zum Zeitpunkt der Anästhesieaufklärung ein NT-proBNP-Grenzwert, der ein massiv erhöhtes Morbiditätsrisiko anzeigt, gefunden werden. Patienten mit NT-proBNP  $>450$  pg/ml wiesen stark erhöhte postoperative Ereignisraten auf, die sich insgesamt auch in den Verweildauern widerspiegeln. Im Rahmen dieser Studie lag der Fokus im Vergleich zur bislang vorhandenen Literatur weniger auf rein kardialen Ereignissen, sondern mehr auf der Gesamtmorbidität im postoperativen Verlauf. Wenngleich die Patienten mit NT-proBNP  $>450$  pg/ml ebenfalls signifikant häufiger relevante Komorbiditäten aufwiesen als die Patienten mit NT-proBNP  $<450$  pg/ml, wies das multivariable Cox-Regression-Modell darauf hin, dass das NT-proBNP im Vergleich zu etablierten Kriterien vorteilhaft sein könnte. Der Vergleich des prädiktiven Werts des NT-proBNP mit etablierten klinischen Risiko-Scores wurde mittels einer weiteren Analyse aus derselben Kohorte im Rahmen der folgenden Publikation geführt.

### **3.1.2. Vergleich der Prädiktion des präoperativen NT-proBNP mit klinischen Risiko-Scores hinsichtlich der postoperativen Morbidität**

Im Rahmen dieser Analyse wurden die, in der Einführung dieser Habilitationsschrift bereits dargestellten, einfach anwendbaren Risiko-Scores hinsichtlich der Prädiktivität des postoperativen Morbiditätsendpunkts und dessen individuellen Komponenten evaluiert. Da alle etablierten einfachen Scores, die primär durch einfache Addition und gegebenenfalls Gewichtung bestimmter, ausschließlich klinischer Kriterien berechnet werden, ursprünglich hinsichtlich Mortalität bzw. unerwünschter kardialer Ereignisse validiert worden sind, stellte sich zunächst die Frage, ob sie auch für die Vorhersage der postoperativen Morbidität genutzt werden können. Darüber hinaus erfolgte ein Vergleich zur Prädiktivität des präoperativen NT-proBNP und der explorative Versuch die vorhandenen Scores mit dem Biomarker zu kombinieren, um gegebenenfalls aus der Kombination eine verbesserte Ereignisvorhersage realisieren zu können.

Zuerst wurden die Komponenten der jeweiligen Scores zwischen den Patienten mit präoperativem NT-proBNP  $>450$  pg/ml bzw.  $\leq 450$  pg/ml verglichen. Hierbei fiel bereits auf, dass keines der Kriterien des Scores von Andersson et al. zwischen beiden Gruppen verschieden war. Für die Komponenten des RCRI war in der Gruppe mit NT-proBNP  $>450$  pg/ml die Prävalenz einer chronischen Herzinsuffizienz, einer koronaren Herzerkrankung sowie eines präoperativen Kreatinin-Wertes  $>2$  mg/dl signifikant größer. Beim AUB-HAS2 waren – abseits der aufgrund des Patientenkollektives nicht vorhandenen gefäß-

chirurgischen Operationen und Notfalleingriffen - alle individuellen Komponenten in der Gruppe mit erhöhtem NT-proBNP signifikant häufiger ausgeprägt.

Anschließend wurde für jeden Score ROC-Analysen für den gemeinsamen Morbiditätsendpunkt und dessen Einzelkomponenten durchgeführt und wenn möglich der jeweilige Score-Grenzwert mit dessen Sensitivität und Spezifität berechnet.

Von den drei untersuchten Risiko-Scores konnte lediglich der AUB-HAS2 den gemeinsamen Morbiditätsendpunkt vorhersagen (AUCROC: 0,646,  $p < 0,001$ ; Grenzwert 2 Punkte mit Sensitivität 52,2% und Spezifität 68,8%). Die AUCROC für Rehospitalisierung jeglicher Ursache war weder für die untersuchten Scores noch das NT-proBNP signifikant. Akute Nierenschädigungen, kardiale Dekompensationen und Infektionen konnten jeweils nicht nur durch das präoperative NT-proBNP, sondern auch durch den AUB-HAS2 vorhergesagt werden. Die individuellen Grenzwerte des NT-proBNP lagen hier mit 443 bis 482 pg/ml in der Nähe des in der ersten Analyse gewählten pragmatischen Grenzwerts von 450 pg/ml. Der RCRI war hierbei jedoch lediglich für eine akute Nierenschädigung prädiktiv. Sowohl für den AUB-HAS2 und den RCRI betrug der Grenzwert unabhängig vom analysierten Outcome jeweils 2 Punkte. Der Score von Andersson et al. konnte weder den gemeinsamen Endpunkt noch einen der Unterkomponenten vorhersagen. Im Vergleich zum RCRI und dem Score von Andersson et al. konnte das NT-proBNP somit ein größeres Feld an Morbiditätsendpunkten vorhersagen. Im Vergleich zum AUB-HAS2 war die Sensitivität und Spezifität der berechneten NT-proBNP-Grenzwerte zwar numerisch höher, wenngleich sich in der statistischen Analyse die jeweiligen AUC nicht signifikant unterschieden.

Im nächsten Schritt wurden logistische Regressionsmodelle für jeden Score bzw. dessen Komponenten zuzüglich des präoperativen NT-proBNP-Grenzwerts erstellt. In allen Modellen war nur der präoperative NT-proBNP-Grenzwert ein signifikanter Prädiktor für den postoperativen Morbiditätsendpunkt. Im Anschluss wurde eine explorative Analyse mit dem Versuch einer Verbesserung der Risiko-Scores durch die Aufnahme des NT-proBNP in insgesamt drei modifizierte Scores durchgeführt. Die Score-Berechnung erfolgte jeweils mit den gleichen Kriterien der Original-Scores, allerdings wurden die Komponenten nun mittels der Odds Ratios aus den jeweiligen multivariablen Modellen gewichtet und ein entsprechend – im Vergleich deutlich stärker - gewichtetes NT-proBNP aufgenommen. Im Vergleich zu den Original-Scores war die AUC in der darauffolgenden Analyse für die modifizierten AUB-HAS2 und RCRI signifikant größer, wohingegen der Score von Andersson et al auch durch die Addition des NT-proBNP nicht verbessert werden konnte. Jedoch blieb die Prädiktivität insgesamt mit der des NT-proBNP allein vergleichbar.

Zusammenfassend ergab die Analyse von etablierten Risiko-Scores und des NT-proBNP, dass die untersuchten Risiko-Scores hinsichtlich eines breiten Morbiditätsendpunkt eine deutlich unterschiedliche Prädiktivität aufweisen. Obwohl der RCRI der älteste und am

häufigsten eingesetzte Risiko-Score im Rahmen der präoperativen Evaluation ist, scheint der AUB-HAS2 hier nicht nur hinsichtlich der Vorhersage des gemeinsamen Endpunkts, sondern auch hinsichtlich der individuellen Komponenten überlegen. Grundsätzlich war die Risikoprädiktion mittels isolierter – und im Vergleich zu Risiko-Scores insgesamt objektiver – Messung des präoperativen NT-proBNP mindestens gleichwertig zum AUB-HAS2 und besser als die des RCRI und des Scores von Andersson et al. Allerdings ist die Ergänzung etablierter Risiko-Scores um einen Biomarker-Grenzwert offensichtlich nicht trivial, da im Zuge der explorativen Analyse hier keine klinisch relevante Verbesserung der Prädiktivität erzielt werden konnte.

### **3.2. Individualisierte intraoperative hämodynamische Therapie**

Aus den Ergebnissen der Observationsstudie ergibt sich der Bedarf nach perioperativen Strategien zur Verbesserung des klinischen Outcomes der detektierten Risiko-Patienten. Bezogen auf das hämodynamische Management unterschied sich hier zunächst der Vasopressor- bzw. Noradrenalinbedarf. Jedoch ist auch eine Beeinflussung der Endpunkte kardiale Dekompensation, akute Nierenschädigung und Infektion durch eine – möglicherweise relativ betrachtete - zu liberale oder zu restriktive Flüssigkeitsgabe denkbar. In der obigen Observationsstudie unterschied sich die Menge verabreichter kristalloider oder kolloidaler Volumenersatzlösungen nicht zwischen den beiden Gruppen – obwohl in der Gruppe mit NT-proBNP >450 pg/ml nicht nur mehr Noradrenalin zum Einsatz kam, sondern auch eine erhöhte Inzidenz kardialer Dekompensationen zu verzeichnen war.

Dementsprechend sollten grundsätzliche Erwägungen zur zielgerichteten hämodynamischen Therapie in den folgenden zwei randomisierten Studien, unabhängig von einer Biomarkergeführten Vorselektion des Patientenkollektives, evaluiert werden.

#### **3.2.1. Einfluss der Infusionsgeschwindigkeit eines Flüssigkeitsbolus auf die initiale hämodynamische Wirksamkeit**

Der adäquate perioperative Flüssigkeitsersatz stellt eine der Säulen zielorientierter hämodynamischer Therapie dar. Hierzu kommen sowohl kristalloide als auch kolloidale Infusionslösungen zum Einsatz, wobei letztere bei intakter endothelialer und kapillärer Integrität durch kolloid-osmotisch aktive Moleküle einen größeren intravasalen Volumeneffekt aufweisen. Allerdings erschien der Einfluss der Infusionsgeschwindigkeit eines Flüssigkeitsbolus insbesondere im direkten Vergleich zwischen kristalloiden und kolloidalen Infusionslösungen bislang nur unzureichend evaluiert, wenngleich Plasmaverweildauern und Umverteilungsphänomene der einzelnen Präparate durchaus bekannt sind. Möglicherweise könnte eine zu langsame Bolus-Applikation zwar weniger oder keine hämodynamischen Effekte haben, jedoch insgesamt zu einer Volumenüberladung des Patienten führen. Dies könnte nicht nur

insbesondere innerhalb des Risikokollektivs, das im Rahmen der ersten zwei Publikationen dieser Habilitationsschrift untersucht wurde, von erheblicher Relevanz sein, sondern auch die Vergleichbarkeit verschiedener zielorientierter Algorithmen zur hämodynamischen Optimierung einschränken. Daher wurde in einer monozentrischen randomisierten Interventionsstudie die hämodynamische Effektivität eines intraoperativen Flüssigkeitsbolus in Abhängigkeit von der Applikationsgeschwindigkeit evaluiert. Hierzu wurden Patienten mit Sinusrhythmus im Rahmen größerer neurochirurgischer Wirbelsäulenoperationen in Bauchlage, die eine invasive Messung des arteriellen Blutdrucks erforderlich machten, eingeschlossen. Intraoperativ erfolgte ein nicht-kalibriertes erweitertes hämodynamisches Monitoring, das die Messung des HZV, des SV sowie des dynamischen Vorlastparameters PPV ermöglichte. Die Indikation für einen 250 ml Flüssigkeitsbolus wurde jeweils gestellt, wenn abseits der basalen Infusionsrate von 4 ml/kg/h Kristalloid das PPV  $\geq 14\%$  betrug. Hierfür wurden die Patienten bereits präoperativ in die Gruppen „Flüssigkeitsbolus über 5 min“ oder „Flüssigkeitsbolus über 20 min“ randomisiert. Die ersten zwei Flüssigkeitsboli erfolgten mittels Kristalloid, für jeden weiteren Flüssigkeitsbolus kamen kolloidale Lösungen zum Einsatz. Neben der Erfassung der Basischarakteristiken und intraoperativen Parameter inklusive der Inzidenz und Schwere intraoperativer Hypotensionen wurde vor jedem Flüssigkeitsbolus die aktuelle PPV, das Schlagvolumen (SV), der aktuelle Noradrenalin-Bedarf sowie der MAP gemessen. In beide Behandlungsarme wurden jeweils 20 Patienten mit insgesamt 70 (5 min-Gruppe) bzw. 49 (20 min-Gruppe) Flüssigkeitsboli-Gaben randomisiert. Der prozentuale Anstieg des SV (+6 [-1 – 16] % vs. +3 [-5 – 10] %,  $p=0,028$ ), der absolute Anstieg des MAP (+8 [1 – 14] mmHg vs. +2 [-2 – 9] mmHg,  $p=0,014$ ) sowie die Reduktion der PPV (-6 [-2 – (-8)] % vs. -3 [-6 – (-1)] %,  $p<0,01$ ) war in der 5 min-Gruppe signifikant größer als in der 20 min-Gruppe. In der Subanalyse, bei der Kristalloid- und Kolloidgaben separat betrachtet wurden, waren diese Effekte primär den Kolloiden attribuierbar. Gleichzeitig wiesen signifikant mehr Patienten in der 20 min-Gruppe (28,9% vs. 7,1%,  $p=0,033$ ) einen zunehmenden Noradrenalin-Bedarf nach Abschluss der Bolusinfusion auf, womit zwar eine statistisch vergleichbare Inzidenz, jedoch numerisch eine deutlich längere Dauer und höhere Schwere intraoperativer Hypotensionen in der 20 min-Gruppe erreicht wurde. Dennoch verbesserten sich Herzindex (2,1 [1,7 – 2,6]  $\text{lmin}^{-1}\text{m}^{-2}$  vs. 2,2 [1,8 – 2,6]  $\text{lmin}^{-1}\text{m}^{-2}$ ,  $p<0,01$ ), SV (64 [53 – 74] ml vs. 70 [57 – 80] ml,  $p<0,01$ ) und MAP (74 [68 – 79] mmHg vs. 82 [74 – 91] mmHg,  $p<0,01$ ) absolut nur in der 5 min-Gruppe signifikant, wobei hier in der Subanalyse Kristalloide oder Kolloide gleich effektiv waren. In der 20 min-Gruppe konnte lediglich ein leichter – wenngleich signifikanter – Anstieg des MAP (74 [69 – 80] mmHg vs. 77 [72 – 87] mmHg,  $p=0,011$ ) bei vergleichbarem Herzindex und SV detektiert werden. In der Subanalyse von Kristalloiden und Kolloiden war dieser Anstieg jedoch nur unter den kolloidalen Bolus-Applikationen und nicht nach Kristalloidgabe nachweisbar.

Zusammenfassend konnte in dieser randomisierten Interventionsstudie gezeigt werden, dass die Infusionsgeschwindigkeit einen relevanten Einfluss auf die hämodynamische Effektivität einer Kristalloid- oder Kolloid-Bolusgabe hat. Hierbei folgte einer schnellen – 5-minütigen - Applikation eine unmittelbare, signifikante Verbesserung der Hämodynamik. Diese Verbesserung war initial unabhängig von der Wahl einer kristalloiden oder kolloidalen Infusionslösung, wobei sich kolloidale Infusionen in den Subanalysen durchaus als effektiver zur hämodynamischen Optimierung darstellten. Eine Flüssigkeitsgabe zur Vorlast- bzw. Schlagvolumenoptimierung über 20 min scheint das Ziel einer Verbesserung des SV nicht erfüllen zu können. Diese Beobachtung war insofern auch von klinisch-therapeutischer Relevanz, weil der Bedarf an Noradrenalin in der 20 min-Gruppe über die Zeit der Bolusinfusion häufiger zunahm.

### **3.2.2. Der Herzindex nach Narkoseinduktion als Ziel der perioperativen hämodynamischen Therapie**

Hypothese der randomisierten kontrollierten Multicenterstudie iPEGASUS war, dass die Implementierung eines zielgerichteten hämodynamischen Therapiealgorithmus in der perioperativen Phase die Inzidenz an Komplikationen bei Patienten, die sich einem großen, offenem, abdominal-chirurgischen Eingriff unterzogen, reduzieren kann. Es wurden lediglich Patienten eingeschlossen, bei denen eine intraoperative Flüssigkeitsgabe von mindestens zwei Litern und mindestens zwei Stunden Operationsdauer erwartet wurden, sowie ein mindestens 10% Risiko für postoperative Komplikationen nach dem ACS-NSQIP risk calculator bestand. Als hämodynamisches Ziel sollte perioperativ der „optimale Herzindex nach Narkoseinduktion“ erhalten werden, wofür in der Interventionsgruppe drei hämodynamische Algorithmen zur Anwendung kamen. Der optimale Herzindex nach Narkoseinduktion wurde angenommen, wenn nach Narkoseinduktion die PPV bei <12% lag, andernfalls wurde zunächst die Vorlast mittels Flüssigkeitsbolus maximiert. Wenn die PPV <12% lag, wurde der jeweilige Herzindex als der „optimale“ individuelle Herzindex angenommen und fortan als hämodynamisches Ziel für die Operation sowie die ersten 8 Stunden nach der Operation definiert. Hierfür kamen zwei weitere Algorithmen – jeweils für beatmete und (postoperativ) nicht (mehr) beatmete Patienten – zum Einsatz. Fiel der Herzindex intraoperativ unter den als „optimal“ definierten Herzindex, wurde bei einer PPV  $\geq 12\%$  zunächst eine weitere Bolusinfusion appliziert, um die Vorlast erneut zu optimieren. War der Herzindex bei einer PPV <12% niedriger als der „optimale“ Herzindex, wurde eine positiv inotrope Therapie mittels Dobutamin begonnen. Da bei nicht-beatmeten Patienten die PPV durch die fehlende kontrollierte Beatmung nicht verwertbar ist, wurde im postoperativen Verlauf bei Unterschreitung des „optimalen“ Herzindex direkt eine Bolusinfusion appliziert und bei anschließender fehlender Reaktivität ebenfalls eine Therapie mit Dobutamin

begonnen. Der primäre Endpunkt war die Inzidenz eines gemeinsamen Komplikationsendpunkts nach 28 Tagen, der aus Tod sowie 22 Komplikationen gemäß der European Clinical Outcomes Definitionen zusammengesetzt war [74]. Insgesamt wurden 318 Patienten eingeschlossen. Der primäre Endpunkt wurde in der Intention-to-treat-Analyse bei 84 von 152 Patienten (55%) in der Interventionsgruppe und 77 von 166 Patienten (46%) in der Kontrollgruppe erreicht (Odds Ratio 1,87 [1,03 – 3,39],  $p=0,038$ ). Das Ergebnis bestätigte sich auch nach Adjustierung hinsichtlich Basischarakteristiken und in weiteren Per-Protocol-Analysen. Im prolongiertem 6-Monate-Follow Up zeigte sich jedoch in der Interventionsgruppe mit 7% (10/152) gegenüber 13% (21/166) in der Kontrollgruppe ein Trend zu einer reduzierten Mortalität (Odds Ratio 0,48 [0,22 – 1,05],  $p=0,065$ ). Hinsichtlich des hämodynamischen Managements erhielten beide Studiengruppen jeweils vergleichbare Dosen an Vasopressoren und Infusionen, Dobutamin wurde jedoch protokollbedingt ausschließlich in der Interventionsgruppe eingesetzt.

Zusammenfassend konnte die iPEGASUS-Studie zeigen, dass ein perioperativer hämodynamischer Therapiealgorithmus mit dem Ziel des Erhalts des „optimalen“ Herzindex nach Narkoseinduktion Komplikationen nach großen abdominalen Operationen nicht reduzieren konnte. Zusätzlich war für den Erhalt des angestrebten Herzindex häufig eine positiv inotrope Medikation mit Dobutamin notwendig. Der primären Studienendpunkt wurde in der Interventionsgruppe sogar signifikant häufiger erreicht als in der Kontrollgruppe und hat in der praktischen Anwendung somit kurzfristig zu mehr Komplikationen geführt. Daher sollte bei perioperativer Messung des HZV und im Rahmen zielgerichteter hämodynamischer Therapieprotokolle keine Optimierung nach dem maximierten Herzindex nach Narkoseinduktion erfolgen.

### **3.3. Auswirkung perioperativ relevanter Pharmaka auf die mukoziliäre Clearance**

Im Rahmen der Risikoprädiktion mittels NT-proBNP konnte bei den Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml eine erhöhte Inzidenz postoperativer Infektionen detektiert werden, die unter anderem durch eine signifikant höhere Rate an Pneumonien bedingt war. Unstrittig ist, dass respiratorische Erkrankungen eine relevante Komplikation im postoperativen Verlauf darstellen und bereits allein durch Hospitalisierung die mukoziliäre Clearance-Funktion der Atemwege eingeschränkt ist. Dem Erhalt bzw. der Verhinderung weiterer Einschränkungen der mukoziliären Clearance kommt somit auch perioperativ eine besondere Bedeutung zu. Es ist unklar, inwieweit perioperativ eingesetzte Pharmaka diese sowohl negativ, wie möglicherweise positiv beeinflussen können. Aufgrund der Tatsache, dass die Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml neben der erhöhten Inzidenz postoperativer Pneumonien ebenso erhöhte Dosen an Noradrenalin benötigten, wurde in den folgenden zwei Originalarbeiten am Tiermodell der Einfluss klinisch relevanter Vasopressoren und der in Deutschland

perioperativ seit Jahrzehnten etablierten Mischung aus Cafedrin/Theodrenalin im Verhältnis 20:1 (Akrinor®) evaluiert.

Hierzu wurden nach Euthanasie die Tracheen von männlichen C57BL6J-Mäusen entnommen und nach Feinpräparation in einem mit Puffer gefülltem und silikonbeschichtetem Schälchen mit longitudinal eröffnetem Musculus trachealis fixiert. Unmittelbar im Anschluss erfolgte die lichtmikroskopische Einstellung eines repräsentativen Trachealabschnitts, wo durch Zugabe von 2,8 µm großen Polymerpartikeln der zilienvermittelte Partikeltransport visualisiert wurde. Nach entsprechender Äquilibration erfolgte während des 80-minütigen Beobachtungszeitraums die Aufnahme standardisierter Videosequenzen. Nach offline-Prozessierung ließen sich die einzelnen Partikelpfade darstellen und nach Mittelung die Partikeltransportgeschwindigkeit als Surrogatparameter für die mukoziliäre Clearance-Funktion berechnen. Um eine bessere Vergleichbarkeit der Absolutwerte aus verschiedenen Experimenten zu gewährleisten, wurde die Partikeltransportgeschwindigkeit auf die Geschwindigkeit zu Beginn des jeweiligen Beobachtungszeitraums normiert. In den dargestellten, folgenden zwei Versuchsreihen wurde die Auswirkung der unterschiedlichen Pharmaka auf die murine Partikeltransportgeschwindigkeit evaluiert und zur Aufdeckung etwaiger unterschiedlicher Signaltransduktionskaskaden ferner verschiedene inhibitorische Substanzen appliziert.

### **3.3.1. Cafedrin/Theodrenalin als etablierte 20:1 Mischung (Akrinor®)**

Im Rahmen dieser Versuchsreihe wurde der Einfluss der klinisch eingesetzten 20:1 Mischung von Cafedrin/Theodrenalin sowie der jeweiligen Einzelsubstanzen Cafedrin und Theodrenalin evaluiert. Hierzu wurden zunächst steigende Konzentrationen der drei Ansätze appliziert, woraus sich jeweils eine Konzentrations-Wirkungs-Kurve berechnen ließ. Die mediane effektive Konzentration betrug für Cafedrin/Theodrenalin, Cafedrin und Theodrenalin 0,46 µM, 408 µM und 4 µM. Diese Konzentrationen wurden in den folgenden Versuchen genutzt, um die zugrundeliegenden Signaltransduktionskaskaden aufzudecken. Grundsätzlich bedingten alle drei Zusammensetzungen von Cafedrin und/oder Theodrenalin einen im Vergleich zu Kontrollbedingungen ( $96 \pm 2\%$ ) ohne Substanzzugabe einen deutlichen und über die ganze Beobachtungszeit andauernden Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit (20:1 Cafedrin/Theodrenalin:  $178\% \pm 12\%$ ; Cafedrin:  $160\% \pm 8\%$ ; Theodrenalin:  $196\% \pm 9\%$ ; jedes  $p < 0.001$ ). Weitere Experimente mittels nicht-selektiver und auch selektiver  $\beta$ -Adrenorezeptor-Blockade konnten den Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit vollständig unterdrücken. Auch die Proteinkinase A und die Phospholipase C wurden mit selektiven inhibitorischen Substanzen blockiert, allerdings hatten beide Enzyme isoliert keinen relevanten Anteil an der gesteigerten Partikeltransportgeschwindigkeit unter Cafedrin/Theodrenalin und den jeweiligen

Einzelsubstanzen. In abschließenden Experimenten wurde der Einfluss intra- und extrazellulärer Kalziumfreisetzung und dessen Mechanismen untersucht. Hierbei wurden nach Depletion koffeinsensitive Speicher, welche vor allem durch das endoplasmatische Retikulum repräsentiert werden, als primäre Kalzium-Quelle identifiziert. Die Kalzium-Freisetzung erfolgt hierbei durch Inositoltriphosphat-(IP<sub>3</sub>) Rezeptoren, da deren Inhibition keinen Effekt durch Cafedrin/Theodrenalin oder die beiden Einzelsubstanzen mehr auslösen konnte. Der sekundäre Kalziumstrom scheint hier ferner eine untergeordnete Rolle bei der Änderung der Partikeltransportgeschwindigkeit zu spielen, wie in Versuchen in kalziumfreiem Puffermedium nach Applikation von Cafedrin/Theodrenalin gezeigt werden konnte.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die klinische Anwendung von Cafedrin/Theodrenalin im Verhältnis 20:1 die murine Partikeltransportgeschwindigkeit als Surrogatparameter für die mukoziliäre Clearance erhöht. Cafedrin/Theodrenalin wirkt am respiratorischen Flimmerepithel primär über den  $\beta_1$ -Rezeptor-Signalweg und vermittelt letztlich eine Kalzium-Freisetzung aus koffeinsensitiven Speichern. Während der Versuche wurden zu den in vivo bekannten Plasmakonzentrationen nach einer Ampulle mit 2 ml 20:1 Cafedrin/Theodrenalin vergleichbare Dosen appliziert, wobei Cafedrin und Theodrenalin insgesamt synergistisch wirken zu schienen. Somit ist eine klinische Beeinflussung von Cafedrin/Theodrenalin an den zilientragenden Zellen möglich, reduziert deren Funktion jedoch offensichtlich nicht.

### **3.3.2. Dopamin, Noradrenalin und Vasopressin**

Nachdem eine potenzielle Beeinflussung der mukoziliären Clearance durch Cafedrin/Theodrenalin gezeigt werden konnte, wurden am selben Tiermodell die klinisch relevanten, perioperativ und in vasodilatatorischen Schockzuständen eingesetzten Vasopressoren Dopamin, Noradrenalin und Vasopressin untersucht. Hierzu wurden zunächst ebenfalls Experimente mit sukzessiv gesteigerten Konzentrationen von Dopamin, Noradrenalin und Vasopressin durchgeführt. Hieraus ließ sich erneut für jede der Substanzen eine individuelle Konzentration-Wirkungs-Kurve berechnen. Die medianen effektiven Konzentrationen für Dopamin, Noradrenalin und Vasopressin betragen 0,58  $\mu$ M, 1,21  $\mu$ M und 0,10  $\mu$ M. Diese Konzentrationen sorgten ebenfalls für einen signifikanten und langanhaltenden Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit, wenngleich der initiale Anstieg nach Dopamin und Vasopressin im Vergleich zu Noradrenalin deutlich flacher war. Auch das erreichte Plateau der Partikeltransportgeschwindigkeit war nach Noradrenalingabe (227 [199–235] %) höher als das Plateau nach Dopamin (179 [167–187] %) und Vasopressin (163 [146–177] %). In den folgenden Versuchen wurden jeweils die primären Zielrezeptoren der einzelnen Substanzen evaluiert. Die Blockade der  $\beta$ -Adrenorezeptoren konnte den Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit nach Noradrenalin-Gabe dosisabhängig

reduzieren. Auch der Anstieg nach Dopamin war unter  $\beta$ -Adrenorezeptor-Blockade dezent reduziert, letztlich aber erst durch die selektive Blockade von  $D_{1/5}$ -Rezeptoren vollständig unterdrückbar. Zur Evaluation des Mechanismus von Vasopressin wurden Vasopressin-Rezeptoren mit unterschiedlichen inhibitorischen Substanzen blockiert. Zunächst konnte die gemeinsame selektive Blockade von  $V_{1a}$ - und  $V_2$ -Rezeptoren den Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit komplett unterbinden. Ebenso war unter selektiver  $V_{1a}$ -Rezeptor-Blockade kein Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit mehr zu verzeichnen. Hierzu passend stieg die Partikeltransportgeschwindigkeit trotz  $V_{1b}$ -Rezeptor-Blockade signifikant an. Das Plateau war dabei mit dem Plateau unter Vasopressin ohne Rezeptorblockade vergleichbar. Um die Expression der unterschiedlichen Vasopressin-Rezeptoren am Trachealepithel zu evaluieren, wurde anschließend eine qualitative reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) durchgeführt. Hier konnte passend zu den vorherigen Ergebnissen lediglich die Expression des  $V_{1a}$ -Rezeptors bestätigt werden. Weitere Versuche evaluierten die Signaltransduktion im weiteren intrazellulären Verlauf und konnten für Vasopressin den klassischen  $V_{1a}$ -Rezeptor-Signalweg über die Phospholipase C mit letztlich  $IP_3$ -Rezeptor-vermittelter Kalzium-Freisetzung aus dem endoplasmatischen Retikulum nachzeichnen. Auch Dopamin bewirkte über den  $IP_3$ -Rezeptor-Signalweg eine Kalzium-Freisetzung, die passend für die  $D_{1/5}$ -Rezeptoren über die Proteinkinase A vermittelt waren. Ein deutlich breiteres Wirkprofil war für Noradrenalin naheliegend, da weder die Blockade der Phospholipase C noch der Proteinkinase A eine Reduktion des Anstiegs der Partikeltransportgeschwindigkeit bewirken konnte. Im Gegensatz zu den Experimenten mit Cafedrin/Theodrenalin war der Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit unter Ausschluss des extrazellulären Kalzium-Einflusses nach Gabe von Vasopressin und Noradrenalin deutlich reduziert, sodass hier ein relevanter extrazellulärer Einstrom naheliegend war.

Zusammenfassend konnte in der Analyse gezeigt werden, dass die drei untersuchten Vasopressoren Dopamin, Noradrenalin und Vasopressin jeweils dosisabhängig die Partikeltransportgeschwindigkeit erhöhen. Somit ist eine klinische Beeinflussung der mukoziliären Clearance bei Patienten, die diese Substanzen – teilweise zeitgleich – erhalten, denkbar. Alle drei Substanzen wirken dabei über spezifische, rezeptorvermittelte Signalwege, die letztlich über eine Kalzium-Freisetzung eine Änderung der Partikeltransportgeschwindigkeit vermitteln. Es fanden sich keine Hinweise auf eine Einschränkung der Clearance-Funktion, da in allen Experimenten die Partikeltransportgeschwindigkeit zielgerichtet und bei erhaltener Funktionalität erhöht wurde.

## **4. Diskussion**

Im Rahmen dieser Habilitationsschrift wurden sechs Originalpublikationen verfasst, die sich über das ganze perioperative Umfeld bei nicht-herzchirurgischer Operation erstrecken und nun im folgenden Abschnitt im Kontext diskutiert werden. Begonnen mit der präoperativen Detektion von Patienten mit erhöhtem postoperativem Morbiditätsrisiko anhand einer prospektiven Observationsstudie wurden folgend in zwei randomisierten Studien verschiedene Aspekte intraoperativer hämodynamischer Therapieregime evaluiert. Abschließend erfolgte, abgeleitet aus den Vorarbeiten, am Tiermodell die Evaluation verschiedener Pharmaka in Bezug auf deren möglicher Beeinflussung der mukoziliären Clearance der unteren Atemwege, woraus sich ebenfalls Implikationen für das perioperative Umfeld ableiten ließen. Somit lieferten alle aufgeführten Arbeiten Erkenntnisse für ein zukünftig zunehmend individualisiertes perioperatives Management von Patienten vor, während und nach nicht-herzchirurgischen Operationen, die im Folgenden diskutiert werden.

### **4.1. Präoperative Risikostratifizierung**

Die Erkennung von Patienten mit speziellem – überdurchschnittlichen – Risiko ist eine der wichtigsten Aufgaben der präoperativen anästhesiologischen Evaluation vor nicht-herzchirurgischen Operationen. Diese Detektion ist nicht nur notwendig, um eine adäquate Risikoauflärung des Patienten durchführen zu können, sondern auch um individuelle Therapiestrategien entwickeln und etwaige Bedarfe an präoperativer Diagnostik indizieren zu können. Daher wurde mit den ersten beiden Analysen dieser Habilitationsschrift das Ziel verfolgt, mittels Biomarker-Screening ein erhöhtes Risiko für postoperative Komplikationen zu detektieren. Hierzu sind, wie bereits in der Einführung dargelegt, in der Vergangenheit die kardialen Troponine und die natriuretischen Peptide in den Fokus geraten. Beide konnten in nicht-herzchirurgischen Kollektiven kritische Ereignisse – häufig als MACE definiert – prognostizieren und haben dementsprechend mit unterschiedlichen Empfehlungsgraden Einzug in aktuelle Leitlinien gefunden [2,7,26]. Dennoch stellte sich die Frage, ob auch das Risiko für – zunächst nicht fatale, aber sowohl kurz- als auch langfristig ebenso relevante – Ereignisse, die zur postoperativen Morbidität beitragen, mittels Biomarker stratifizierbar ist. Im Bewusstsein der Tatsache, dass Patienten mit Herzinsuffizienz im Vergleich zu Patienten mit chronischem Koronarsyndrom deutlich erhöhte Ereignisraten im postoperativen Verlauf aufweisen, fiel hier die Wahl auf den Biomarker NT-proBNP [27,75]. Im Kontext zur Patientenvorgeschichte sollte hier ferner evaluiert werden, ob die Prävalenz einer vorbestehenden Herzinsuffizienz möglicherweise höher ist, als sie sich aus den rein anamnestischen Informationen, die im Rahmen der präoperativen Evaluation erhoben werden, vermuten ließ. Dementsprechend wurde als primärer Endpunkt am 30. postoperativen Tag ein gemeinsamer Endpunkt aus ungeplanter Rehospitalisierung, akuter

Nierenschädigung, kardialer Dekompensation und jeglicher bakterieller Infektion gewählt. Während die Inzidenz kardialer Dekompensationen bei Patienten mit Herzinsuffizienz ganz offensichtlich zur langfristigen Morbidität und Mortalität beiträgt, sollte die Inzidenz jeglicher ungeplanter Rehospitalisierung eine unspezifisch erhöhte Morbidität im Risikokollektiv detektieren [76]. Die Assoziation zwischen postoperativer Nierenschädigung und sowohl kurzfristiger als auch langfristiger Morbidität und Mortalität ist ebenso gut belegt und ließ daher auch diese wichtige Komplikation in den gemeinsamen Endpunkt miteinfließen [77–79]. Zuletzt stellen auch infektiologische Komplikationen hochrelevante Ereignisse in der postoperativen Phase dar, die ebenfalls mit einem erhöhten Morbidität- und Mortalitätsrisiko assoziiert sind [80,81]. Im Rahmen der Observationsstudie konnte ein NT-proBNP >450 pg/ml als klinisch relevanter und geeigneter Grenzwert für die Risikostratifizierung hinsichtlich des gewählten primären Morbiditätsendpunkts identifiziert werden. Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml wiesen eine dramatisch erhöhte Inzidenz postoperativer Ereignisse im 30-Tagesverlauf auf. Wenngleich die Anzahl an ungeplanten Rehospitalisierungen im kurzen postoperativen Beobachtungszeitraum gering und zwischen den Patienten mit NT-proBNP ober- und unterhalb des Grenzwerts vergleichbar waren, bestanden bei den drei anderen Komponenten des gemeinsamen Endpunkts erhebliche Unterschiede. Im Rahmen der Analyse war es somit möglich, lediglich anhand einer singulären Biomarkermessung unabhängig von weiteren anamnestischen Informationen, Patienten über 65 Jahre vor nicht-herzchirurgischer Operation mit mittlerem oder hohem operativen Risiko hinsichtlich eines massiv erhöhten Komplikationsrisikos zu selektieren. Insbesondere im Kontext der Detektion einer möglicherweise vorbestehenden Herzinsuffizienz könnte eine zukünftige, routinemäßige Biomarkermessung attraktiv sein. In einer großen Analyse von Patienten nach nicht-herzchirurgischer Operation wurde eine Inzidenz kardialer Dekompensationen von 2,5% berichtet, wovon 51% erstmalig auftraten – somit bei diesen Patienten bis zu diesem Zeitpunkt keine Herzinsuffizienz bekannt war [32]. Ein Großteil dieser Patienten erlitt eine kardiale Dekompensation bei erhaltener linksventrikulärer Pumpfunktion und es blieb mangels Datenverfügbarkeit unklar, ob diese Patienten möglicherweise durch erhöhte natriuretische Peptide präoperativ erkannt und eine chronische Herzinsuffizienz bereits diagnostiziert hätte werden können. Die Ergebnisse der Observationsstudie dieser Habilitationsschrift zeichnen ein vergleichbares Bild. Auch wenn natriuretische Peptide in ihrer Höhe von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden können, stellen sie durchaus einen spezifischen Marker für das Vorliegen einer Herzinsuffizienz dar. Dennoch war nur bei weniger als ein Viertel der Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml eine Herzinsuffizienz anamnestisch vorbekannt. Gleichwohl konnten jedoch beim Vergleich der Patienten ober- bzw. unterhalb des NT-proBNP-Grenzwerts, bei denen eine präoperative Echokardiographie vorlag, signifikante Unterschiede detektiert werden. Passend zu der Arbeit von Gualandro et

al. ließen sich hier bei einer vergleichbaren linksventrikulären Ejektionsfraktion signifikant verschiedene linksatriale Volumenindizes, systolische Pulmonalarteriendrucke, E/e'-Verhältnisse und ein häufigeres Vorliegen einer höhergradigen Mitralklappeninsuffizienz feststellen [32]. Diese echokardiographischen Befunde weisen in Kombination mit den erhöhten natriuretischen Peptiden auf eine deutlich höhere Prävalenz einer HFpEF in der Kohorte mit NT-proBNP >450 pg/ml hin. Dementsprechend könnte die routinemäßige Messung des NT-proBNP in Risikokollektiven – wie den hier untersuchten Patienten über 65 Jahren vor einer Operation mit mindestens mittlerem operativem Risiko – das Potenzial zum Anstoßen einer systematischen Diagnostik bieten, die wiederum eine spezifische präoperative Therapieinitiierung bzw. -optimierung nach sich ziehen könnte. Dies erscheint auch insofern notwendig, als dass eine Mehrzahl der Ereignisse innerhalb der ersten drei postoperativen Tage auftrat, was ebenfalls als Ausdruck einer bereits präoperativ bestehenden suboptimal therapierten Herzerkrankung gewertet werden könnte. Einschränkend muss hierbei jedoch erwähnt werden, dass bis zu 23,2% der Patienten mit HFpEF normwertige natriuretische Peptide aufweisen [82]. Dementsprechend würden diese Patienten durch ein solches Screening nicht erkannt werden, obwohl sie ebenso einem grundsätzlich hohem Mortalitäts- und Morbiditätsrisiko unterliegen [83]. Dieses Phänomen wurde auch in der Observationsstudie beobachtet, wo ein kleiner Teil der Patienten mit bekannter Herzinsuffizienz niedrige Werte des NT-proBNP aufwies.

Die Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml hatten ferner eine signifikant erhöhte Rate an Infektionen im postoperativen Verlauf. Die erhöhte Inzidenz war insbesondere durch die erhöhte Rate an Pneumonien und vermutete, aber behandlungsbedürftige Infektionen ohne klar erkennbaren Fokus bedingt. Die erhöhte Rate an postoperativen Pneumonien in der Gruppe der Patienten mit erhöhtem NT-proBNP könnte durch eine bereits präoperativ vorliegende kardiopulmonale Stauung und dadurch eingeschränkter mukoziliärer Clearance begünstigt worden sein [84]. Nicht zuletzt deshalb wurde im Rahmen dieser Habilitationsschrift ein weiterer Schwerpunkt auf die Evaluation einer pharmakologischen Beeinflussung der mukoziliären Clearance durch perioperative Pharmaka gelegt (siehe *Abschnitt 4.3.*). Das Vorliegen einer Herzinsuffizienz stellt darüber hinaus auch für ambulant erworbene Pneumonien einen unabhängigen Risikofaktor dar [85]. Die generell erhöhte Inzidenz von postoperativen Infektionen in der Gruppe mit NT-proBNP >450 pg/ml kann ferner auf eine global eingeschränkte Mikrozirkulation mit konsekutiv erleichterter bakterieller Penetration mit nachfolgender Infektion hinweisen [86].

Die Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml wiesen auch eine erhöhte Rate an postoperativen akuten Nierenschädigungen auf. Hinsichtlich der Inzidenz und Schwere perioperativer Hypotensionen, dessen Auftreten bei Risiko-Patienten klar mit einer postoperativen akuten Nierenschädigung assoziiert ist, bestand jedoch zwischen den beiden Gruppen kein Unter-

schied [87]. Somit sind auch hier primär patientenbezogene Risikofaktoren naheliegend. Dementsprechend konnte das präoperative NT-proBNP-Screening auch Patienten mit erhöhtem Risiko für eine akute Nierenschädigung erkennen. Grundsätzlich ist die Assoziation zwischen einer Herzinsuffizienz und einer sich verschlechternden Nierenfunktion bzw. einem erhöhten Risiko für akute Nierenschädigungen auch im Rahmen von kardialen Dekompensationen in der Literatur gut belegt [88,89]. Hinzu kommt, dass die Patienten mit erhöhtem NT-proBNP, das rein pathophysiologisch betrachtet eine myokardiale Wandspannungserhöhung anzeigt und entsprechend die Natriuresis fördert, vergleichbare perioperative Flüssigkeitsbilanzen aufwiesen. Gleichzeitig benötigten die Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml jedoch signifikant höhere Dosen des Vasopressors Noradrenalin, um vergleichbare hämodynamische Ziele zu erreichen. In einer großen retrospektiven Analyse Gießener Patientendaten war nicht nur eine intraoperative Hypotension sondern auch die Gabe von Vasopressoren, unabhängig mit dem Auftreten postoperativer akuter Nierenschädigungen assoziiert [90]. Ferner bestand diese Assoziation insbesondere bei Risikopatienten mit höherer ASA-Klassifikation [90]. Dies unterstrich die Bedeutung adäquater hämodynamischer Therapiestrategien im perioperativen Umfeld, die auch im Rahmen dieser Habilitationsschrift weitergehend evaluiert wurden (siehe *Abschnitt 4.2.*).

Im Rahmen einer multivariablen Cox-Regressionsanalyse wurde der NT-proBNP-Grenzwert etablierten klinischen Charakteristiken gegenübergestellt, wobei der NT-proBNP-Grenzwert als einziger signifikanter Prädiktor für den postoperativen Morbiditätsendpunkt identifiziert wurde. Dementsprechend wurde im Rahmen dieser Observationsstudie das präoperative NT-proBNP als unabhängiger und objektiver Prädiktor identifiziert, der stärker als die Befunde der konventionellen anästhesiologischen Evaluation durch Anamnese und körperliche Untersuchung das postoperative Morbiditätsrisiko vorhersagen kann. Damit stellte sich die Frage, ob – und falls ja, wie – sich das präoperative NT-proBNP in vorhandene strukturierte Risiko-Scores einfügen könnte. Die meisten etablierten und einfachen Risiko-Scores sind ähnlich wie die bisherige Evaluation kardialer Biomarker auf die Detektion kritischer Ereignisse validiert [9–11]. Keiner von ihnen inkludiert derzeit das Ergebnis einer präoperativen Biomarkermessung. Dementsprechend schloss sich die Evaluation des zusätzlichen Wertes des NT-proBNP der Analyse, ob etablierte Risiko-Scores ebenfalls den gemeinsamen postoperativen Morbiditätsendpunkt prognostizieren könnten, an. Bezogen auf MACE und myokardiale Verletzungen nach nicht-herzchirurgischen Operationen konnten in wissenschaftlichen Analysen bereits inkrementelle Verbesserungen der Risikoprädiktion durch die Kombination aus RCRI und Biomarker gezeigt werden [19,91]. Zunächst ließ sich jedoch feststellen, dass von den drei untersuchten Risiko-Scores beträchtliche Variationen hinsichtlich der Prädiktion des postoperativen Morbiditätsendpunkts vorlagen. Dies betraf insbesondere den Risiko-Score von Andersson et al., der ursprünglich

für die Vorhersage des 30-Tage-Mortalitätsrisikos nach nicht-herzchirurgischer Operation bei Patienten mit bereits bekannter Herzinsuffizienz validiert wurde [92]. In dem im Rahmen dieser Habilitationsschrift untersuchtem Risikokollektiv – unabhängig von einer vorbestehenden Herzinsuffizienz – konnte dieser Score weder den gemeinsamen Endpunkt noch deren Einzelkomponenten, vorhersagen. Auch die Ergänzung des NT-proBNP konnte hier zu keiner Verbesserung beitragen. Dies war vermutlich vor allem dadurch bedingt, dass bei der Berechnung des Scores Alter und Body-Mass-Index ganz erheblich, nämlich siebenfach und vierfach, überrepräsentiert wurden. Grundsätzlich sind Alter und Body-Mass-Index in einem Gesamtkollektiv, wie es im Rahmen der Observationsstudie eingeschlossen wurde, offensichtlich nicht geeignet die anästhesiologische Evaluation allein relevant zu beeinflussen oder ein bestimmtes Risiko für Komplikationen abzuleiten. Während der RCRI nur einzelne Bestandteile des gemeinsamen Endpunkts prognostizieren konnte, war der AUB-HAS2 auch für den gemeinsamen Morbiditätsendpunkt prädiktiv. Der Endpunkt der ungeplanten Rehospitalisierung ließ sich weder durch das NT-proBNP noch die Scores suffizient vorhersagen. Dementsprechend bestätigte sich im Rahmen der Analyse der Befund einer grundsätzlich besseren Prädiktivität des AUB-HAS2, wie sie auch schon für andere nicht-herzchirurgische Subpopulationen, bezogen auf die Mortalität und die Inzidenz postoperativer Myokardinfarkte und Schlaganfälle, gezeigt werden konnte [13,93]. Somit erscheinen die Komponenten des AUB-HAS2 im Vergleich zum RCRI eine bessere Risikoprädiktion für eine Vielzahl an Ereignissen zuzulassen. Auffallend bei den Einzelkomponenten ist hier, dass beim AUB-HAS2 im Vergleich zu den Faktoren des RCRI klinische Kriterien, wie zum Beispiel Angina Pectoris-Beschwerden oder belastungsabhängige Luftnot, im Vordergrund stehen [10]. Diese Kriterien können auch während des Anamnesegespräch im Rahmen der präoperativen Evaluation abgefragt werden, wohingegen die Kriterien des RCRI, wie zum Beispiel das Vorliegen einer Herzinsuffizienz, koronaren oder zerebrovaskulären Erkrankung, bereits klinisch diagnostiziert sein müssen. Gleichzeitig ist mit einer präoperativen Anämie im AUB-HAS2 ein weiterer Faktor für postoperative Komplikationen inkludiert, der im RCRI überhaupt nicht repräsentiert, jedoch stark mit einer postoperativen akuten Nierenschädigung und weiteren unerwünschten Ereignissen assoziiert ist [94]. Somit besteht beim RCRI möglicherweise das größere Risiko, dass Risikopatienten mit möglicherweise ebendiesen Erkrankungen, die aber zum Zeitpunkt der anästhesiologischen Evaluation noch undiagnostiziert sind, nicht erkannt werden.

Zumindest numerisch konnte jedoch die Prädiktivität sowohl des RCRI als auch des AUB-HAS2 durch eine zusätzliche Berücksichtigung des NT-proBNP und nachfolgender Gewichtung der einzelnen Komponenten durch das NT-proBNP verbessert werden. Allerdings konnte einerseits keine bessere Prädiktion als durch NT-proBNP allein erreicht werden.

Andererseits wurden die bisherigen Einzelkomponenten der jeweiligen Scores in der Neuberechnung anhand der multivariablen logistischen Regressionsmodelle nur noch zu einem fast vernachlässigbaren Anteil berücksichtigt. So wurde beispielhaft bei der Neuberechnung des AUB-HAS2 das NT-proBNP >450 pg/ml stärker gewertet als alle anderen Faktoren zusammen. Dies schließt in der Zusammenschau klinisch praktikable Scores aus der Kombination „alter Score“ und „neuer Biomarker“ bereits in dieser explorativen Analyse aus, sodass derzeit die Kombination von Risiko-Score und Biomarker in einem gemeinsamen Risikovorhersagemodell lediglich wissenschaftlichen Analysen und Berechnungen vorbehalten bleibt. So konnte beispielhaft eine Metaanalyse von Rodseth et al. zeigen, dass eine „Neu-Klassifizierung“ des RCRI anhand eines NT-proBNP-Grenzwerts die Prädiktion kardiovaskulärer Ereignisse und Myokardinfarkte verbessern konnte [95]. Selbiges wurde auch für die Vorhersage von MACE durch die Kombination von präoperativem hs-TnT in Kombination mit dem RCRI festgestellt [20]. Insgesamt war den bisherigen Versuchen Biomarker und Risiko-Score zu kombinieren gemeinsam, dass hieraus eine im Rahmen der jeweiligen Analyse verbesserte Risikoprädiktion berechnet werden konnte [20,96]. Allerdings konnten die Biomarker bislang nicht zusammen mit einem bereits etablierten Risiko-Score in ein neues, „gemeinsames“ und vor allem im klinischen Alltag anwendbares Risiko-Modell überführt werden. Die wenigen verfügbaren Analysen beschränkten sich zudem primär auf den RCRI und ließen andere Risiko-Scores, wie zum Beispiel den möglicherweise überlegenen AUB-HAS2, außen vor.

Dementsprechend bleibt aus beiden Arbeiten, die im Rahmen dieser Observationsstudie erstellt wurden, die Erkenntnis, dass das Risiko für eine postoperative Morbidität mit einem klinisch praktikablen NT-proBNP-Grenzwert adäquat detektiert werden kann. Gleichzeitig können hier auch additiv Risiko-Scores zum Einsatz kommen, die jedoch nicht unmittelbar und „einfach“ mit dem NT-proBNP in einem bestehenden Modell kombiniert werden können. Hier bedarf es zukünftig weiterer Studien, um die Risikoprädiktion von Biomarker und Scores in einem klinisch anwendbaren Modell zu kombinieren. Da ein erhöhtes NT-proBNP und etablierte Risiko-Score-Komponenten darüber hinaus möglicherweise relevante Überschneidungen aufweisen, ist hier die Validierung grundsätzlich neuer Risiko-Scores, gegebenenfalls unter Zuhilfenahme von Machine Learning-Verfahren und im Rahmen großer Kohortenstudien, zukünftig angezeigt.

Gleichzeitig wurde abseits des vermehrten Einsatzes von Noradrenalin eine überraschend vergleichbare Flüssigkeitsbilanz zwischen den Patienten mit NT-proBNP ober- bzw. unterhalb des Grenzwerts von 450 pg/ml festgestellt, obwohl ein erhöhtes NT-proBNP bereits eine relative Volumenüberladung suggeriert und parallel dennoch die Inzidenz einer postoperativen akuten Nierenschädigung drastisch erhöht war. Für eine patientenindividualisierte Therapie erscheinen in diesem Kontext individualisierte hämo-

dynamische Therapiealgorithmen attraktiv, die mittels zweier randomisierter Studien im Rahmen dieser Habilitationsschrift evaluiert wurden.

#### **4.2. Individualisierte hämodynamische Therapie**

Bei der ersten randomisierten Studie dieser Habilitationsschrift wurde die hämodynamische Effektivität eines Flüssigkeitsbolus in Abhängigkeit von der Infusionsgeschwindigkeit und von der verwendeten Infusionslösung evaluiert. Hier konnte gezeigt werden, dass ein 250 ml Flüssigkeitsbolus, der innerhalb von fünf Minuten verabreicht wurde, einen größeren Effekt auf das SV und die Hämodynamik hatte als ein Bolus, der prolongiert über 20 Minuten appliziert wurde. Offenbar hat somit auch die Applikationsgeschwindigkeit eines Flüssigkeitsbolus im Rahmen der hämodynamischen Therapie einen relevanten Einfluss auf das (Wieder-)Erreichen eines hämodynamischen Ziels oder einer stabilen Hämodynamik. Dies ist auch von Relevanz, wenn verschiedene zielgerichtete hämodynamische Therapiealgorithmen miteinander verglichen werden sollen, da die vorgegebene Infusionsgeschwindigkeit hierbei einen bisher möglicherweise nicht ausreichend berücksichtigten Faktor darstellt. Nicht nur Menge, sondern auch die Infusionsgeschwindigkeit einzelner Flüssigkeitsboli variieren gehörig zwischen den in der Literatur beschriebenen einzelnen Therapiealgorithmen. Sie umfassen Bolusgaben von 100 bis 500 ml über fünf bis 15 Minuten, geben teilweise aber auch keine konkrete Applikationszeit vor [97–101]. Das Ziel eines Flüssigkeitsbolus ist das enddiastolische Volumen der Ventrikel insofern zu erhöhen, dass nach dem Frank-Starling-Mechanismus aus einer verbesserten Überlappung der kardialen Sarkomere ein erhöhtes kardiales SV resultiert [102]. Es war daher naheliegend, dass eine prolongierte Gabe des „klassischen“ 250 ml Flüssigkeitsbolus, wie er im Rahmen zielgerichteter hämodynamischer Therapiealgorithmen bei Erwachsenen zur Anwendung kommt, dieses Ziel nicht erreichen kann. Dies konnte prinzipiell im Rahmen dieser Studie bestätigt werden. Somit ist davon auszugehen, dass eine zu langsame Flüssigkeitsapplikation keine relevante hämodynamische Antwort gegen bereits unmittelbar während der Applikation einsetzende Umverteilungsphänomene in Interstitium und venöse Kapazitätsgefäße erreichen kann [103,104]. Hier erscheint aus hämodynamischen Gesichtspunkten insbesondere die Gabe von kristalloiden Infusionslösungen über 20 Minuten ungeeignet, da deren intravaskulärer Volumeneffekt generell nur unter 20% beträgt und dementsprechend auch in flüssigkeitsreagiblen und -bedürftigen Patienten bei langsamer Applikation nur geringe Effekte zu erwarten wären [105]. Demgegenüber stehen die potenziellen negativen Effekte eines überwiegend „hämodynamisch ineffektiven“ Volumens einer kristalloiden Infusion und einer hieraus folgenden kumulativ größeren applizierten Flüssigkeitsmenge, um dasselbe hämodynamische Ziel zu erreichen. Derzeit sind die Ergebnisse hinsichtlich dem Auslösen schwerer postoperativer

Komplikationen durch zu liberale oder zu restriktive intraoperative Flüssigkeitsgaben zwar uneindeutig [106]. Jedoch zeigte sich eine reduzierte Inzidenz akuter Nierenschädigungen bei liberaler Flüssigkeitstherapie, andererseits war diese auch mit insgesamt erhöhten Kosten durch längere Krankenhausverweildauern bei erhöhten postoperativen Ileus-Raten nach kolorektaler Chirurgie assoziiert [106,107]. Dennoch könnten die im Rahmen der ersten beiden Publikationen mittels NT-proBNP detektierten Risikopatienten von einer differenzierten und hämodynamisch effektiven, also zügigen Flüssigkeitsadministration je Flüssigkeitsbolus, profitieren. Hier wäre insbesondere innerhalb des herzinsuffizienzverdächtigen Kollektivs mit per se reduzierter Nierenfunktion sichergestellt, dass sich die Flüssigkeitstherapie stringent anhand der hämodynamischen Ziele orientiert und möglichst wenig „ineffektives“ Volumen zu einer potenziellen Flüssigkeitsüberladung und dem Eintreten weiterer postoperativen Komplikationen beiträgt.

Weitere Implikationen geben die Ergebnisse dieser Studie auch für hämodynamische Therapieregime, bei denen eine Flüssigkeitsreagibilität nicht anhand der dynamischen Vorlastparameter PPV oder SVV, sondern anhand des Anstiegs des SV auf einen initialen Flüssigkeitsbolus abgeschätzt wird. Dies stellt insbesondere bei Patienten mit Spontanatmung oder Vorhofflimmern ein etabliertes Vorgehen dar, weil hier die dynamischen Vorlastparameter grundsätzlich nicht verwertbar sind. Hier wird ein bestimmter Anstieg des SV, klassischerweise um 10%, als positives Zeichen für eine Flüssigkeitsreagibilität bewertet [98]. Dementsprechend sollte ein solcher initialer Flüssigkeitsbolus mit hoher Geschwindigkeit, zum Beispiel über 5 Minuten, appliziert werden, damit falsch-negative Ergebnisse vermieden werden. Erwähnenswert erscheint auch, dass externe Einflussfaktoren, wie zum Beispiel operative Schritte, ebenso die Hämodynamik und die scheinbare Effektivität eines solchen Flüssigkeitsbolus modulieren und durch kürzere Applikationszeiträume reduziert werden können.

Da im Rahmen der Studie nur die unmittelbare hämodynamische Antwort nach Ende der jeweiligen Flüssigkeitsgabe evaluiert wurde, erschien eine schnelle Applikation von kristalloiden und kolloiden Infusionslösungen zunächst vergleichbar effektiv hinsichtlich der initialen hämodynamischen Antwort. Dies erhebt jedoch nicht den Anspruch längerfristige Unterschiede und mögliche unerwünschte Effekte dieser beiden Typen an Infusionslösungen in Frage zu stellen. Die bekannte größere hämodynamische Effektivität kolloidaler Infusionen wurde auch im Rahmen der Studie dieser Habilitationsschrift durch den im Vergleich zur 5 Minuten-Gruppe häufiger zunehmenden Noradrenalin-Bedarf in der 20 Minuten-Gruppe dokumentiert [108]. Diese Beobachtung wurde ausschließlich durch die Interventionen mit kolloidaler Infusionslösung innerhalb der 5 Minuten-Gruppe bedingt, wohingegen die Änderung des Noradrenalin-Bedarfs vergleichbar war, wenn nur kristalloide Infusionen analysiert wurden.

Generell können gemäß der aktuellen S3-Leitlinie Intravasale Volumentherapie beim Erwachsenen zur Therapie einer periinterventionellen Hypovolämie neben kristalloiden auch kolloidale Infusionslösungen zum Einsatz kommen [109]. Dies ist insofern begründet, dass kolloidale Infusionen in Abhängigkeit des verwendeten Präparats zwar grundsätzlich unerwünschte Effekte, wie anaphylaktische Reaktionen, eine Dilutionskoagulopathie oder Endothelschäden, verursachen können, derzeit aber keine Evidenz hinsichtlich einer Verschlechterung des Outcomes operativer Patienten vorliegt [110–112]. Zudem besteht hier innerhalb der verfügbaren Studien und systematischen Metaanalysen eine große Heterogenität hinsichtlich der verwendeten Präparaten sowie der jeweiligen Indikationsstellung für eine Kolloidgabe, insbesondere auch in Abhängigkeit von der Verfügbarkeit und Berücksichtigung erweiterter hämodynamischer Parameter [113–115]. Dementsprechend setzen aktuelle hämodynamische Therapiealgorithmen aus obigen pathophysiologischen Erwägungen auf den Einsatz von kolloidalen Infusionen zum Ausgleich eines intraoperativen Volumendefizits, das über den kalkulierten Basisbedarf des Patienten hinausgeht [98]. Dies war auch bei der in dieser Arbeit inkludierten multizentrischen iPEGASUS-Studie der Fall.

Im Rahmen der iPEGASUS-Studie wurde überprüft, ob eine perioperative Optimierung nach CI, gemessen nach Narkoseinduktion, postoperative Komplikationen reduzieren könnte [100]. Leider scheint dies nach den Ergebnissen nicht der Fall zu sein. Das Risiko für das Erreichen des primären Studienendpunkts war durch den hämodynamischen Therapiealgorithmus sogar höher. Gleichzeitig ließ sich jedoch im längerfristigen 6-Monate-Follow Up ein Trend zu einer reduzierten Mortalität bei Anwendung des hämodynamischen Therapiealgorithmus in der Interventionsgruppe beobachten. Dies liefert im Einklang zu den teils ebenfalls widersprüchlichen Ergebnissen in der vorhandenen Literatur weitere Hinweise, dass eine zielgerichtete hämodynamische Therapie im perioperativen Umfeld möglicherweise für gewisse – noch zu identifizierende - Patientengruppen bezogen auf gewisse unerwünschte Ereignisse durchaus von Vorteil sein könnte [49,116–118]. Allerdings war der in der iPEGASUS-Studie überprüfte Therapiealgorithmus offensichtlich nicht geeignet den breit definierten primären Endpunkt im untersuchten Kollektiv positiv zu beeinflussen, sodass eine kritische Diskussion des genutzten Algorithmus notwendig erscheint.

Die Annahme, dass der CI nach Narkoseinduktion optimal ist, fußte auf dem physiologischen Grundsatz, dass das HZV grundsätzlich je nach metabolischem Bedarf reguliert wird und daher mitunter deutlichen Schwankungen unterliegt [119,120]. Einerseits ist im Rahmen einer Allgemeinanästhesie der Energiebedarf um circa 25% im Vergleich zum Wachzustand reduziert, andererseits wurde der optimale CI für die iPEGAUS-Studie im Zustand fehlender Volumenreagibilität festgelegt [120]. Die initiale Volumenreagibilität wurde im Rahmen des Therapiealgorithmus mittels PPV abgeschätzt, das nur unter kontrollierter Beatmung ver-

wertbar ist. Limitierend präsentieren sich Patienten nach Narkoseinduktion hier jedoch häufig in einer relativen Hypovolämie, die durch eine narkoseinduzierte Vasodilatation bedingt ist [36,121]. Zusammen mit einer ebenfalls narkoseinduzierten myokardialen Depression erscheint der CI nach Narkoseinduktion häufig niedrig bei gleichzeitig hohen dynamischen Vorlastparametern, wodurch im Rahmen der iPEGAUS-Studie häufig bereits eine erste Flüssigkeitsgabe indiziert war. Der CI unmittelbar vor Narkoseinduktion würde jedoch den „optimalen“ CI ebenfalls nur eingeschränkt widerspiegeln, da er per Definition unter Wachheit erhoben wird. Somit ist der zu diesem Zeitpunkt gemessene CI einerseits höher als während der Allgemeinanästhesie, unterliegt andererseits aber möglicherweise auch starken externen Faktoren, wie zum Beispiel einer sympathikotonen Reaktion bei aufgeregten Patienten unmittelbar vor Narkosebeginn. So ist beispielhaft eine Blutdruckmessung vor Narkoseeinleitung keineswegs geeignet, um auf das Blutdrucktagesprofil eines Patienten Rückschlüsse ziehen zu können [122]. Allerdings war ein hämodynamischer Therapiealgorithmus mit dem Ziel des Erhalt des CI vor Narkoseeinleitung für die perioperative Phase in einer randomisierten, monozentrischen Studie mit reduzierten Raten postoperativer Komplikationen nach 30 Tagen assoziiert [123]. Die Annahme altersspezifischer CI-Werte führte jedoch in einer anderen randomisierten Multicenter-Studie zu keiner Reduktion postoperativer Komplikationen nach Abdominalchirurgie [124]. Welcher individuelle Zielwert möglicherweise besser geeignet ist, bedarf noch weiterer Forschung. Hier werden derzeit verschiedene Ansätze verfolgt, zum Beispiel die Ermittlung des individuellen mittleren Blutdrucks im Rahmen einer nächtlichen Langzeit-Blutdruck-Messung oder eine deutlich vorgelagerte, teils nicht-invasive, Bestimmung der erweiterten hämodynamischen Parameter, um möglichst unbeeinflusste Ruhe-Werte zu erhalten (vgl. Deutsches Register Klinische Studien DRKS00030710) [125]. Es lässt sich jedoch feststellen, dass eine routinemäßige Optimierung des SV im Sinne einer Maximierung durch initiale Flüssigkeitsgaben oder Inotropika derzeit nicht empfohlen werden kann [41]. Dies wurde zuletzt auch im Rahmen der Ergebnisse der OPTIMISE II-Studie deutlich, für die auch Patienten am Universitätsklinikum Gießen rekrutiert wurden. Hier erfolgte nach initialer Maximierung des SV durch repetitive Flüssigkeitsgaben stets die intraoperative Verabreichung niedrig-dosierten Dobutamins [126]. Der primäre Studienendpunkt war die Inzidenz einer Infektion nach 30 postoperativen Tagen. Sie konnte bei den 1251 Patienten in der Interventionsgruppe verglichen mit den 1247 Patienten in der Kontrollgruppe nicht reduziert werden. Jedoch traten kardiale Komplikationen, insbesondere Arrhythmien, innerhalb der ersten 24 Stunden in der Interventionsgruppe signifikant häufiger auf [127]. Dies war hier höchstwahrscheinlich auf die liberale, routinemäßige Gabe von Dobutamin zurückzuführen. Auch in der iPEGAUS-Studie war die Gabe von Dobutamin integraler Bestandteil, welches 43% der Patienten in der Interventionsgruppe im Rahmen der

perioperativen Therapie erhielten. Die Gabe von Dobutamin stellte innerhalb der messbaren Parameter der hämodynamischen Therapie den Hauptunterschied zwischen Kontroll- und Interventionsgruppe dar, sodass die Ergebnisse möglicherweise durch die retrospektiv wohl zu liberale Indikation für Dobutamin mitbedingt waren. Dennoch ist es derzeit unklar, ob die liberale Gabe von Dobutamin im Rahmen einer zielgerichteten Therapie zur CI-Maximierung direkten Einfluss auf das perioperative Outcome hat. Ein weiterer – im Rahmen von iPEGAUS und OPTIMIZE II unberücksichtigter – Faktor der hämodynamischen Therapie könnte die individualisierte und zielgerichtete Therapie intraoperativer Hypotensionen sein. Während die bisherigen Therapiealgorithmen einen rigiden CI als Ziel vorsahen und flankierend ein Volumendefizit mit Flüssigkeitsgaben und Hypotonien mit Vasopressoren adressierten, unterstrichen zwei kürzlich publizierte Analysen die Relevanz unterschiedlicher pathophysiologischer Endotypen perioperativer Hypotensionen [36,128]. So konnte durch den Einsatz von Machine-Learning-Verfahren aus großen Datensätzen mit hämodynamischen Parametern, die im Rahmen verschiedener mono- und multizentrischen Studien erhoben wurden, neben einer myokardialer Depression, einer Vasodilatation und einer Hypovolämie auch eine Bradykardie als „neue“ hochrelevante Hypotonie-Entität definiert werden, der bislang in keinem zielgerichteten Therapiealgorithmus unmittelbare Aufmerksamkeit und Therapie zuteilwurde. Die mittlere Herzfrequenz bei Patienten mit Hypotonie des Endotyps „Bradykardie“ betrug zwischen 52 und 58 Schläge/Minute, was im klinischen Alltag bislang meistens nicht ursächlich für eine Hypotonie gewertet wurde. So könnte die Therapie mit Vasopressoren in einem solchen Fall zwar die numerischen Blutdruckwerte normalisiert haben, aber durch die ihrerseits möglicherweise bedingten Nebeneffekte ebenso zu einem suboptimalen Outcome beigetragen haben [90]. Die jeweiligen Entitäten einer Hypotonie sind allerdings nur mittels erweiterter hämodynamischer Monitorings sicher detektierbar, sodass diesem hier in weiteren Studien zukünftig erneut eine große Bedeutung zukommen wird. Somit werden neue hämodynamische Therapiealgorithmen, die nicht nur die zielgerichtete Therapie der jeweiligen individuellen Hypotonie-Entitäten erlaubt, sondern auch bessere, individualisierte – nach heutigem Stand noch zu identifizierende - Zielwerte für das individuelle HZV berücksichtigt, entwickelt werden müssen.

#### **4.3. Auswirkung perioperativ relevanter Pharmaka auf die mukoziliäre Clearance**

Die Notwendigkeit eingesetzter Pharmaka im Rahmen dieser Habilitationsschrift hinsichtlich ihrer Wirkung auf die mukoziliäre Clearance zu evaluieren, ergab sich aus der Relevanz postoperativer pulmonaler Komplikationen und den komplexen Regulationsmechanismen des Ziliarapparats, die eine Beeinflussung durch gängige Pharmaka möglich erscheinen ließ. Insbesondere in der Anästhesiologie und Intensivmedizin werden viele Pharmaka

unabhängig von einer auch möglichen inhalativen Anwendung vor allem (zentral-)intravenös appliziert, mit – zumindest regional - entsprechend hohen möglichen Konzentration während der initialen pulmonalen Zirkulation. Diesem Bedarf gegenüber steht die Schwierigkeit die mukoziliäre Clearance in der klinischen Praxis zu messen. Insbesondere beim intubierten und beatmeten Patienten während einer Operation oder auf der Intensivstation scheiden nicht nur die meisten klinischen Modelle, zum Beispiel durch Applikation von Zuckerlösung in die Atemwege mit nachfolgender Messung der Zeit bis zum Nachweis eines süßen Geschmacks, aus [71]. Auch der Einsatz szintigraphischer Messverfahren nach Inhalation von radionuklidmarkierten Partikeln ist nicht zuletzt aufgrund einer zusätzlichen Strahlenbelastung generell, aber insbesondere im perioperativen Umfeld nur sehr schwer realisierbar [129]. Daher bleiben zur pragmatischen Evaluation der mukoziliären Clearance verschiedene in vitro-Ansätze verfügbar, deren Vorteil neben der einfachen Umsetzung auch standardisierte Bedingungen bei wiederholten Experimenten darstellen. Ferner können in diesen experimentellen Ansätzen auch dezidierte Untersuchungen hinsichtlich zugrundeliegender Signaltransduktionskaskaden durch den Einsatz spezifischer inhibitorischer Substanzen durchgeführt werden. Neben Modellen, die mittels Fluoreszenz den Kalzium-Stoffwechsel an isolierten Trachealepithelzellen evaluieren können, bieten Organpräparationen den Vorteil einer zumindest indirekten Visualisierung der Zilienfunktion durch Messung der Zilienschlagfrequenz bzw. der Partikeltransportgeschwindigkeit unter erhaltener Organstruktur [72,130]. Daher wurde für die Evaluation des Einflusses der perioperativ und intensivmedizinisch häufig eingesetzten blutdrucksteigernden Pharmaka Cafedrin/Theodrenalin, Dopamin, Noradrenalin und Vasopressin auf die mukoziliäre Clearance im Rahmen dieser Habilitationsschrift ein am Labor für experimentelle Anästhesie des Universitätsklinikums Gießen seit vielen Jahren etabliertes Mausmodell zur Messung der Partikeltransportgeschwindigkeit genutzt [131–133].

Hier wurde zunächst der Einfluss von Cafedrin/Theodrenalin in der klinisch verfügbaren 20:1 Komposition (Akrinor®) sowie die Wirkung der jeweiligen Einzelsubstanzen evaluiert. Dies war insbesondere von klinischem Interesse, da Akrinor® bereits in den 1960er Jahren eingeführt und zugelassen wurde [134]. Mittlerweile wird Akrinor® nahezu ausschließlich in Deutschland – dafür aber ubiquitär im perioperativen Umfeld – eingesetzt [135]. Im Jahre 2005 gefährdete die Anforderung von weitreichenden Nachzulassungsuntersuchungen, die sowohl chemisch-pharmazeutische Aspekte, als auch die Präklinik und die Klinik umfassten, die Weiterproduktion von Akrinor® [134]. Bis heute sind viele pharmakodynamische und pharmakokinetische Eigenschaften des Medikaments unklar [136]. Bis zur Durchführung der experimentellen Serie an der Trachea der Maus wurde ein möglicher Einfluss auf die mukoziliäre Clearance weder erwogen noch untersucht.

Im Rahmen der durchgeführten Experimente konnte ein spezifischer Einfluss beider Substanzen auf die murine Partikeltransportgeschwindigkeit des Trachealepithels nachgewiesen werden. Die wenigen verfügbaren pharmakodynamischen Daten hinsichtlich der Applikation von Akrinor® berichten eine Plasmakonzentration von 6 µg/ml nach intravenöser Applikation einer 2 ml-Ampulle, womit bei einer kalkulierten medianen effektiven Konzentration von Akrinor® von 3,6 µg/ml am Mausmodell eine klinische Wirkung in vivo naheliegend ist [137]. Ferner sind nach zentralvenöser Applikation im Rahmen der ersten Passage durch das pulmonal-vaskuläre Gefäßbett regional – zumindest transient - deutlich höhere Konzentrationen denkbar. Darüber hinaus ist das Zusammenspiel von Cafedrin und Theodrenalin in der klinischen Mixtur insgesamt von Interesse und nur spärlich untersucht [135]. Während Theodrenalin die unmittelbare blutdrucksteigernde Wirkung zugeschrieben wird, ist dem Cafedrin eine erst nach 20 Minuten einsetzende Wirkung attribuiert worden [137,138]. Im Zusammenspiel beider Substanzen bedingen sie ihre blutdrucksteigernde Wirkung primär durch eine Steigerung der Inotropie bei gleichbleibendem Gefäßwiderstand, wobei für letzteres ebenso primär das Cafedrin verantwortlich gemacht wird [132]. Die berechneten Dosiswirkungskurven für Cafedrin, Theodrenalin und Akrinor® im Rahmen der für diese Habilitationsschrift durchgeführten Experimente implizierten hier eine hochgradig synergistische Wirkung beider Substanzen, wobei anhand der beobachteten Dynamik auch hier die initiale Wirkung von Theodrenalin im Vordergrund stand.

Am respiratorischen Epithel wurde die Steigerung der Partikeltransportgeschwindigkeit in den weiteren Experimenten mit inhibitorischen Substanzen ausschließlich einer  $\beta_1$ -adrenergen Rezeptoraktivierung zugeschrieben. Obwohl sowohl Cafedrin als auch Theodrenalin eine Kombination aus Norephedrin bzw. Noradrenalin mit Theophyllin sind, konnte somit keine spezifische, dem Theophyllin zuschreibbare, Wirkung detektiert werden. Diese Befunde decken sich mit den Ergebnissen anderer Experimente an isoliertem humanem Myokard und Koronararterien, wo ebenfalls keine theophyllinassoziierten Effekte nachweisbar waren [138,139]. Allerdings konnten an den Arterien unter  $\beta$ -Rezeptor-Inhibition durchaus Effekte an  $\alpha$ -Rezeptoren nachgewiesen werden, die ausschließlich durch Theodrenalin bedingt waren [138,139]. In den Experimenten am respiratorischen Epithel konnte jedoch kein Effekt, der sich  $\alpha$ -Rezeptoren zuschreiben ließ, detektiert werden. Dies ist hier jedoch eher der Regulation der Zilienaktivität zuzuschreiben, bei der  $\alpha$ -Rezeptoren keine relevante Rolle zu spielen scheinen [68]. Somit waren nach der Applikation von Cafedrin/Theodrenalin am respiratorischen Epithel ausschließlich  $\beta$ -adrenerge Effekte zu detektieren.

Diese Experimente gaben Grund zur Annahme, dass auch weitere – vor allem auch intensivmedizinisch relevante – Pharmaka einen Einfluss auf die mukoziliäre Clearance haben könnten. Daher wurde eine folgende experimentelle Serie mit Dopamin als adrenerge

Vorläufersubstanz, die heute in Deutschland kaum noch zur Blutdrucksteigerung zum Einsatz kommt, zusammen mit Noradrenalin als Erstlinien- und Vasopressin als Zweitlinien-Vasopressor durchgeführt [133].

Auch hier konnten für jede der drei Substanzen spezifische Effekte, die ebenfalls einer klaren Dosis-Wirkungs-Beziehung unterlagen, nachgewiesen werden. Für Dopamin konnte hier der Rezeptorsignalweg der D<sub>1</sub>-artigen Rezeptoren nachgezeichnet werden, die als G-Protein-gekoppelte Rezeptoren die Bildung von cAMP induzieren, wodurch eine Aktivierung der Proteinkinase A vermittelt wird [140]. Hier zeigten sich sodann IP<sub>3</sub>-Rezeptoren verantwortlich für eine finale Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung, welche grundsätzlich sowohl über cAMP- als auch Proteinkinase A-abhängige Signalwege geöffnet werden können [141]. In der getesteten Dopamin-Konzentration war lediglich ein geringer Einfluss der β-Rezeptoren auf die Partikeltransportgeschwindigkeit feststellbar. Allerdings zeigt Dopamin in vivo stark dosis-abhängige Effekte, die sich von einer Aktivierung von Dopamin-Rezeptoren in niedriger Konzentration über eine zusätzliche β-Rezeptoraktivierung bis hin zu einer α-Rezeptorwirkung in hoher Konzentration erstrecken [142,143]. Somit könnte bei lokal höheren Konzentrationen das Wirkprofil von Dopamin entsprechend anders ausgeprägt sein. Insgesamt war festzustellen, dass Noradrenalin im Vergleich zu Dopamin und Vasopressin ähnlich wie Cafedrin/Theodrenalin einen steileren Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit bewirkte. Für Noradrenalin konnte hier ebenfalls eine isolierte Wirkung über β-Rezeptoren gezeigt werden. Interessanterweise war bei Noradrenalin im Gegensatz zu Cafedrin/Theodrenalin der Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit unabhängig von einer IP<sub>3</sub>-Rezeptoraktivierung, was ein im Vergleich zu Cafedrin/Theodrenalin anderes Wirkprofil an den β-Rezeptoren nahelegte. Dieser beobachtete Effekt ließe sich durch das Konzept des „biased Agonism“ erklären, welcher für Adrenorezeptoren in der Literatur gut belegt ist [144]. „Biased agonism“ bedeutet, dass verschiedene Liganden, die am selben Rezeptor binden, unterschiedliche intrazelluläre Signalwege präferierend aktivieren können [144]. Bei Noradrenalin war der Anstieg der Partikeltransportgeschwindigkeit weder durch eine Blockade der Phospholipase C noch der Proteinkinase A reduzierbar, sodass Noradrenalin an den β-Rezeptoren offensichtlich robustere Effekte über mehrere bzw. kombinierte intrazelluläre Signaltransduktionskaskaden induzieren kann. Grundsätzlich ist eine β-rezeptorvermittelte Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung aus dem endoplasmatischen Retikulum in nicht-erregbaren Zellen bzw. dem sarkoplasmatischen Retikulum in Kardiomyozyten über Ryanodin-Rezeptoren bekannt [145,146]. In einer weiteren experimentellen Reihe konnte mittels RT-PCR am in dieser Habilitationsschrift genutzten Mausmodell die Expression von Ryanodin 2 und 3-Rezeptoren in der murinen Trachea und am Trachealepithel nachgewiesen werden [147]. Die direkte Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung durch allosterische Modulation am Kardiomyozyten war bislang jedoch allein dem Ryanodin 1-Rezeptor zugeschrieben [148].

Auch wenn nach Vasopressin-Applikation eine Aktivierung des  $V_{1a}$ -Rezeptors und dessen Vorhandensein am Trachealepithel nachgewiesen werden konnte, kommt dem Vasopressin-Signalweg nicht nur zur Modulation der Zilienschlagfrequenz am respiratorischen Epithel eine große Bedeutung zu. So konnte bereits gezeigt werden, dass Vasopressin eine wichtige Rolle bei der Chlorid-Sekretion im respiratorischen Epithel einnimmt [149]. Dementsprechend scheint Vasopressin nicht nur bei der Schleimformation modulierend zu wirken, sondern kann auch direkt den auswärts gerichteten Transport beschleunigen. Auch für die Vasopressin-vermittelte Schleimformation wurde der  $V_1$ -Rezeptor als Signalweg identifiziert [149]. Nicht unerwähnt bleiben darf jedoch, dass zwischen unterschiedlichen tierexperimentellen Ansätzen die Involvierung verschiedener Vasopressin-Rezeptorsubtypen beschrieben wurden. Dies reflektiert möglicherweise Unterschiede zwischen den verschiedenen Säugern und könnte damit die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen einschränken. Beispielhaft wurde am Hasenmodell bei der Messung der ziliaren Schlagfrequenz mittels inhibitorischer Substanzen auch eine Bedeutung der  $V_{1b}$ -Rezeptoren impliziert, die am hier genutzten Mausmodell lediglich auf den  $V_{1a}$ -Rezeptor beschränkt war [150]. Ferner ist in humanen bronchialen Zelllinien neben dem  $V_{1a}$ - auch der  $V_{1b}$ -Rezeptor exprimiert, der am hier eingesetzten Mausmodell nicht gefunden wurde [149].

In allen Experimenten, sowohl mit Cafedrin/Theodrenalin als auch mit den Vasopressoren, ist eine  $Ca^{2+}$ -Freisetzung aus koffeinsensitiven Speichern, die zuallererst das endoplasmatische Retikulum umfassen, als absolut notwendiger Schritt für eine Änderung der Partikeltransportgeschwindigkeit identifiziert worden. Grundsätzlich ist die hochrelevante Stellung des  $Ca^{2+}$  bei der Regulation der Partikeltransportgeschwindigkeit gut bekannt, dennoch wiesen die Substanzen teilweise unterschiedliche Freisetzungsprofile über  $IP_3$ - oder Ryanodin-Rezeptoren auf. Diese Rezeptoren unterliegen ihrerseits einer komplexen Regulation durch direkte ligandenvermittelte Aktivierung. Allerdings können auch eine allosterische Modulation sowie gegenseitige Aktivierungen eine  $Ca^{2+}$ -Freisetzung mit Erhöhung der Partikeltransportgeschwindigkeit auslösen [148,151]. Hinsichtlich des Einflusses eines extrazellulären  $Ca^{2+}$ -Einstroms wurden Experimente in  $Ca^{2+}$ -freiem Puffermedium durchgeführt, die einen extrazellulären  $Ca^{2+}$ -Einstrom weitestgehend ausschließen sollten. Hier wurden unterschiedlich starke Effekte bei der Testung der einzelnen Substanzen festgestellt, wengleich die Amplitudenreduktion der Partikeltransportgeschwindigkeit häufig gering ausfiel. Allerdings ließ eine deutliche Amplitudenreduktion bei einzelnen Substanzen, wie dem Vasopressin, durchaus auch eine klinische Relevanz möglich erscheinen. Ein extrazellulärer  $Ca^{2+}$ -Einstrom wird auch als store-operated calcium entry (SOCE) bezeichnet [152]. SOCE zeichnet sich durch einen sekundären  $Ca^{2+}$ -Einstrom nach intrazellulärer  $Ca^{2+}$ -Freisetzung aus, die durch ORAI-Kanäle vermittelt wird. Die ORAI werden durch stromal interacting molecules im Transmembran-

Bereich des endoplasmatischen Retikulums bei reduzierter  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration im endoplasmatischen Retikulum aktiviert [153]. Zur Evaluation der Bedeutung des SOCE am respiratorischen Flimmerepithel sind zukünftig noch weitere Untersuchungen notwendig, um hier die einzelnen Signaltransduktionskaskaden und deren komplexes Zusammenspiel aufzudecken. Hierfür ist eine spezifische Inhibition einzelner Bestandteile des SOCE notwendig, was sich durch komplexe Interaktionen einer Vielzahl an Transmembranmolekülen keineswegs trivial gestaltet [153]. Daher lag der Fokus bei den hier durchgeführten experimentellen Reihen zunächst auf der groben Exploration des extrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstroms, dessen Ergebnisse hypothesengenerierenden Charakter aufwiesen.

#### **4.4. Limitationen**

Zusätzlich zu den Faktoren, die bereits in obiger Diskussion eingeflossen sind, bestehen wichtige Limitationen der vorgestellten Originalarbeiten, die in diesem Abschnitt zusammenfassend dargestellt werden.

Bei der monozentrischen Observationsstudie, die in den ersten zwei Originalarbeiten dieser Habilitationsschrift resultierte, wurde nur eine limitierte Patientenkohorte mit 200 Patienten rekrutiert, die rein anhand der klinischen Routinedokumentation und mittels Telefon-Follow Up nachverfolgt wurden. Möglicherweise wurden manche Patienten mit Risiko für eine erhöhte postoperative Morbidität bereits primär nicht berücksichtigt, weil sich die zugrunde liegende Beurteilung des operativen Risikos lediglich auf das Risiko für Tod, Myokardinfarkt und Schlaganfall bezog. Dementsprechend bedarf der berechnete NT-proBNP-Grenzwert von 450 pg/ml in weiteren größeren und unabhängigen Kollektiven multizentrischer Validierung. Dadurch, dass keine Intervention vorgegeben war, entfielen auch alle postoperativen Laborkontrollen auf die klinische Routine. Hierdurch könnte es möglicherweise zu einer Unterschätzung einzelner klinischer Ereignisse gekommen sein. Da jedoch alle Behandler generell unwissend hinsichtlich des Studieneinschlusses waren, sollten Faktoren, die den Vergleich zwischen den Patienten mit NT-proBNP ober- oder unterhalb des Grenzwerts einschränken, nicht in relevanter Anzahl aufgetreten sein. Der Endpunkt einer kardialen Dekompensation war aufgrund des observativen Charakters rein klinisch definiert, ohne eine dezidierte echokardiographische Aufarbeitung oder kardiologische Diagnostik zu fordern. Dementsprechend kann auch die reale Prävalenz und Selektion von Patienten mit Herzinsuffizienz durch das NT-proBNP im untersuchten Kollektiv derzeit nur vermutet werden, da auch hier die systematische kardiale Diagnostik nur in Einzelfällen aus klinischer Indikation heraus indiziert wurde. Der Vergleich etablierter Risiko-Scores mit dem NT-proBNP-Grenzwert darf aufgrund der limitierten Patientenzahl und der fehlenden externen Validierung lediglich explorativ und hypothesengenerierend verstanden werden. Insbesondere bei der Berechnung des AUB-HAS2 waren zwei Kriterien aufgrund

des primären Ausschlusses von Notfallpatienten und gefäßchirurgischen Patienten in der Observationsstudie vorab bereits grundsätzlich nicht erfüllbar.

Auch in der monozentrischen, randomisierten Studie, die die hämodynamische Antwort in Abhängigkeit von der Infusionsgeschwindigkeit untersuchte, stellt die niedrige Patientenzahl die wichtigste Limitation dar. Diese wurde durch einen relevanten Anteil von Patienten, die aufgrund fehlender Indikation nie eines Flüssigkeitsbolus bedurften, verschärft. So verfehlten möglicherweise manche heterogen verteilte sekundäre Endpunkte – wie zum Beispiel die Schwere der intraoperativen Hypotensionen – trotz großer numerischer Unterschiede die statistische Signifikanz. Die Operation in Bauchlage könnte zudem den venösen Rückstrom durch einen erhöhten intrathorakalen Druck eingeschränkt und somit die dynamischen Vorlastparameter beeinflusst haben. Im Rahmen der iPEGASUS-Studie war aufgrund der COVID-19-Pandemie eine lange, sechsjährige Rekrutierungszeit in fünf Zentren notwendig, um die geplanten Patientenzahlen zu erreichen. Ferner waren die Outcome-Erhebenden nicht hinsichtlich Gruppenallokation verblindet, wengleich dem durch ein engmaschiges Studienmonitoring mit Primärdatenvalidierung entgegen gearbeitet wurde. Innerhalb der Kontrollgruppe der iPEGASUS-Studie wurde kein erweitertes hämodynamisches Monitoring eingesetzt, auch nicht verblindet. Dementsprechend kann keine Aussage über die jeweiligen „optimalen“ CI der Patienten in der Kontrollgruppe im Vergleich zur Interventionsgruppe getroffen werden. In den beiden Hämodynamik-Studien kamen ferner lediglich intern kalibrierte, minimal-invasive Messverfahren des kardialen SV zum Einsatz, sodass gewisse Messungenauigkeiten im Vergleich zu den deutlich invasiveren transpulmonalen Thermodilutionsverfahren bestehen könnten.

Die vorrangige Limitation der beiden tierexperimentellen Versuchsreihen besteht aufgrund des gewählten Modells sicherlich in der eingeschränkten, unmittelbaren Übertragbarkeit auf den Menschen und ein spezifisches klinisches Szenario. Dies gilt nicht nur für die absolut im Tiermodell gemessenen Konzentrationen, sondern auch für die Stärke der Effekte in vivo am perioperativen Patienten. Auch war die physiologische Integrität der isolierten Trachea nicht vollständig erhalten, sodass ein Medikamenteneintritt nicht nur seitlich über die Absetzungsränder, sondern auch durch die ehemals endoluminale, apikale Epithelschicht über das Puffermedium möglich gewesen ist. Ferner könnten gewisse strukturelle Eigenschaften des respiratorischen Epithels zwischen den humanen unteren Atemwegen und der Mäusetrachea differieren. Dennoch lassen sich aus den Ergebnissen der tierexperimentellen Arbeiten gewisse Implikationen für das perioperative Umfeld ableiten. Beispielsweise konnte für keine der getesteten Substanzen eine Einschränkung der Partikeltransportgeschwindigkeit und damit der mukoziliären Clearance nach Applikation detektiert werden, während der Partikeltransport nach oral gleichwohl allzeit zielgerichtet erhalten blieb. Auch

im Rahmen dieser Experimente wurden kleine Gruppengrößen zur Analyse herangezogen, wenngleich die gemessenen Effekte überwiegend sehr deutlich und klar statistisch signifikant waren. Einer Tötung von mehr Tieren zum Erreichen höherer Fallzahlen standen hier nicht zuletzt tierschutzrechtliche Regularien im Wege.

Dennoch können aus der Kombination aller in dieser Habilitationsschrift dargelegten Originalarbeiten Implikationen für die Erkennung und das individualisierte klinische Management von Risikopatienten vor, während und nach größeren nicht-herzchirurgischen Operationen abgeleitet werden, welche im folgenden Abschnitt dargestellt werden.

#### **4.5. Zusammenfassende Diskussion der Implikationen für individualisierte perioperative Therapiestrategien bei nicht-herzchirurgischen Operationen**

Aus den Erkenntnissen der Originalarbeiten dieser Habilitationsschrift lässt sich zunächst ableiten, dass limitierte Änderungen des perioperativen Managements möglicherweise nicht ausreichend den mittels NT-proBNP-Messung detektierten, multimorbiden Risikopatienten gerecht werden würde. So waren in der Vergangenheit einzelne Änderungen der perioperativen Therapie, beispielhaft die routinemäßige Durchführung einer Echokardiographie und Ergometrie oder die intraoperative Beatmung mit höheren inspiratorischen Sauerstofffraktionen, nicht überzeugend mit einem verbesserten Outcome der Patienten assoziiert [35,154,155]. Mittels der routinemäßigen NT-proBNP-Messung konnten jedoch Patienten mit einem drastisch erhöhten Risiko für eine Vielzahl an postoperativen Komplikationen detektiert werden, wenngleich die derzeitige Datenlage keine Empfehlungen hinsichtlich eines hieraus abgeleiteten Managements geben kann [26]. Gleichzeitig wurde durch die Observationsstudie auch deutlich, dass die Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml bereits präoperativ eine höhere Prävalenz an, verschiedene Organsysteme umfassende, Komorbiditäten aufwiesen. Dementsprechend können diese Patienten vermutlich nur von einer multimodalen und interdisziplinären Therapie profitieren, die sich nicht nur auf die präoperative Erhebung des Status Quo mit einzelnen intraoperativen Interventionen beschränkt, sondern den Fokus auf eine präoperative, intraoperative und postoperative Therapieoptimierung legt. Da vermutlich ein relevanter Anteil der Patienten mit erhöhtem NT-proBNP unter einer – zum Großteil – bisher noch nicht diagnostizierten Herzinsuffizienz leidet, erscheint hier eine multimodale Therapie unter Einbeziehung der Anästhesiologie, Chirurgie und Kardiologie attraktiv. Aufbauend auf der aktuellen Datenlage und den Erkenntnissen der Originalarbeiten dieser Habilitationsschrift wurde daher in einem interdisziplinären Konsortium unter Leitung der Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie am Universitätsklinikum Gießen eine interdisziplinäre und individualisierte Therapiestrategie entwickelt, die derzeit im Rahmen der PeriOP-CARE HF-Studie multizentrisch und randomisiert evaluiert wird (ClinicalTrials.gov: NCT06381427).

Primärer Endpunkt ist ebenfalls der gemeinsame Morbiditätsendpunkt aus Rehospitalisierung, akuter Nierenschädigung, kardialer Dekompensation und Infektion nach einem prolongiertem 90-Tage-Follow Up.

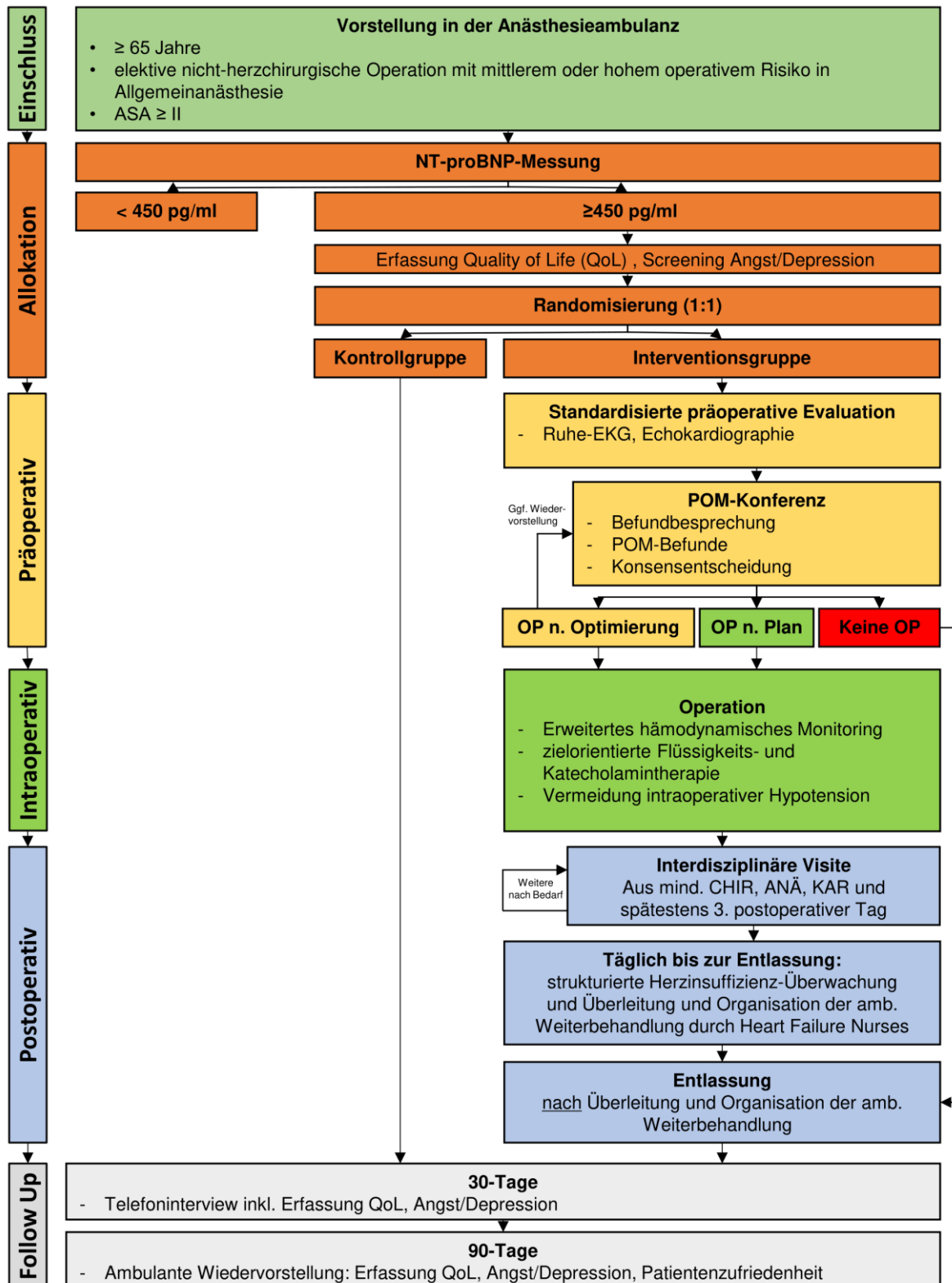
Im Rahmen der präoperativen Risikostratifizierung erhalten zunächst alle eingeschlossenen Patienten, die sich einer nicht-herzchirurgischen Operation mit mittlerem oder hohem Risiko in Allgemeinanästhesie unterziehen sollen, eine Point-of-care Biomarkermessung des NT-proBNP zum Zeitpunkt der Vorstellung in der Anästhesieambulanz (*Abbildung 4*). Entscheidend wird hier der Grenzwert aus der Observationsstudie dieser Habilitationsschrift von 450 pg/ml angesetzt.

Während Patienten mit einem Wert unter 450 pg/ml weiterhin die normale Routineversorgung erhalten, setzt bei Patienten über 450 pg/ml die neue Versorgungsform an, wenngleich derzeit im Rahmen der PeriOP-CARE HF-Studie eine 1:1 Randomisierung in die Kontrollgruppe (Routineversorgung, n=547) und Interventionsgruppe (neue Versorgungsform, n=547) erfolgt. Im Rahmen der neuen Versorgungsform erhalten die Patienten sodann neben einer strukturierten und detaillierten Anamnese und klinischen Untersuchung auch eine unmittelbar in der Anästhesieambulanz durchgeführte kardiale Diagnostik mittels Ruhe-EKG und transthorakaler Echokardiographie. Ferner wird ein fragebogenbasiertes Screening hinsichtlich dem Vorliegen einer Depression durchgeführt, da auch hier nicht nur eine Assoziation mit einem postoperativen Delir, sondern auch daraus folgenden Komplikationen besteht [156,157].

Die akkurate Detektion einer Herzinsuffizienz ist neben der langfristigen Therapieinitiierung und -optimierung insbesondere für das spätere perioperative Volumenmanagement und daraus folgend auch für die Inzidenz einer akuten Nierenschädigung von hoher Relevanz. Beispielhaft wurde im Rahmen einer Observationsstudie gezeigt, dass den Patienten mit bekannter Herzinsuffizienz im Vergleich zu den Patienten, die im Rahmen der präoperativen Evaluation zwar nicht die Diagnose einer Herzinsuffizienz gestellt bekamen - nach retrospektiver Sichtung aller Befunde aber dennoch die herzinsuffizienzdefinierenden Diagnosekriterien erfüllten - perioperativ weniger Volumen appliziert wurde [158]. Dies spiegelte sich dann im direkten Vergleich auch in einer reduzierten Inzidenz postoperativer akuter Nierenschädigungen bei den Patienten mit bekannter Herzinsuffizienz wider.

Im weiteren Studienverlauf der PeriOP-CARE HF-Studie dienen all die im Rahmen dieser ausgedehnten präoperativen Evaluation erhobenen Befunde sodann als Grundlage für die interdisziplinäre Perioperative Management- (POM) Konferenz. An der Konferenz können neben der obligaten Teilnahme von Anästhesiologen, Chirurgen und Kardiologen bei Auffälligkeiten im Screening nach Depression auch Psychosomatiker sowie generell die niedergelassenen, behandelnden Haus- und Fachärzte des Patienten – telemedizinisch – teilnehmen. Hier werden dann, analog einem Tumor-Board, die erhobenen Befunde im

Kontext der anstehenden Operation interdisziplinär diskutiert und das beste perioperative Management für den jeweiligen Patienten festgelegt.



**Abbildung 4.** Studienablauf des individualisierten, interdisziplinären perioperativen Managements im Rahmen von PeriOP-CARE HF. ASA = American Society of Anesthesiologists-Risikoklassifikation, QoL = Quality of Life, POM = Perioperatives Management, CHIR = Chirurgie, KAR = Kardiologie, ANÄ = Anästhesiologie.

Der Fokus liegt hierbei ganz besonders auf der Möglichkeit und Machbarkeit einer präoperativen Therapieoptimierung in Abhängigkeit der erhobenen Befunde und der Dringlichkeit der bevorstehenden Operation. Bei Vorliegen einer Anämie werden auch Empfehlungen zum Anämie-Management gegeben, da im Rahmen der Observationsstudie dieser Habilitationsschrift ebenso auffiel, dass die Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml signifikant häufiger eine präoperative Anämie aufwiesen. So gibt die Konferenz aber nicht nur Empfehlungen für das perioperative Management, sondern trifft im interdisziplinären Konsens eine bindende Entscheidung: Die Operation wird „nach Plan“ durchgeführt, wenn nur wenig präoperativer Optimierungsbedarf besteht oder im Sinne einer Nutzen-Risiko-Abwägung aufgrund der Dringlichkeit der Operation – zum Beispiel bei einer Tumoroperation – weitere ausführliche Diagnostik und Optimierung eine zeitnahe Operation unmöglich machen würde. In anderen Fällen kann eine Operation erst „nach Optimierung“ freigegeben werden, wenn die präoperative Evaluation entsprechende Auffälligkeiten ergab, sodass interdisziplinär zunächst eine weitere Diagnostik und Therapie indiziert wurde. Ferner kann die Konferenz ebenso übereinkommen die geplante Operation gänzlich abzusagen und dem Patienten insgesamt eine konservative Therapie zu empfehlen. In dem – wohl seltenen, aber grundsätzlich möglichen – Fall hätte die präoperative Evaluation weitere Befunde ergeben, die ein Nutzen der Operation für den Patienten insgesamt unwahrscheinlich bzw. weiteren und dauerhaften Schaden wahrscheinlich werden lassen. Neben eventueller dezidierten Empfehlungen der POM-Konferenz oder den ohnehin eingriffsspezifischen Erfordernissen hinsichtlich des intraoperativen Managements erhalten alle Patienten eine kontinuierliche nicht-invasive oder invasive Blutdruckmessung bereits vor Narkoseeinleitung, um so die Inzidenz intraoperativer Hypotensionen im Rahmen der Narkoseeinleitung in diesem selektierten hypotensionsanfälligen Kollektiv effektiv reduzieren zu können [159,160]. Ferner werden hieraus kontinuierlich das kardiale SV sowie die dynamischen Vorlastparameter abgeleitet. An den erhobenen Werten wird, zusätzlich zu einer etwaigen kontinuierlichen Messung des zentralen Venendrucks und der intermittierenden Bestimmung der zentralvenösen Sauerstoffsättigung bei Vorhandensein eines zentralen Venenkatheters, die intraoperative hämodynamische Therapie ohne die Vorgabe eines strikten Therapiealgorithmus orientiert. Auf einen strikten Therapiealgorithmus wurde bewusst verzichtet, da derzeit – unter anderem aus den Erkenntnissen der iPEGASUS-Studie – kein validierter Therapiealgorithmus zur Verfügung steht, der klar mit einem verbesserten Outcome einhergeht. Allerdings soll, ebenso als Erkenntnis aus der iPEGASUS-Studie, eine Maximierung des kardialen SV im Rahmen der intraoperativen Therapie ausdrücklich nicht erfolgen. Die Verfügbarkeit erweiterter hämodynamischer Parameter erlaubt jedoch grundsätzlich auch aus pathophysiologischen Erwägungen die bessere Differenzierung der hämodynamischen Therapie. An dieser Stelle soll im Rahmen dieser zusammenfassenden

Diskussion auch die mögliche Auswirkung medikamentöser Interventionen zur perioperativen hämodynamischen Stabilisierung und Optimierung auf die mukoziliäre Clearance der Atemwege kritisch gewürdigt werden. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der tierexperimentellen Versuchsreihen dieser Habilitationsschrift kann insbesondere betont werden, dass die hierzu üblicherweise verwendeten kreislaufunterstützenden Medikamente – namentlich die 20:1 Mischung aus Cafedrin/Theodrenalin sowie die Vasopressoren Noradrenalin und Vasopressin - gemäß den vorliegenden Ergebnissen keine nachteiligen Effekte auf die ziliäre Aktivität vermitteln. Somit müssen höchstwahrscheinlich keine unerwünschten Effekte auf die mukoziliäre Clearance-Funktion der unteren Atemwege befürchtet werden. Die deutliche Erhöhung der Partikeltransportgeschwindigkeit im Tierexperiment als Hinweis auf eine verbesserte Zilienfunktion sollte jedoch zunächst in weiteren Studien und im Rahmen klinischer Fragestellungen am Menschen validiert werden. Die interdisziplinäre Therapie innerhalb der PeriOP-CARE HF-Studie endet im Gegensatz zu den meisten derzeitigen anästhesiologisch geführten Studien nicht (kurz) nach der Operation, sondern wird bis zur Entlassung des Patienten fortgesetzt. Da die meisten postoperativen Komplikationen bei der hier präsentierten Observationsstudie innerhalb der ersten wenigen Tage nach der Operation auftraten, wurde für die interdisziplinäre postoperative Betreuung der Fokus auf die frühzeitige Detektion von (drohenden) Komplikationen gesetzt. Zunächst erfolgt daher eine interdisziplinäre Visite aus den Fachabteilungen der Chirurgie, Anästhesiologie und Kardiologie, die eine strukturierte postoperative Überwachung der Patienten bis zur Entlassung einleitet. Im Rahmen der weiteren strukturierten Überwachung kommen sogenannte Heart Failure-Nurses zum Einsatz, die im Rahmen ihrer täglichen Visiten und in Zusammenarbeit mit den Ärzten der Anästhesiologie und Kardiologie sowie den betreuenden chirurgischen Stationsärzten (drohende) Komplikationen der Patienten erkennen und so einer frühzeitigen Therapie zuführen sollen. Heart Failure-Nurses wurden deshalb ausgewählt, da nach der Observationsstudie dieser Habilitationsschrift und den vorliegenden Daten von einem großen Anteil an Patienten mit, gegebenenfalls auch neudiagnostizierter Herzinsuffizienz, ausgegangen werden muss [32]. Während Heart Failure-Nurses in der ambulanten Herzinsuffizienzüberwachung zunehmend etabliert sind, konnten in einer randomisierten Pilotstudie bei perioperativen Patienten ebenso Hinweise für eine reduzierte Inzidenz postoperativer Komplikationen durch eine Mitbetreuung durch Heart Failure-Nurses gefunden werden [161,162]. Vor Entlassung der Patienten erfolgt zusätzlich eine strukturierte Überleitung in die ambulante Weiterversorgung, im Rahmen derer neben der üblichen chirurgischen Patientenberichte eine dezidierte und direkte Kontaktaufnahme mit den niedergelassenen Weiterbehandlern erfolgt, die die perioperativ-medizinischen Aspekte des stationären Aufenthalts insbesondere betonen.

Im Rahmen der PeriOP-CARE HF-Studie wird somit eine gänzlich neue interdisziplinäre Versorgungsform, die bereits unmittelbar präoperativ beginnt und erst mit der Entlassung aus dem Krankenhaus endet, evaluiert. Neben einer dezidierten und erstmalig auch biomarkerinitiierten Therapieform werden hier insbesondere Daten hinsichtlich der Prävalenz einer Herzinsuffizienz und deren Phänotypen bei einer präoperativen Vorstellung vor nicht-herzchirurgischer Operation erhoben werden können. Sie wird somit möglicherweise, aufbauend auf den Erkenntnissen dieser Habilitationsschrift, einen Beitrag leisten, die jährlich über 9 Millionen Operationen im höheren Lebensalter sicherer zu machen und die nicht nur individuell, sondern zunehmend auch gesellschaftlich relevanten Komplikationsraten zu reduzieren.

## 5. Zusammenfassung

Der Erkennung sowie dem anschließenden, individualisierten und zielgerichteten Management von Risikopatienten vor, während und nach nicht-herzchirurgischen Operationen kommt eine wachsende Bedeutung zu, wenngleich dezidierte Therapie- strategien bislang kaum verfügbar sind. Hier stehen vor allem die Erkennung und Optimierung kardialer Erkrankungen sowie die postoperative Vermeidung von kardio- pulmonalen Komplikationen im Vordergrund. In dieser Habilitationsschrift wurden daher zunächst Patienten mit einem erhöhten postoperativen Morbiditätsrisiko mittels präoperativer NT-proBNP-Messung identifiziert. Hierzu wurde im Rahmen einer Observationsstudie bei 200 Patienten vor nicht-herzchirurgischer Operation mit mittlerem oder hohem chirurgischem Risiko in Allgemeinanästhesie routinemäßig NT-proBNP bestimmt und ein Grenzwert für die Prädiktion eines weitgefassten Morbiditätsendpunkts (Rehospitalisierung, akute Nieren- schädigung, Infektion und kardiale Dekompensation) gesucht. Patienten mit NT-proBNP >450 pg/ml wiesen dramatisch erhöhte Ereignisraten im postoperativen 30-Tagesverlauf auf. Die Vorhersage des primären Endpunkts mittels isolierter und einmaliger NT-proBNP- Messung war im Vergleich zum etablierten Revised Cardiac Risk Index nach Lee verbessert. Die Biomarker-Messung kann somit die rein klinische Risikoeinschätzung verbessern, sodass im Rahmen der nächsten Arbeiten einerseits der Fokus auf das intraoperative Management mittels zielgerichteter, hämodynamischer Therapiealgorithmen gelegt wurde. Andererseits wurden in laborexperimentellen Versuchsreihen verschiedene kreislauf- wirksame Medikamente untersucht, die die mukoziliäre Clearance-Funktion der unteren Atemwege und damit deren Integrität und die pulmonale Funktion insgesamt im peri- operativen Umfeld beeinflussen könnten. In einer monozentrischen, randomisierten Interventionsstudie stand zunächst der Einfluss der Infusionsgeschwindigkeit auf die Effektivität einer Bolusinfusion im Fokus. Hier zeigte sich, dass Bolusinfusionen, innerhalb von fünf Minuten appliziert, hämodynamisch effektiver sind als Gaben desselben Volumens innerhalb von 20 Minuten. Des Weiteren waren kolloidale Infusionen hinsichtlich der initialen hämodynamischen Antwort effektiver als kristalloide Infusionen. Im Rahmen einer multizentrischen randomisierten Interventionsstudie wurde sodann ein zielgerichteter hämo- dynamischer Therapiealgorithmus mit dem Ziel des Erhalts eines individuell optimierten Herzindex nach Narkoseinduktion und Volumenausgleich evaluiert. Hier wiesen die Patienten in der Interventionsgruppe jedoch eine erhöhte Inzidenz des primären Endpunkts auf, welcher sich aus Mortalität und relevanter Komplikation zusammensetzte. Vermutlich trug hier der retrospektiv scheinbar inadäquate Zeitpunkt der Bestimmung des optimalen Herzindex sowie die liberale Gabe von Dobutamin dazu bei. In zwei tierexperimentellen Versuchsreihen wurde untersucht, ob die perioperativ häufig applizierten, kreislaufwirksamen Pharmaka die mukoziliäre Clearance-Funktion der unteren Atemwege beeinflussen können.

Hierzu wurde die Partikeltransportgeschwindigkeit bei isolierten Mäusertracheen unter dem Einfluss von Cafedrin/Theodrenalin, Dopamin, Noradrenalin und Vasopressin sowie zur Aufdeckung der zugrundeliegenden Signaltransduktionskaskaden nach zusätzlicher Inkubation mit verschiedenen inhibitorischen Substanzen gemessen. Hier erhöhten alle genannten Pharmaka die Partikeltransportgeschwindigkeit am Trachealepithel dosisabhängig stark, so dass eine zumindest transiente Wirkung bei intravenöser Applikation auch im Menschen möglich erscheint. Zusammenfassend lieferten die in dieser Habilitationsschrift dargelegten Originalarbeiten neue Implikationen für die Erkennung und das individualisierte, interdisziplinäre perioperative Management von Hochrisikopatienten vor nicht-herzchirurgischen Operationen, die derzeit in weiteren Studien noch tiefergehend evaluiert und weiterentwickelt werden.

## **6. Zugrundeliegende Originalpublikationen**

### **6.1. Preoperative routine measurement of NT-proBNP predicts postoperative morbidity after non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk: an observational study**

RESEARCH

Open Access



# Preoperative routine measurement of NT-proBNP predicts postoperative morbidity after non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk: an observational study

Götz Schmidt<sup>1\*</sup>, Nora Frieling<sup>1</sup>, Emmanuel Schneck<sup>1</sup>, Marit Habicher<sup>1</sup>, Christian Koch<sup>1</sup>, Kerstin Rubarth<sup>2</sup>, Felix Balzer<sup>2</sup>, Birgit Aßmus<sup>3†</sup> and Michael Sander<sup>1†</sup>

## Abstract

**Background** Chronic heart failure (HF) is a common clinical condition associated with adverse outcomes in elderly patients undergoing non-cardiac surgery. This study aimed to estimate a clinically applicable NT-proBNP cut-off that predicts postoperative 30-day morbidity in a non-cardiac surgical cohort.

**Methods** One hundred ninety-nine consecutive patients older than 65 years undergoing elective non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk were analysed. Preoperative NT-proBNP was measured, and clinical events were assessed up to postoperative day 30. The primary endpoint was the composite morbidity endpoint (CME) consisting of rehospitalisation, acute decompensated heart failure (ADHF), acute kidney injury (AKI), and infection at postoperative day 30. Secondary endpoints included perioperative fluid balance and incidence, duration, and severity of perioperative hypotension.

**Results** NT-proBNP of 443 pg/ml had the highest accuracy in predicting the composite endpoint; a clinical cut-off of 450 pg/ml was implemented to compare clinical endpoints. Although 35.2% of patients had NT-proBNP above the threshold, only 10.6% had a known history of HF. The primary endpoint was the composite morbidity endpoint (CME) consisting of rehospitalisation, acute decompensated heart failure (ADHF), acute kidney injury (AKI), and infection. Event rates were significantly increased in patients with NT-proBNP > 450 pg/ml (70.7% vs. 32.4%,  $p < 0.001$ ), which was due to the incidence of cardiac rehospitalisation (4.4% vs. 0%,  $p = 0.018$ ), ADHF (20.1% vs. 4.0%,  $p < 0.001$ ), AKI (39.8% vs. 8.3%,  $p < 0.001$ ), and infection (46.3% vs. 24.4%,  $p < 0.01$ ). Perioperative fluid balance and perioperative hypotension were comparable between groups. Preoperative NT-proBNP > 450 pg/ml was an independent predictor of the CME in a multivariable Cox regression model (hazard ratio 2.92 [1.72–4.94]).

<sup>†</sup>Birgit Aßmus and Michael Sander share senior authorship.

\*Correspondence:

Götz Schmidt

Goetz.F.Schmidt@chiru.med.uni-giessen.de

Full list of author information is available at the end of the article



**Conclusions** Patients with NT-proBNP > 450 pg/ml exhibited profoundly increased postoperative morbidity. Further studies should focus on interdisciplinary approaches to improve outcomes through integrated interventions in the perioperative period.

**Trial registration** German Clinical Trials Register: DRKS00027871, 17/01/2022

**Keywords** Perioperative, Brain natriuretic peptide, Infection, Rehospitalisation, Acute kidney injury, Acute decompensated heart failure

## Background

Chronic heart failure (HF) is associated with reduced quality of life and increased morbidity and mortality, and its prevalence is increasing, especially in ageing and growing populations [1–3]. While the overall prevalence of chronic HF is estimated to be 1–2%, more than 10% of patients older than 65 years suffer from chronic HF [4]. Patients with HF undergoing non-cardiac surgery are at increased risk of haemodynamic alterations during general anaesthesia in addition to the risks associated with surgical trauma [5]. Current European Society of Cardiology (ESC) guidelines on cardiovascular assessment and the management of patients undergoing non-cardiac surgery recommend that perioperative risk should be assessed by evaluating patient-related and surgery-related risk factors. The 30-day risk for cardiovascular death, stroke, and myocardial infarction stratified solely by the type of surgery is between 1% and 5% for intermediate-risk and >5% for high-risk surgeries, regardless of the patient's history [6]. These findings not only indicate the need for careful management of elderly patients with known HF requiring major non-cardiac surgery but also the necessity to detect patients with undiagnosed HF who might be at risk of increased peri- and postoperative morbidity. Although elderly patients undergoing major surgery should be carefully examined for HF according to the current guidelines, diagnosis of HF by history and physical examination alone may be challenging during the preoperative evaluation [6]. Measurement of cardiac biomarkers can be used to risk-stratify patients undergoing surgery. Plasma brain natriuretic peptide (BNP) and its precursor, N-terminal prohormone of BNP (NT-proBNP), are relevant prognostic markers that can predict mortality, stroke, and cardiovascular adverse events in asymptomatic persons [7]. In the new 2022 ESC guidelines on cardiovascular assessment and management in patients undergoing non-cardiac surgery, the measurement of NT-proBNP has a Class IIa recommendation for application in patients with known cardiovascular disease, cardiovascular risk factors, or symptoms suggestive of cardiovascular disease undergoing non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk [6]. However, while routine NT-proBNP measurements are still not recommended (Class III recommendation), preoperative measurement of natriuretic peptides has been shown

to effectively predict major cardiac adverse events after major non-cardiac surgery in different patient populations [8–11]. Most studies have focused on cardiac mortality and postoperative myocardial injury or infarction, where the incremental predictive value of NT-proBNP in predicting mortality and myocardial injury was observed [11].

Therefore, different NT-proBNP cut-offs covering a wide range of values, from 200 pg/ml up to 1,500 pg/ml, for risk stratification regarding the risk of death and myocardial injury in patients undergoing major non-cardiac surgery have been proposed [11–13]. A multicentric observational study recently demonstrated a 2.5% rate of postoperative acute decompensated HF (ADHF) following non-cardiac surgery, and 44% of patients with postoperative ADHF died within one year after surgery [14]. Interestingly, 51% of patients with postoperative ADHF presented with de novo HF and had no prior history of HF. Because preoperative NT-proBNP was only available in 24% of the cohort, the findings underlined the need for further studies evaluating the predictivity of NT-proBNP concerning the postoperative morbidity, while further perioperative measures, such as blood loss, fluid balance, use of diuretics, and perioperative haemodynamics, should also be considered [15]. This study aimed to evaluate postoperative morbidity within 30 PODs, including rehospitalisation, ADHF, acute kidney injury (AKI), and infection. Additionally, the study should estimate a cut-off value for NT-proBNP in the routine preoperative assessment of patients older than 65 years undergoing elective intermediate- or high-risk non-cardiac surgery to predict these outcomes. Furthermore, the benefit of including NT-proBNP in the prediction of postoperative morbidity in the context of other preoperatively available clinical and laboratory parameters was analysed.

## Methods

### Study design

This prospective, single-centre cohort study was approved by the local ethics committee of the medical faculty of the Justus-Liebig-University, Giessen, Germany (AZ 263/21), and was performed in compliance with the Declaration of Helsinki. According to the observational nature of the entire study and subsequent data anonymisation, written informed consent to participate

was waived. This study was registered with the German Clinical Trials Register (DRKS00027871; date of registration: 17/01/2022). Consecutive patients older than 65 years undergoing intracranial, thoracic, head and neck, trauma and orthopaedic, or abdominal non-cardiac surgery, including visceral, urological, and gynaecological operations with intermediate or high surgical risk under general anaesthesia received routine preoperative NT-proBNP measurement. Prior to the presurgical anaesthetist visit, NT-proBNP was measured from venous blood using a point-of-care immunoassay (proBNP+, cobas h 232, Roche Holding AG, Basel, Switzerland). Anaesthetic management and intra- and postoperative treatments were provided according to local institutional standards in compliance with the current guidelines.

#### Data acquisition

Preoperative data were collected during the routine pre-surgical visit at the anaesthesia outpatient clinic. Baseline characteristics included age, sex, body mass index, cardiovascular risk factors, revised cardiac risk index, history of chronic HF or myocardial infarction, and relevant comorbidities, such as peripheral artery disease, carotid artery stenosis, chronic obstructive pulmonary disease, pulmonary hypertension, stroke, and chronic kidney disease. Surgical data involved the type and speciality of surgery and the surgical risk classification stratified by “intermediate risk” or “high risk”. If preoperative echocardiographic findings were available, the findings were reported, and perioperative fluid balance, including blood and fluid losses and the amount of fluid and blood product administered, was assessed. Further perioperative measurements included pre- and postoperative haemoglobin (Hb), serum creatinine, estimated glomerular filtration rate (eGFR), the amount of catecholamine administered, administrative procedural data, and intraoperative haemodynamics. Anaemia was defined according to the World Health Organization as Hb levels < 13 g/dL in men and < 12 g/dL in women, respectively [16]. Perioperative hypotension was assessed during anaesthesia and was defined as mean arterial pressure < 65 mmHg. Blood pressure data were recorded automatically every 3 min in the digital anaesthetic protocol, and the incidence, duration (minutes), and severity of hypotension expressed as area under the curve (mmHg × min) were calculated. To assess postoperative events, clinical records were screened daily during the hospital stay, and clinical follow-up was conducted at POD 30. When unplanned rehospitalisation occurred, clinical records were requested and subsequently reviewed.

#### Endpoints

The primary endpoint was the composite morbidity endpoint (CME) consisting of the incidence of

rehospitalisation, ADHF, AKI, and any suspected or proven bacterial infection requiring treatment at POD 30. AKI was defined according to the Kidney Disease: Improving Global Outcomes criteria [17]. ADHF was defined as the onset or worsening of shortness of breath and signs of congestion, including peripheral oedema, moist rales, and radiological signs of congestion or pleural effusion requiring treatment [18]. Secondary endpoints included the individual components of the composite endpoint, myocardial infarction, wound healing disturbances, and mortality at POD 30. During the hospital stay, the administration and cumulative doses of intravenous diuretics (furosemide equivalent in mg per day) were recorded, and the length of intensive care unit and hospital stay were calculated.

#### Statistical analysis

As no previous clinical data regarding the statistical distribution of preoperative NT-proBNP values were available in our study cohort, no formal power analysis was performed. To obtain a sufficient group of patients, a sample size of 200 pilot patients undergoing routine preoperative NT-proBNP measurement was considered sufficient to assess the clinical endpoint measures. Because different cut-offs for NT-proBNP are reported for composite endpoints consisting of mortality and myocardial injury or infarction, there is an overall lack of consensus regarding the cut-off for elevated NT-proBNP in different settings and age groups. Therefore, the area under the receiver operating characteristic (ROC) was initially calculated to determine the discriminatory power for CME using NT-proBNP [19, 20]. The optimal discriminatory level of NT-proBNP was identified according to Youden's index. The events of patients with NT-proBNP above the implemented cut-off were compared to their respective complementary groups. Event rates were calculated using the Kaplan-Meier method, and statistical differences were assessed using the log-rank test. Categorical variables are presented as numbers and percentages, and the Chi-squared test or Fisher's exact test was used to evaluate differences between groups. Continuous variables are presented as median and interquartile range and were compared using the Mann-Whitney-Wilcoxon test. Multivariable Cox regression analysis was performed for the CME to identify independent predictors and differentiate the association of the preoperative NT-proBNP threshold in comparison to relevant clinical parameters and the revised cardiac risk index. Two-tailed values of  $p < 0.05$  were considered statistically significant. Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics, version 28.0.0.1 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) and R 4.2.3 ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)).

## Results

Two hundred patients underwent preoperative NT-proBNP measurement prior to non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk and general anaesthesia between January and March 2022. Because one surgery was cancelled for surgical reasons, 199 patients were included in the final analysis.

### NT-proBNP cut-off

The ROC curve indicated that NT-proBNP > 443 pg/ml had the strongest accuracy in predicting the composite endpoint (area under the ROC 0.679 [0.602–0.756],  $p < 0.001$ , Youden's index 0.363, sensitivity 55.6%, specificity 80.7%, Fig. 1A). Because a cut-off > 450 pg/ml had comparable predictivity in our cohort (Youden's index 0.352, sensitivity 54.4%, specificity 80.7%), we chose this cut-off to guarantee adequate clinical implementation as the number is easier to remember. In total, 129 (64.8%) patients had NT-proBNP  $\leq$  450 pg/ml and 70 (35.2%) patients had elevated NT-proBNP > 450 pg/ml. A graphical representation of the NT-proBNP distribution in both groups is shown in Fig. 1B. Median follow-up time was 30 (30–30) days in both groups, and follow-up was completed in 194 (97.5%) patients.

### Baseline characteristics

Table 1 presents the characteristics, laboratory parameters, echocardiographic findings, and surgery types of the overall population and stratified by preoperative NT-proBNP  $\leq$  450 pg/ml or > 450 pg/ml. Several baseline characteristics differed significantly between the two groups. Patients with NT-proBNP > 450 pg/ml were older and had higher serum creatinine, lower eGFR, and lower pre- and postoperative Hb than patients with NT-proBNP  $\leq$  450 pg/ml. Cardiovascular risk factors were

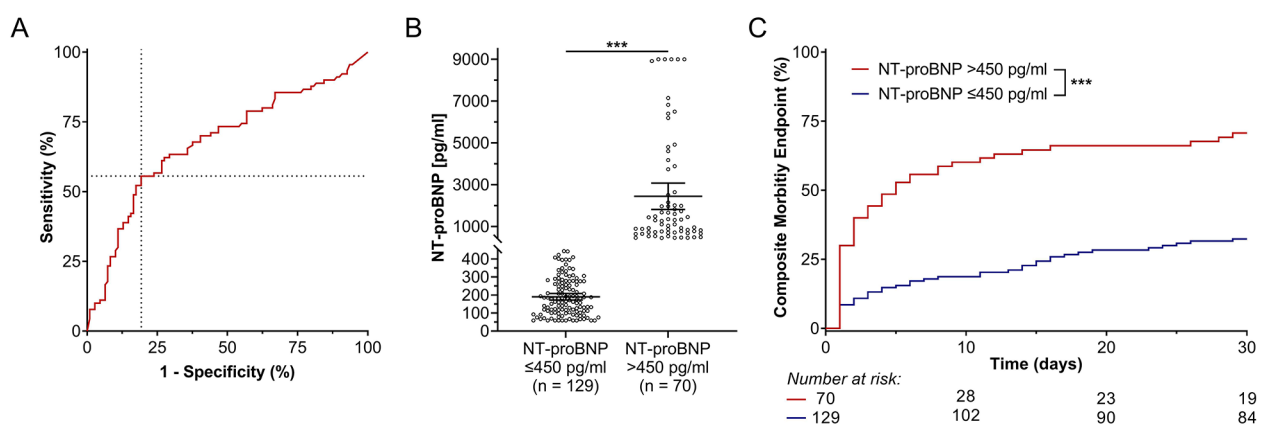
more common in the NT-proBNP > 450 pg/ml group, which resulted in a higher rate of American Society of Anesthesiologists (ASA) classification III and functional capacity of < 4 metabolic equivalents of task in this group. Preoperative echocardiography was more frequently scheduled in patients with elevated NT-proBNP, although preoperative echocardiography was performed in only 26.6% of all cases. Left ventricular ejection fraction was comparable among groups; however, systolic pulmonary artery pressure, maximal tricuspid regurgitation velocity, E/e' ratio and left atrial volume index differed significantly between the two groups. Patients with elevated NT-proBNP had a significant higher rate of second-to-third-grade mitral valve regurgitation ( $p = 0.011$ ), while aortic and tricuspid valve findings were comparable between the groups.

### Procedural details

Table 2 indicates the procedural details, fluid balance, catecholamine therapy, and incidence and severity of perioperative hypotension among the patients. The incidence and severity of perioperative hypotension were comparable between the groups; however, the cumulative amount of noradrenaline administered was significantly higher among patients with NT-proBNP > 450 pg/ml.

### Outcome

CME event rates were higher in patients with NT-proBNP > 450 pg/ml compared with NT-proBNP  $\leq$  450 pg/ml (70.7% vs. 32.4%,  $p < 0.001$ ; Fig. 1C). Kaplan-Meier estimates for the exact calculated cut-off of 443 pg/ml are presented in Supplementary Fig. 1. Events occurred foremost during the first 10 PODs with great variability among the individual CME components (Fig. 2). The difference in CME rates was primarily due to significantly



**Fig. 1** Preoperative NT-proBNP and primary endpoint. **A** NT-proBNP of 443 pg/ml had the highest accuracy in predicting the composite endpoint (area under the receiver operating characteristic curve 0.679,  $p < 0.001$ , Youden's index 0.363, sensitivity 55.6%, specificity 80.7%, dotted line). **B** Distribution of NT-proBNP in both analysed groups. **C** Kaplan-Meier estimates revealed adverse 30-day outcomes in patients with preoperative NT-proBNP > 450 pg/ml (composite morbidity endpoint consisting of rehospitalisation, acute decompensated heart failure, acute kidney injury, and any bacterial infection). \*\*\* $p < 0.001$

**Table 1** Patient characteristics

Characteristics	Total (n = 199)	NT-proBNP ≤ 450 pg/ml (n = 129)	NT-proBNP > 450 pg/ml (n = 70)	p
Patient characteristics				
Male - no. (%)	101 (50.8)	63 (48.8)	38 (54.3)	0.463
Median age [IQR] - years	74 [69–81]	72 [68–77]	80 [74–83]	<b>&lt;0.001</b>
Mean Body-Mass-Index [IQR] - kg/m <sup>2</sup>	26.3 [23.5–29.4]	26.89 [23.9–29.5]	25.3 [22.8–29.3]	0.255
Pre-existing conditions				
Arterial hypertension - no. (%)	155 (77.9)	91 (70.5)	64 (91.4)	<b>0.001</b>
Hyperlipidaemia - no. (%)	51 (25.6)	25 (19.4)	26 (37.1)	<b>0.010</b>
Nicotine abuse - no. (%)	64 (32.2)	45 (34.9)	19 (27.1)	0.338
Nicotine abuse continued - no. (%)	28 (14.1)	20 (15.5)	8 (11.4)	0.565
Diabetes mellitus - no. (%)	63 (31.7)	36 (27.9)	27 (38.6)	0.166
Peripheral vessel disease - no. (%)	19 (9.5)	9 (7.0)	10 (14.3)	0.155
Prior myocardial infarction - no. (%)	21 (10.6)	10 (7.8)	11 (15.7)	0.133
Chronic obstructive pulmonary disease - no. (%)	27 (13.6)	15 (11.6)	12 (17.1)	0.385
Pulmonary hypertension - no. (%)	4 (2.0)	0 (0.0)	4 (5.7)	<b>0.014</b>
Carotid artery stenosis - no. (%)	10 (5.0)	6 (4.7)	4 (5.7)	0.743
Chronic kidney disease - no. (%)	131 (65.8)	79 (61.2)	52 (74.3)	0.090
Stage 1 - no. (%)	68 (34.2)	50 (38.8)	18 (25.7)	0.090
Stage 2 - no. (%)	79 (39.7)	61 (47.3)	18 (25.7)	<b>0.005</b>
Stage 3 - no. (%)	37 (18.6)	17 (13.2)	20 (28.6)	<b>0.013</b>
Stage 4 - no. (%)	11 (5.5)	1 (0.8)	10 (14.3)	<b>&lt;0.001</b>
Stage 5 - no. (%)	4 (2.0)	0 (0.0)	4 (5.7)	<b>0.014</b>
Revised cardiac risk index [IQR] - no.	1 [0–2]	1 [0–1]	1 [1, 2]	<b>&lt;0.001</b>
Intraperitoneal or intrathoracic	77 (38.7)	54 (41.9)	23 (32.9)	0.274
Coronary artery disease - no. (%)	51 (25.6)	22 (17.1)	29 (25.6)	<b>&lt;0.001</b>
Chronic heart failure - no. (%)	21 (10.6)	4 (3.1)	17 (24.3)	<b>&lt;0.001</b>
HFpEF - no. (%)	15 (7.5)	3 (2.3)	12 (17.1)	<b>&lt;0.001</b>
HFmrEF - no. (%)	4 (2.0)	1 (0.8)	3 (4.3)	0.126
HFrEF - no. (%)	2 (1.0)	0 (0.0)	2 (2.9)	0.123
Prior stroke/TIA - no. (%)	21 (10.6)	10 (7.8)	11 (15.7)	0.133
Insulin-dependent diabetes mellitus - no. (%)	23 (11.6)	10 (7.8)	13 (11.6)	<b>0.041</b>
Serum creatine > 2 mg/dl - no (%)	13 (6.5)	1 (0.8)	12 (17.1)	<b>&lt;0.001</b>
ASA class				
ASA 1 - no. (%)	4 (2.0)	4 (3.1)	0 (0.0)	0.300
ASA 2 - no. (%)	67 (38.2)	59 (45.7)	17 (4.3)	<b>0.005</b>
ASA 3 - no. (%)	116 (58.3)	65 (50.4)	51 (72.9)	<b>0.004</b>
ASA 4 - no. (%)	3 (1.5)	1 (0.8)	2 (2.9)	0.283
Metabolic equivalent of task				
< 4 MET - no. (%)	31 (15.6)	10 (7.8)	21 (30.0)	<b>&lt;0.001</b>
Laboratory parameters				
NT-proBNP [IQR] - pg/ml	277 [134–779]	173 [103–274]	1309 [730–2918]	<b>&lt;0.001</b>
eGFR [IQR] - ml/min	85 [58–102]	88 [69–103]	64 [43–91]	<b>&lt;0.001</b>
Serum creatinine [IQR] - mg/dl	0.9 [0.7–1.1]	0.8 [0.7–1.0]	1.0 [0.8–1.4]	<b>&lt;0.001</b>
Preoperative haemoglobin [IQR] - g/dl	12.8 [11.3–14.2]	13.2 [12.2–14.4]	11.5 [10.1–13.6]	<b>&lt;0.001</b>
Postoperative haemoglobin [IQR] - g/dl	11.0 [9.8–12.5]	11.6 [10.5–12.7]	10.0 [9.3–11.6]	<b>&lt;0.001</b>
Echocardiography				
preoperative echocardiography - no. (%)	53 (26.6)	27 (20.9)	26 (37.1)	<b>0.021</b>
Ejection fraction				
≥ 50% - no. (%)	40 (93.0) <sup>a</sup>	20 (95.2) <sup>b</sup>	20 (90.9) <sup>c</sup>	1.0
41–49% - no. (%)	0 (0.0) <sup>a</sup>	0 (0.0) <sup>b</sup>	0 (0.0) <sup>c</sup>	1.0
≤ 40% - no. (%)	3 (7.0) <sup>a</sup>	1 (4.8) <sup>b</sup>	2 (9.1) <sup>c</sup>	1.0
TAPSE [IQR] - mm	23 [20–25] <sup>d</sup>	23 [21–25] <sup>e</sup>	23 [19–25]	0.250
PAP <sub>sys</sub> [IQR] - mmHg	2 [22–34] <sup>g</sup>	23 [21–28] <sup>h</sup>	32 [26–39] <sup>i</sup>	<b>0.006</b>

**Table 1** (continued)

Characteristics	Total (n = 199)	NT-proBNP ≤ 450 pg/ml (n = 129)	NT-proBNP > 450 pg/ml (n = 70)	p
TR-V <sub>max</sub> [IQR] - m/s	2.6 [2.4–2.9] <sup>j</sup>	2.4 [2.3–2.7] <sup>h</sup>	2.8 [2.5–3.0] <sup>k</sup>	<b>0.010</b>
E/A ratio [IQR] - no.	0.8 [0.7–1.1] <sup>m</sup>	0.7 [0.7–1.0] <sup>c</sup>	0.8 [0.7–1.3] <sup>h</sup>	0.260
E/e' ratio [IQR] - no.	10.6 [8.8–13.7] <sup>n</sup>	9.8 [8.1–11.0] <sup>o</sup>	11.1 [9.9–16.4] <sup>p</sup>	<b>0.029</b>
LA volume index [IQR] - ml/m <sup>2</sup>	36.7 [27.4–48.1] <sup>m</sup>	30.2 [26.5–43.5] <sup>o</sup>	47.3 [36.6–54.8] <sup>q</sup>	<b>0.017</b>
Aortic valve stenosis II-III° - no. (%)	1 (1.9)	1 (3.7)	0 (0.0)	1.0
Aortic valve regurgitation II-III° - no. (%)	2 (3.8)	0 (0.0)	2 (7.7)	0.236
Mitral valve regurgitation II-III° - no. (%)	9 (17.0)	1 (3.7)	8 (30.8)	<b>0.011</b>
Tricuspid valve regurgitation II-III° - no. (%)	12 (22.6)	3 (11.1)	9 (34.6)	0.086
Surgical risk				
intermediate risk - no (%)	181 (91.0)	117 (90.7)	64 (91.4)	1.000
high risk - no (%)	18 (9.0)	12 (9.3)	6 (8.6)	1.000
Surgery types				
Abdominal, thoracic - no. (%)	78 (39.2)	55 (42.6)	23 (32.9)	0.231
Neurological, maxillofacial, ear-nose-throat - no. (%)	52 (26.1)	38 (29.5)	14 (20.0)	0.200
Trauma, orthopaedic - no. (%)	69 (34.7)	36 (27.9)	33 (47.1)	<b>0.010</b>

Legend: a: n=43; b: n=21; c: n=22; d: n=49; e: n=24; f: n=25; g: n=31; h: n=13; i: n=18; j: n=30; k: n=17; m: n=35; n: n=34; o: n=19; p: n=15; q: n=16. Abbreviations: HF=heart failure, pEF=preserved ejection fraction, mEF=mildly reduced ejection fraction, rEF=reduced ejection fraction, TIA=transient ischaemic attack, ASA=American Society of Anesthesiologists, MET=metabolic equivalent of task, eGFR=estimated glomerular filtration rate, TAPSE=tricuspid annular plane systolic excursion, PAP=pulmonary artery pressure, TR=tricuspid regurgitation, LA=left atrium

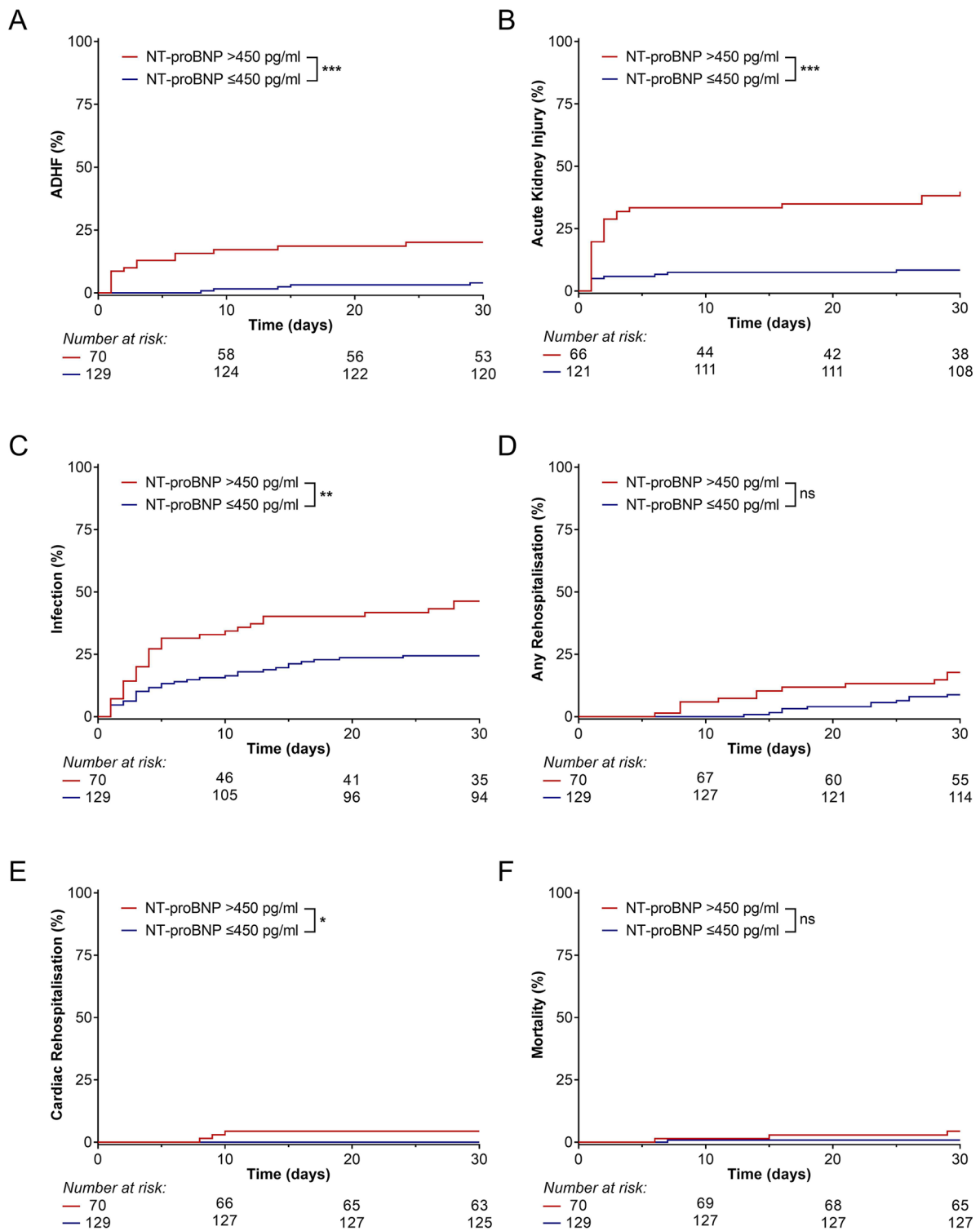
**Table 2** Procedural details, fluid balance, catecholamine therapy and perioperative hypotension

Characteristics	Total (n = 199)	NT-proBNP ≤ 450 pg/ml (n = 129)	NT-proBNP > 450 pg/ml (n = 70)	p
Procedural details				
Duration of intervention [IQR] - min	115 [75–163]	119 [70–181]	105 [81–154]	0.37
Duration of anaesthesia [IQR] - min	205 [152–284]	197 [149–294]	209 [155–270]	0.985
Fluid balance				
Perioperative fluid balance [IQR] - ml	950 [480–1280]	950 [480–1350]	960 [400–1220]	0.775
Amount of colloids [IQR] - ml	0 [0–500]	0 [0–500]	0 [0–500]	0.919
Amount of crystalloids [IQR] - ml	1132 [1000–1280]	1083 [1000–1656]	1227 [1000–1643]	0.675
Amount of fluid by autotransfusion [IQR] - ml	0 [0–0]	0 [0–0]	0 [0–0]	0.175
Amount of red blood cell concentrate [IQR] - ml	0 [0–0]	0 [0–0]	0 [0–0]	0.100
Amount of fresh frozen plasma [IQR] - ml	0 [0–0]	0 [0–0]	0 [0–0]	0.345
Blood loss [IQR] - ml	200 [50–400]	150 [50–400]	250 [50–500]	0.260
Urinary output [IQR] - ml	350 [20–720]	300 [0–785]	445 [150–621]	0.182
Catecholamine therapy				
Cumulative amount of norepinephrine [IQR] - µg	178 [0–554]	83 [0–436]	261 [4–784]	<b>0.007</b>
Cumulative amount of epinephrine [IQR] - µg	0 [0–0]	0 [0–0]	0 [0–0]	0.175
Perioperative Hypotension				
Incidence - no. (%)	176 (88.4)	114 (88.4)	62 (89.0)	0.966
Absolute duration [IQR] - min	14.6 [3.8–28.3]	15.7 [3.3–29.2]	13.8 [5.8–27.6]	0.786
Relative duration [IQR] - %	6.7 [1.9–13.5]	6.8 [1.9–13.6]	6.7 [2.1–12.2]	0.938
AUC [IQR] – min × mmHg	60.7 [11.5–168.6]	58.8 [10.5–167.0]	62.9 [20.2–180.4]	0.655
Relative AUC [IQR] – min × mmHg/%	25.5 [6.2–73.9]	24.4 [4.7–71.0]	28.2 [9.4–84.6]	0.624

Hypotension was defined as mean arterial pressure < 65 mmHg. Abbreviations: AUC=area under the curve

higher rates of ADHF (20.1% vs. 4.0%,  $p < 0.001$ ), AKI (39.8% vs. 8.3%,  $p < 0.001$ ), infection (46.3% vs. 24.4%,  $p = 0.001$ ), and cardiac rehospitalisation (4.4% vs. 0.0%,  $p = 0.018$ ) in the patients with NT-proBNP > 450 pg/ml. A significantly higher incidence of postoperative

AKI was reported from all stages of AKI (Table 3). The median dose of intravenous diuretics administered was significantly higher ( $p < 0.001$ ) and the length of intensive care unit and hospital stays were significantly longer (both  $p < 0.001$ ) in patients with elevated NT-proBNP.



**Fig. 2** Individual components of the primary endpoint. Among the individual components of the composite morbidity endpoint, significantly higher cumulative event rates of **A** acute decompensated heart failure (ADHF), **B** acute kidney injury, and **C** any bacterial infection were observed in patients with preoperative NT-proBNP > 450 pg/ml. Although the incidence of **D** any rehospitalisation was comparable among groups, there was a higher rate of **E** cardiac rehospitalisation in patients with NT-proBNP > 450 pg/ml. However, **F** overall mortality at postoperative 30 remained comparable among groups. \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \* $p < 0.05$ ; n.s. = not significant

**Table 3** Kaplan-Meier event rates through 30-day follow-up, use of intravenous diuretics and length of stays

	Total (n = 199)	NT-proBNP ≤ 450 pg/ml (n = 129)	NT-proBNP > 450 pg/ml (n = 70)	p
Composite Morbidity Endpoint - no. (%)	90 (45.9)	41 (32.4)	49 (70.7)	<0.001
Any rehospitalisation - no. (%)	23 (11.9)	11 (8.8)	12 (17.7)	0.056
Cardiac rehospitalisation - no. (%)	3 (1.6)	0 (0.0)	3 (4.4)	0.018
Acute decompensated heart failure - no. (%)	19 (9.7)	5 (4.0)	14 (20.1)	<0.001
Acute kidney injury - no. (%)	36 (19.4)	10 (8.3)	26 (39.8)	<0.001
Stage 1 - no. (%)	26 (14.4)	8 (6.7)	18 (29.8)	<0.001
Stage 2 - no. (%)	5 (2.8)	1 (0.8)	4 (6.9)	0.026
Stage 3 - no. (%)	5 (2.8)	1 (0.9)	4 (6.3)	0.025
Any bacterial infection - no. (%)	63 (32.1)	31 (24.4)	32 (46.3)	0.001
Pneumonia - no. (%)	8 (4.6)	2 (1.6)	6 (10.9)	0.011
Abdominal infection - no. (%)	13 (7.1)	10 (8.1)	3 (4.9)	0.433
Urinary tract infection - no. (%)	13 (7.8)	6 (5.4)	7 (13.0)	0.089
Wound infection - no. (%)	8 (4.9)	5 (4.8)	3 (4.5)	0.717
Other - no. (%)	21 (12.4)	8 (7.1)	13 (22.9)	0.003
Further morbidity measures				
Myocardial infarction - no. (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1.0
Wound healing disturbance - no. (%)	10 (5.2)	5 (4.0)	5 (7.4)	0.312
Mortality - no. (%)	4 (2.0)	1 (0.8)	3 (4.3)	0.094
Cardiac - no. (%)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (1.5)	0.169
Postoperative diuretics				
Postoperative diuretics [IQR] - mg/d*	0.0 [0.0–1.4]	0.0 [0.0–0.0]	0.10 [0.0–5.9]	<0.001
Length of stays				
ICU stay [IQR] - d	0.9 [0.0–1.3]	0.8 [0–1.1]	1.1 [0.8–3.5]	<0.001
Hospital stay [IQR] - d	10 [6–17]	0.8 [6–13]	15 [8–21]	<0.001

Abbreviations: ICU=intensive care unit; \*daily furosemide equivalent dose

Conversely, perioperative myocardial infarction (0.0% in both groups), wound healing disturbances (4.0% vs. 7.4%,  $p=0.312$ ), and cardiac mortality (1.5% vs. 0.0%,  $p=0.169$ ) were comparable between the groups. One patient with preoperative NT-proBNP > 450 pg/ml and pre-existing metastasised urothelial carcinoma died due to respiratory insufficiency caused by ADHF and pleural effusion on POD 14. All the other deaths observed in our study occurred due to non-cardiac causes, and the higher rate of any bacterial infections in patients with NT-proBNP > 450 pg/ml was mainly due to a significant higher incidence of postoperative pneumoniae (10.9% vs. 1.6%,  $p=0.011$ ) and infections from other reasons (22.9% vs. 7.1%,  $p=0.003$ ; Table 3).

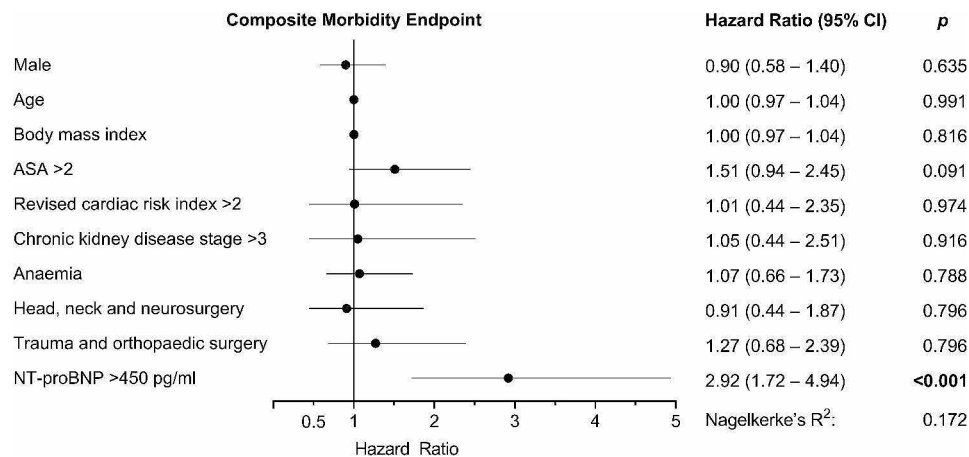
### Prognostic analysis

A Cox regression model was created including the NT-proBNP cut-off of 450 pg/ml and predetermined clinically relevant cut-offs which were selected a priori, including the ASA classification, the revised cardiac risk index, chronic kidney disease, and preoperative anaemia. All 199 patients with a total of 90 events were included, and the model was adjusted for sex, age, body mass index, and type of surgery. The multivariable model revealed that NT-proBNP > 450 pg/ml was an independent

predictor of the CME at POD 30 (hazard ratio 2.92 [1.72–4.94],  $p<0.001$ ). ASA classification > 2, revised cardiac risk index > 2, chronic kidney disease stage > 3, and anaemia were unable to predict the CME (Fig. 3).

### Discussion

The findings of our monocentric observational study suggest that an NT-proBNP cut-off of 450 pg/ml can be used to estimate postoperative morbidity risk after major non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk in patients older than 65 years. Therefore, the calculated and clinically adjusted cut-off value, derived from point-of-care testing, is a parameter that detects patients at high risk for postoperative morbidity, which could be used in further trials to trigger distinct treatment interventions. Although postoperative mortality was comparable among the groups in our study, which is likely due to the limited sample size, short-term observation period, and the exclusion of non-elective surgeries, an overall broad study population was included. Our study showed that morbidity measures should also be considered when perioperative risk is assessed by NT-proBNP measurement, because we found a large burden of AKI, ADHF, and infections in patients with preoperative NT-proBNP > 450 pg/ml which resulted in overall prolonged



**Fig. 3** Multivariable Cox regression analysis. Forest plot hazard ratios and their respective 95% confidence intervals (CI) in multivariable Cox regression analysis for association with the composite morbidity endpoint composed of rehospitalisation, acute decompensated heart failure, acute kidney injury, and any suspected or proven bacterial infection that required treatment. ASA = American Society of Anesthesiologists

ICU and hospital length of stays. Interestingly, the majority of the observed CME events occurred during the first 3 days after non-cardiac surgery.

Based on our results, it could be hypothesized that a relevant fraction of patients older than 65 years undergoing non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk might suffer from undiagnosed chronic HF and congestion, which could be detected with preoperative biomarker screening. However, NT-proBNP levels are known to interfere with other factors, such as weight, sex, and renal function. In general, NT-proBNP is a sensitive and specific parameter when patients are evaluated for chronic HF. Therefore, according to the current ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic HF, and besides the preoperative setting, chronic HF is unlikely in patients younger than 50 years with NT-proBNP < 125 pg/ml [1]. However, it must be noted that the rule-in cut-offs for chronic HF are adjusted by age, and chronic HF is likely for NT-proBNP levels  $\geq 250$  pg/ml in patients aged 50 to 75 years and  $\geq 500$  pg/ml in patients older than 75 years [21]. Although availability of preoperative echocardiography was limited in our analysis, the differences in the evaluated parameters suggest a higher prevalence of pathological findings in patients with NT-proBNP > 450 pg/ml. Furthermore, a new condition termed 'heart stress' has recently been introduced for patients with cardiovascular risk factors and elevated natriuretic peptides, who do not present with clinical symptoms of HF [21].

The results of our study are in line with the findings of Gualandro et al., who reported a 51% rate of de novo HF in patients with postoperative ADHF. In our cohort, more than 75% of patients with an NT-proBNP level above the calculated threshold had no prior history of HF that could be detected at the preoperative anaesthesiologic visit [14].

Interestingly, although differences in various clinical baseline characteristics were detected, NT-proBNP outweighed other parameters and risk indices, such as the ASA classification and revised cardiac risk index, in the multivariable Cox regression model. Therefore, the evaluation of preoperative NT-proBNP might enhance the predictive value of the preoperative anaesthesiologic visit. To date, established risk scores and predictive models considering surgical risk in the current guidelines have foremost focused on major adverse cardiovascular events, like cardiac death and myocardial injury or infarction [6, 12, 22]. Therefore, it is plausible why established risk estimation measures, such as the ASA classification and the revised cardiac risk index, could not predict postoperative morbidity in the multivariable model when compared to the NT-proBNP cut-off. Consequently, biomarkers like NT-proBNP could cover a wider range of outcome measures compared with clinical risk scores, which have been validated for certain specific endpoints. Nonetheless, none of the established risk scores include preoperative biomarker measurements, and no clinically applicable combination of modified risk scores, including biomarkers, is available [6]. However, evidence has emerged that biomarkers can enhance predictive models based on clinical risk scores [11, 23]. Predictive models for major adverse cardiovascular events and myocardial injury or infarction improve with the addition of NT-proBNP or high-sensitivity cardiac troponin to the revised cardiac risk score in patients undergoing major non-cardiac surgery [24, 25]. The calculated sensitivity of NT-proBNP in predicting the CME was relatively low in our study, while specificity was considerably greater when the cut-off of 450 pg/ml was chosen. Therefore, clinical risk scores with high sensitivity could prompt preoperative biomarker testing with high specificity, resulting in an overall increased predictivity of

postoperative morbidity compared to either biomarker testing or a clinical risk score alone. NT-proBNP might be particularly suitable, as a high negative predictive value was observed when used as a 'rule-out' test [25].

It is striking that most of the events that occurred during the postoperative hospital stay occurred within the first PODs in our cohort, as most patients were still receiving comprehensive hospital care during that period. Because other studies reported similar observations, it appears that the current standard of postoperative surgical care may not fully address potential HF-related postoperative complications [11, 14, 26]. In addition, the timing of postoperative adverse events suggests that future optimised perioperative treatment protocols should begin in the preoperative setting. However, limited single preoperative interventions without dedicated peri- and postoperative adapted management strategies did not improve outcomes in previous studies. Routine preoperative echocardiography, cardiopulmonary exercise testing, or the perioperative administration of increased fractions of inspired oxygen did not improve patient outcomes [27–29]. Therefore, future efforts should focus on combining preoperative biomarker screening with peri- and postoperative treatment optimisation. In our study, patients with elevated NT-proBNP had lower Hb compared with patients with NT-proBNP below the cut-off value, suggesting that preoperative anaemia treatment should be expanded according to the current guidelines. However, despite the association between preoperative anaemia and postoperative ADHF, it could not predict our combined endpoint in the Cox regression model, which could be due to the limited sample size or selection of endpoint events [14]. Furthermore, it may be more effective to diagnose and subsequently treat preoperatively diagnosed *de novo* HF or optimise medications in patients with chronic congestion. Therefore, in patients with abnormalities in preoperative cardiac biomarkers, systematic cardiologic evaluation, including echocardiographic assessment, should be performed in accordance with the current guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic HF [1]. Herein, HF with preserved ejection fraction (HFpEF) may require particular attention, because the echocardiographic findings of our study and others suggest that HFpEF is the dominant phenotype of HF first diagnosed during the perioperative period [14].

Although all procedures were elective in our study, not every intervention, such as oncological and trauma surgery, could be postponed until newly diagnosed HF workup was complete. Therefore, optimisation strategies should include the intraoperative period. Our data suggest that routine intraoperative anaesthesiologic management of patients with elevated NT-proBNP requires the administration of higher cumulative doses

of norepinephrine to maintain a sufficient mean arterial pressure to effectively prevent perioperative hypotension. Therefore, the higher incidence of AKI in patients with elevated NT-proBNP above the defined threshold could not be attributed to perioperative hypotension, although AKI is generally associated with intraoperative hypotension [30]. Potential mechanisms leading to the high incidence of AKI in our study are the well-known as complex interactions of cardiac function and renal function, which are also expressed by the higher prevalence of chronic kidney disease in patients with NT-proBNP > 450 pg/ml [31].

Fluid administration was comparable between the groups in our study. This leads us to the question whether pre-existing fluid overload - which was most likely present preoperatively, as indicated by elevated NT-proBNP as a marker of cardiac filling pressure - was further aggravated by "liberal" fluid administration. Despite these established implications in HF patients, there is an association between high fluid volumes administered during surgeries and prolonged hospital stays and an increased incidence of postoperative ileus following rectal and colon surgery [32]. Therefore, goal-directed intraoperative haemodynamic therapy, where fluid boluses are guided by haemodynamic parameters, might be beneficial in patients with elevated preoperative NT-proBNP. Goal-directed therapy algorithms guarantee that intraoperative fluid therapy is guided by cardiac stroke volume or dynamic preload parameters, such as pulse pressure variation and stroke volume variation, which predict fluid responsiveness [33]. In general, previous studies have provided evidence that goal-directed therapy can reduce the incidence of postoperative complications after major surgery [34].

Furthermore, because most events occurred in-hospital during the postoperative period, structured complication monitoring should be established during this period. Screening for signs of postoperative complications on surgical wards could reduce postoperative HF complications. HF screening can be effectively performed by specialised HF nurses, a practice that has been shown to reduce HF-related mortality and rehospitalisation in outpatient settings [35].

In summary, preoperative patient evaluation including the use of natriuretic peptide screening has the potential to identify patients at risk of multiple complications. Because single interventions have not yet convincingly demonstrated a clinical benefit in at-risk patients, a novel comprehensive interdisciplinary perioperative medical team approach, including anaesthesiologists, specialist surgeons, and cardiologists, guiding optimal treatment of the patient throughout the hospital stay, should be evaluated in future studies [6, 14].

The following limitations of our study must be acknowledged. First, the sample size was limited to 200 consecutive and elective patients undergoing surgery in general anaesthesia. Therefore, further large-scale studies with independent patient datasets are needed to validate the suggested NT-proBNP cut-off of 450 pg/ml. However, the cut-off may be suitable for use in randomised interventional trials as it can discriminate high CME event rates. Preoperative differences in echocardiographic findings between the two groups must be interpreted with caution as the overall availability of echocardiographic parameters was limited. Second, no interventions or specific perioperative protocol regulating laboratory testing at distinct time points were used due to the observational nature of the study. Therefore, clinical events may have been underestimated when clinical parameters were not measured at the same time points; in contrast, more frequent testing in one group may lead to increased detection of clinically silent events, such as first-degree AKI. There is no evidence that the latter occurred in our study because postoperative treatment was left entirely to the surgeons' discretion, and they were unaware of the prospective biomarker study. Third, the surgical risk stratification (according to the current guidelines) we used as inclusion criteria might have been insufficient, because this risk stratification only relates to the risk of cardiovascular death, myocardial infarction, and stroke [6]. Moreover, other types of surgery that were not classified as intermediate or high risk may be relevant but were not addressed in this study. Finally, the definition of ADHF used in our study was derived from clinical parameters. Because of the observational nature of our study, patients suffering from postoperative ADHF did not undergo standardized echocardiography at this time. Therefore, left ventricular dysfunction with elevated filling pressures could not be proven, and other reasons for the occurrence of the clinical endpoint ADHF, such as hyperhydration, hypertensive pulmonary oedema, cessation of HF medication, or new-onset atrial fibrillation with tachyarrhythmia, might have also been relevant. Finally, it is possible that elevated NT-proBNP was not only a sign of cardiac dysfunction in our study but also selected pre-existing multimorbid patients within the elevated NT-proBNP cohort who were generally at a special risk for postoperative morbidity measures, such as AKI and infection.

## Conclusions

In conclusion, the findings of our monocentric observational study undergoing major non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk suggests the effectiveness of an easily implementable preoperative NT-proBNP cut-off of 450 pg/ml in patients older than 65 years to predict postoperative morbidity. Preoperative

NT-proBNP was more effective than established risk scores, including the revised cardiac risk index and ASA classification. Further studies should focus on interdisciplinary approaches to improve postoperative morbidity through interventions in the preoperative, intraoperative, and postoperative periods.

## Abbreviations

ADHF	Acute decompensated heart failure
AKI	Acute kidney injury
ASA	American Society of Anesthesiologists
BNP	Brain natriuretic peptide
CME	Composite morbidity endpoint
eGFR	Estimated glomerular filtration rate
ESC	European Society of Cardiology
Hb	Haemoglobin
HF	Heart failure
HFpEF	Heart failure with preserved ejection fraction
NT	ProBNP-N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide
POD	Postoperative day
ROC	Receiver operating characteristic

## Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s12871-024-02488-8>.

Supplementary Material 1

## Author contributions

Conceptualization: Birgit Aßmus, Michael Sander, Götz Schmidt, Marit Habicher, Emmanuel Schneck, Christian Koch; Methodology: Götz Schmidt, Nora Frieling, Kerstin Rubarth, Felix Balzer; Formal analysis and investigation: Marit Habicher, Emmanuel Schneck, Christian Koch, Nora Frieling, Götz Schmidt, Kerstin Rubarth, Felix Balzer; Funding acquisition: Birgit Aßmus, Michael Sander. The first draft of the manuscript was written by Götz Schmidt and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

## Funding

This work was supported by the Innovationsfonds of the Gemeinsamer Bundesausschuss [grant number 01NVF21071]. Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

## Data availability

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

## Declarations

### Ethics approval and consent to participate

Ethical approval for this study (AZ 263/21) was provided by the local ethics committee of the medical faculty of the Justus-Liebig-University, Giessen, Germany on 10 January 2022, and this trial was registered with the German Clinical Trials Register (DRKS00027871). All methods were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations (Declaration of Helsinki and international and national standards/regulations). According to the observational nature of the entire study and subsequent data anonymisation, written informed consent to participate was waived by the ethics committee of the medical faculty of the Justus-Liebig-University, Giessen, Germany on 10 January 2022 (AZ 263/21).

### Consent for publication

Not applicable.

### Competing interests

The authors declare no competing interests.

## Author details

<sup>1</sup>Department of Anaesthesiology, Operative Intensive Care Medicine and Pain Therapy, Justus Liebig University Giessen, Rudolf-Buchheim-Strasse 7, 35392 Giessen, Germany

<sup>2</sup>Institute of Medical Informatics, Charité – Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin and Humboldt-Universität zu Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany

<sup>3</sup>Department of Cardiology and Angiology, Justus Liebig University of Giessen, Klinikstrasse 33, 35392 Giessen, Germany

Received: 28 January 2024 / Accepted: 11 March 2024

Published online: 23 March 2024

## References

- McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2021;42:3599–726. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>
- Gerber Y, Weston SA, Redfield MM, Chamberlain AM, Manemann SM, Jiang R, et al. A contemporary appraisal of the heart failure epidemic in Olmsted County, Minnesota, 2000 to 2010. *JAMA Intern Med*. 2015;175:996–1004. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2015.0924>
- Shah KS, Xu H, Matsouka RA, Bhatt DL, Heidenreich PA, Hernandez AF, et al. Heart failure with preserved, Borderline, and reduced ejection fraction: 5-Year outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70:2476–86. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.08.074>
- Groenewegen A, Rutten FH, Mosterd A, Hoes AW. Epidemiology of heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2020;22:1342–56. <https://doi.org/10.1002/ehfj.1858>
- Sabaté S, Mases A, Guilerá N, Canet J, Castillo J, Orrego C, et al. Incidence and predictors of major perioperative adverse cardiac and cerebrovascular events in non-cardiac surgery. *Br J Anaesth*. 2011;107:879–90. <https://doi.org/10.1093/bja/aer268>
- Halvorsen S, Mehilil J, Cassese S, Hall TS, Abdelhamid M, Barbato E, et al. 2022 ESC guidelines on cardiovascular assessment and management of patients undergoing non-cardiac surgery. *Eur Heart J*. 2022. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac270>
- Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med*. 2004;350:655–63. <https://doi.org/10.1056/nejmoa031994>
- Patel UD, Garg AX, Krumholz HM, Shlipak MG, Coca SG, Sint K, et al. Preoperative serum brain natriuretic peptide and risk of acute kidney injury after cardiac surgery. *Circulation*. 2012;125:1347–55. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.029686>
- Payne CJ, Gibson SC, Bryce G, Jardine AG, Berry C, Kingsmore DB. B-type natriuretic peptide predicts long-term survival after major non-cardiac surgery. *Br J Anaesth*. 2011;107:144–9. <https://doi.org/10.1093/bja/aer119>
- Choi JH, Cho DK, Song YB, Hahn JY, Choi S, Gwon HC, et al. Preoperative NT-proBNP and CRP predict perioperative major cardiovascular events in non-cardiac surgery. *Heart*. 2010;96:56–62. <https://doi.org/10.1136/hrt.2009.181388>
- Duceppe E, Patel A, Chan MTV, Berwanger O, Ackland G, Kavsak PA, et al. Preoperative n-terminal pro-b-type natriuretic peptide and cardiovascular events after noncardiac surgery: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2020;172:96–104. <https://doi.org/10.7326/M19-2501>
- Rodseth RN, Biccard BM, Le Manach Y, Sessler DI, Lurati Buse GA, Thabane L, et al. The prognostic value of pre-operative and post-operative B-type natriuretic peptides in patients undergoing noncardiac surgery: B-type natriuretic peptide and N-terminal fragment of pro-B-type natriuretic peptide: a systema. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:170–80. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.08.1630>
- Duceppe E, Parlow J, MacDonald P, Lyons K, McMullen M, Srinathan S, et al. Canadian cardiovascular society guidelines on perioperative cardiac risk assessment and management for patients who undergo noncardiac surgery. *Can J Cardiol*. 2017;33:17–32. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2016.09.008>
- Gualandro DM, Puelacher C, Chew MS, Andersson H, Lurati Buse G, Glarner N, et al. Acute heart failure after non-cardiac surgery: incidence, phenotypes, determinants and outcomes. *Eur J Heart Fail*. 2023;25:347–57. <https://doi.org/10.1002/ehfj.2773>
- Marchandot B, Trimaille A, Morel O. Letter regarding the article 'acute heart failure after non-cardiac surgery: incidence, phenotypes, determinants and outcomes'. *Eur J Heart Fail*. 2023. <https://doi.org/10.1002/ehfj.2812>
- Safiri S, Kolahi AA, Noori M, Nejadghaderi SA, Karamzad N, Bragazzi NL, et al. Burden of anemia and its underlying causes in 204 countries and territories, 1990–2019: results from the global burden of disease study 2019. *J Hematol Oncol*. 2021;14:1–16. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01202-2>
- Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron - Clin Pract*. 2012. <https://doi.org/10.1159/000339789>
- Walther CP, Podoll AS, Finkel KW. Summary of clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Hosp Pract (1995)*. 2014;42:7–14. <https://doi.org/10.3810/hp.2014.02.1086>
- Januzzi JL, Van Kimmenade R, Lainchbury J, Bayes-Genis A, Ordonez-Llanos J, Santalo-Bel M, et al. NT-proBNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure: an international pooled analysis of 1256 patients: the international collaborative of NT-proBNP study. *Eur Heart J*. 2006;27:330–7. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehi631>
- Mueller C, McDonald K, de Boer RA, Maisel A, Cleland JGF, Kozuharov N, et al. Heart failure association of the European Society of Cardiology practical guidance on the use of natriuretic peptide concentrations. *Eur J Heart Fail*. 2019;21:715–31. <https://doi.org/10.1002/ehfj.1494>
- Bayes-Genis A, Docherty KF, Petrie MC, Januzzi JL, Mueller C, Anderson L, et al. Practical algorithms for early diagnosis of heart failure and heart stress using NT-proBNP: a clinical consensus statement from the Heart Failure Association of the ESC. *Eur J Heart Fail*. 2023;25:1891–8. <https://doi.org/10.1002/ehfj.3036>
- Karthikeyan G, Muncur RA, Levine O, Heels-Ansdell D, Chan MTV, Alonso-Coello P, et al. Is a pre-operative brain natriuretic peptide or N-Terminal Pro-B-Type natriuretic peptide measurement an independent predictor of adverse cardiovascular outcomes within 30 days of noncardiac surgery? A systematic review and meta-analysis of observational. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:1599–606. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.06.028>
- Park SJ, Choi JH, Cho SJ, Chang SA, Choi JO, Lee SC, et al. Comparison of trans-thoracic echocardiography with N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a tool for risk stratification of patients undergoing major noncardiac surgery. *Korean Circ J*. 2011;41:505–11. <https://doi.org/10.4070/kcj.2011.41.9.505>
- Vernooij LM, van Klei WA, Moons KGM, Takada T, van Waes J, Damen JAAG. The comparative and added prognostic value of biomarkers to the revised cardiac risk index for preoperative prediction of major adverse cardiac events and all-cause mortality in patients who undergo noncardiac surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2021. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013139.pub2>
- Kopec M, Duma A, Helwani MA, Brown J, Brown F, Gage BF, et al. Improving prediction of postoperative myocardial infarction with high-sensitivity cardiac troponin T and NT-proBNP. *Anesth Analg*. 2017;398–405. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000001736>
- Lin KY, Wu ZY, You Z, Bin, Zheng WP, Lin CJ, Jiang H, et al. Pre-procedural N-terminal Pro-B type natriuretic peptide predicts contrast-induced acute kidney injury and long-term outcome in elderly patients after elective percutaneous coronary intervention. *Int Heart J*. 2018;59:926–34. <https://doi.org/10.1536/ihj.17-573>
- Reiterer C, Kabon B, Taschner A, Falkner von Sonnenburg M, Graf A, Adamowitsch N, et al. Perioperative supplemental oxygen and NT-proBNP concentrations after major abdominal surgery – a prospective randomized clinical trial. *J Clin Anesth*. 2021;73:110379. <https://doi.org/10.1016/j.jclinane.2021.110379>
- Wijesundera DN, Beattie WS, Karkouti K, Neuman MD, Austin PC, Laupacis A. Association of echocardiography before major elective non-cardiac surgery with postoperative survival and length of hospital stay: population based cohort study. *BMJ*. 2011;343. <https://doi.org/10.1136/bmj.d3695>
- Young EL, Karthikesalingam A, Huddart S, Pearse RM, Hincliffe RJ, Loftus IM, et al. A systematic review of the role of cardiopulmonary exercise testing in vascular surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2012;44:64–71. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2012.03.022>
- Gu WJ, Hou BL, Kwong JSW, Tian X, Qian Y, Cui Y, et al. Association between intraoperative hypotension and 30-day mortality, major adverse cardiac events, and acute kidney injury after non-cardiac surgery: a meta-analysis of cohort studies. *Int J Cardiol*. 2018;258:68–73. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.01.137>
- Gallo G, Lanza O, Savoia C. New insight in cardiorenal syndrome: from biomarkers to therapy. *Int J Mol Sci*. 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24065089>
- Thacker JKM, Mountford WK, Ernst FR, Krukus MR, Mythen MG. Perioperative fluid utilization variability and association with outcomes: considerations

- for enhanced recovery efforts in sample US surgical populations. *Ann Surg.* 2016;263:502–10. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001402>
33. Miller TE, Myles PS. Perioperative fluid therapy for major surgery. *Anesthesiology.* 2019;130:825–32. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002603>
34. Som A, Maitra S, Bhattacharjee S, Baidya DK. Goal directed fluid therapy decreases postoperative morbidity but not mortality in major non-cardiac surgery: a meta-analysis and trial sequential analysis of randomized controlled trials. *J Anesth.* 2017;31:66–81. <https://doi.org/10.1007/s00540-016-2261-7>
35. Blue L, Lang E, McMurray JJV, Davie AP, McDonagh TA, Murdoch DR, et al. Randomised controlled trial of specialist nurse intervention in heart failure. *Br Med J.* 2001;323:715–8. <https://doi.org/10.1136/bmj.323.7315.715>

### **Publisher's Note**

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**6.2. Comparison of preoperative NT-proBNP and simple cardiac risk scores for predicting postoperative morbidity after non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk**

RESEARCH

Open Access



# Comparison of preoperative NT-proBNP and simple cardiac risk scores for predicting postoperative morbidity after non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk

Götz Schmidt<sup>1\*</sup>, Nora Frieling<sup>1</sup>, Emmanuel Schneck<sup>1</sup>, Marit Habicher<sup>1</sup>, Christian Koch<sup>1</sup>, Birgit Aßmus<sup>2†</sup> and Michael Sander<sup>1†</sup>

## Abstract

**Background** Chronic heart failure (HF) is frequent in elderly patients undergoing non-cardiac surgery. Preoperative risk stratification is vital and can be achieved using simple clinical risk scores or preoperative N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide (NT-proBNP) measurement. This study aimed to compare the predictivity of the revised cardiac risk index (RCRI), the American University of Beirut cardiovascular risk index (AUB-HAS2), and a score proposed by Andersson et al. for postoperative 30-day morbidity to preoperative NT-proBNP.

**Methods** Preoperative NT-proBNP was measured in 199 consecutive patients aged  $\geq 65$  years undergoing elective non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk. The areas under the receiver operating characteristic curve (AUCROC) for the composite morbidity endpoint (CME) comprising the incidence of any rehospitalisation, acute decompensated HF, acute kidney injury, and any infection at postoperative day 30 were assessed. Multivariable logistic regression analysis derived new scores from the simple risk scores and the NT-proBNP cut-off of 450 pg/mL.

**Results** AUB-HAS2, but not RCRI or Andersson score, significantly predicted the CME (AUB-HAS2: AUCROC 0.646,  $p < 0.001$ ; RCRI: AUCROC 0.560,  $p = 0.126$ ; Andersson: AUCROC 0.487,  $p = 0.760$ ). The AUCROC was comparable between preoperative NT-proBNP (0.679,  $p < 0.001$ ) and AUB-HAS2 ( $p = 0.334$ ). Multivariable analyses revealed a preoperative NT-proBNP  $\geq 450$  pg/mL to be the strongest predictor of CME among the individual score components ( $p < 0.001$ ). Adding preoperative NT-proBNP improved the predictive value of AUB-HAS2 and RCRI (modified AUB-HAS2: AUCROC 0.703,  $p < 0.001$ ; modified RCRI: AUCROC 0.679,  $p < 0.001$ ; both  $p < 0.001$  vs original scores). The predictive value of the modified RCRI and AUB-HAS2 was comparable to preoperative NT-proBNP alone ( $p = 0.988$  vs modified RCRI,  $p = 0.367$  vs modified AUB-HAS2).

**Conclusions** The predictive value of postoperative morbidity varies significantly between the available simple perioperative risk scores and can be enhanced by preoperative NT-proBNP. New scores, including preoperative NT-proBNP, should be evaluated in large multicentre cohorts.

<sup>†</sup>Birgit Aßmus and Michael Sander contributed equally and share senior authorship.

\*Correspondence:

Götz Schmidt

Goetz.F.Schmidt@chiru.med.uni-giessen.de

Full list of author information is available at the end of the article



**Trial registration** German Clinical Trials Register: DRKS00027871.

**Keywords** Revised cardiac risk index, AUB-HAS2, Brain natriuretic peptide, Perioperative, Rehospitalisation, Acute kidney injury, Acute decompensated heart failure

## Background

Chronic heart failure (HF) is frequent in ageing populations and is associated with reduced quality of life and increased morbidity and mortality (McDonagh et al. 2021; Gerber et al. 2015; Shah et al. 2017). The general prevalence of chronic HF is estimated at 1 to 2% but is markedly higher in populations aged > 65 years, where it affects 10% of patients (Groenewegen et al. 2020). Therefore, elderly patients requiring major non-cardiac surgery are at particular risk of cardiovascular complications, such as acute decompensated HF (ADHF), infections, acute kidney injury (AKI), and death (Farzi et al. 2013; Schmidt et al. 2024). A recent prospective observational study reported a 2.5% rate of postoperative ADHF among 9164 patients. One striking finding of this study was that 51% of postoperative ADHF occurred in patients without a known history of HF (Gualandro et al. 2023). Therefore, risk stratification and detection of potential unknown HF and congestion are critical in the preoperative setting to apply risk-mitigating strategies to prevent postoperative complications in this vulnerable population. However, with standard tools, detecting and assessing unknown but compensated HF only via physical examination in the preoperative anaesthesiologic visit might be challenging, if not impossible.

Therefore, current European Society of Cardiology (ESC) guidelines on cardiovascular assessment and management in patients undergoing non-cardiac surgery recommend obtaining an accurate patient history, including a focused clinical examination; however, further risk stratification measures are also proposed (Halvorsen et al. 2022). For example, the 30-day risk for cardiovascular death, stroke, and myocardial infarction can be estimated solely from the surgery type, which is 1–5% and >5% for surgeries with intermediate or high risk, respectively. In the 2022 ESC guidelines, measuring cardiac biomarkers in patients aged > 65 years, such as high-sensitivity cardiac troponin T/I and brain natriuretic peptides (BNP) or its precursor N-terminal prohormone of BNP (NT-proBNP), has emerged as a class I or II recommendation, respectively. Since NT-proBNP showed good predictivity and risk stratification in chronic and acute HF populations, it might be particularly suited to identify patients with HF, which could then be preoperatively optimised (McDonagh et al. 2021).

Moreover, patients with chronic HF undergoing non-cardiac surgery showed much higher mortality and

hospital readmission rates at 30 days than patients without HF or with chronic coronary syndrome (Halvorsen et al. 2022; Lee et al. 1999). Furthermore, current guidelines state that clinical risk scores, most of which include both patient-related and surgery-related risk factors, can also be considered when assessing the perioperative risk of an elderly patient undergoing major non-cardiac surgery (Halvorsen et al. 2022). However, the current guidelines do not recommend a specific risk score, because none can be regarded as a gold standard compared to others based on current evidence (Halvorsen et al. 2022).

Simple risk scores are calculated by summing a numeric value for each score criterion met. For example, the revised cardiac risk index (RCRI) was introduced in 1999 and is calculated from the presence of chronic HF, coronary artery disease, cerebrovascular disease, insulin therapy, preoperative serum creatinine > 2 mg/dL, and high-risk surgery type, which is defined as intraperitoneal, intrathoracic, or suprainguinal vascular surgery (Lee et al. 1999). The RCRI has been validated in various studies and showed moderate predictivity for the risk of cardiac death, myocardial infarction, and nonfatal cardiac arrest in patients undergoing non-cardiac surgery (Ford et al. 2010).

Andersson et al. proposed a new risk score in 2014 to predict 30-day mortality in patients with HF undergoing non-cardiac surgery, which included sex, age, body mass index, acute surgery, insulin therapy, renal disease, cerebrovascular disease, and high-risk procedure, which was defined according to the RCRI definition (Andersson et al. 2014). In 2019, Dakik et al. introduced the American University of Beirut Cardiovascular Risk Index (AUB-HAS2), which is calculated based on age ≥ 75 years; history of heart disease, angina, or dyspnoea; haemoglobin < 12 g/dL; emergency surgery; and vascular surgery (Dakik et al. 2019a, 2019b). The primary outcome measure of the AUB-HAS2 is death, myocardial infarction, or stroke at 30 days.

In summary, while these three simple clinical risk scores all aim to predict perioperative outcomes, they mainly focus on myocardial infarction, cardiac arrest, and death (Halvorsen et al. 2022). None of the currently available clinical risk scores considers preoperative NT-proBNP testing for risk prediction, and none has been validated for clinically relevant postoperative morbidity measures, such as ADHF, AKI, and infections. Therefore, this study aimed to compare the predictive value of the

RCRI, AUB-HAS2, and Andersson scores with preoperative NT-proBNP for the postoperative 30-day morbidity in an observational non-cardiac and non-vascular surgery cohort. Additionally, we assessed whether the predictivity of these scores could be improved by adding a preoperative NT-proBNP cut-off into their respective score.

## Methods

### Study design

This study was a secondary analysis of a prospective, single-centre cohort study that aimed to evaluate patients' postoperative morbidity stratified by preoperative NT-proBNP after non-cardiac and non-vascular surgery with intermediate or high surgical risk (Schmidt et al. 2024). The study was approved by the local ethics committee of the Medical Faculty of Justus Liebig University, Gießen, Germany (approval number: AZ 263/21), and was performed according to the Declaration of Helsinki. Given its observational character and data anonymisation, written informed consent to participate was waived. This study was registered with the German Clinical Trials Register (ID: DRKS00027871; registration date: 17 January 2022). It prospectively enrolled 200 consecutive patients aged >65 years scheduled for elective non-cardiac non-vascular surgery in general anaesthesia with intermediate or high surgical risk according to the current ESC guidelines on cardiovascular assessment and management in patients undergoing non-cardiac surgery (Halvorsen et al. 2022). The inclusion criteria were elective intracranial, thoracic, head and neck, trauma and orthopaedic, or abdominal surgery, including visceral, urological, and gynaecological operations. Consequently, patients aged <65 years, undergoing cardiac or vascular surgery, or undergoing surgery with regional anaesthesia and emergency patients were excluded. Before the presurgical anaesthetic visit, NT-proBNP was measured in every patient using venous blood with a point-of-care immunoassay (proBNP+, cobas h 232; Roche Holding AG, Basel, Switzerland). Anaesthetic management and intra- and post-operative treatment were performed according to local institutional standards in compliance with the current guidelines.

### Data acquisition

Data were collected during the routine presurgical visit at the anaesthesia outpatient clinic. Baseline characteristics included age, sex, cardiovascular risk factors, history of chronic HF or myocardial infarction, and relevant comorbidities, such as peripheral artery disease, carotid artery stenosis, chronic obstructive pulmonary disease, pulmonary hypertension, stroke, and chronic kidney disease. These preoperatively recorded baseline

characteristics were used to calculate the RCRI, AUB-HAS2, and Andersson scores.

### Endpoints

The primary endpoint of the study was the composite morbidity endpoint (CME), comprising the incidence of any rehospitalisation, ADHF, AKI, and any suspected or proven bacterial infection requiring treatment after surgery until POD 30. Event rates were compared between patients with preoperative NT-proBNP  $\geq 450$  pg/mL and <450 pg/mL. The 450 pg/mL cut-off is described in detail elsewhere (Schmidt et al. 2024). AKI was defined according to the Kidney Disease: Improving Global Outcomes criteria, and ADHF was defined as the onset or worsening of shortness of breath and signs of congestion, including peripheral oedema, moist rales, and radiological signs of congestion or pleural effusion, requiring treatment (Walther et al. 1995). The predictive value of the RCRI, AUB-HAS2, and Andersson scores was evaluated in this secondary analysis.

### Statistical analysis

The RCRI, AUB-HAS2, and Andersson scores and their components were calculated and compared between patients stratified by the clinically implemented preoperative NT-proBNP cut-off. Categorical variables are presented as numbers and percentages and were compared between groups using the chi-squared or Fisher's exact test. Continuous variables are presented as medians and interquartile ranges and were compared between groups using the Mann–Whitney–Wilcoxon test. The correlations between preoperative NT-proBNP values and RCRI, AUB-HAS2, and Andersson scores were assessed using Spearman's rank correlation coefficient ( $r_s$ ) and classified as very weak ( $0 < r_s < 0.2$ ), weak ( $0.2 < r_s < 0.4$ ), moderate ( $0.4 < r_s < 0.6$ ), strong ( $0.6 < r_s < 0.8$ ), and very strong ( $r_s \geq 0.8$ ). Areas under the curve of the receiver operating characteristic (AUCROC) were calculated to determine the discriminatory power of preoperative NT-proBNP, RCRI, AUB-HAS2, and Andersson scores in predicting the CME and were compared using a  $z$ -test. Each optimal discriminatory level was identified according to Youden's index, and cut-offs are reported with their sensitivity and specificity. Multivariable logistic regression analysis was performed for the individual score components to identify independent predictors of the CME and assess their value in combination with the preoperative NT-proBNP cut-off. New scores were then derived from the simple risk scores using their components and preoperative NT-proBNP, where all components were weighted by their calculated odds ratios in the multivariable logistic regression models. Two-tailed  $p$ -values <0.05 were considered statistically significant.

Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics (version 28.0.0.1; IBM, Armonk, NY, USA).

## Results

### Baseline characteristics and scores

Baseline characteristics, including the RCRI, AUB-HAS2, and Andersson scores and their components, are shown in Table 1. Patients with preoperative NT-proBNP  $\geq 450$  pg/mL were significantly older than those with preoperative NT-proBNP  $< 450$  pg/mL and

had higher median RCRI and AUB-HAS2 scores (all  $p < 0.001$ ). However, Andersson scores were comparable between the two groups. Among the RCRI components, a history of chronic HF and coronary artery disease, preoperative insulin therapy, and serum creatinine  $> 2$  mg/dL were more frequently present in patients with preoperative NT-proBNP  $\geq 450$  pg/mL. All AUB-HAS2 components were more frequently observed in patients with preoperative NT-proBNP  $\geq 450$  pg/mL. Since our study did not include patients who underwent emergency or

**Table 1** Baseline characteristics and scores

Characteristics	Total (n = 199)	NT-proBNP $\leq 450$ pg/mL (n = 129)	NT-proBNP $> 450$ pg/mL (n = 70)	p
Patient characteristics				
Median age [IQR] — years	74 [69–81]	72 [68–77]	80 [74–83]	$< 0.001$
NT-proBNP [IQR] — pg/mL	277 [134–779]	173 [103–274]	1309 [730–2918]	$< 0.001$
Revised cardiac risk index				
Median revised cardiac risk index [IQR] — no	1 [0–2]	1 [0–1]	1 [1–2]	$< 0.001$
High-risk type of surgery — no. (%)	77 (38.7)	54 (41.9)	23 (32.9)	0.274
Chronic heart failure — no. (%)	21 (10.6)	4 (3.1)	17 (24.3)	$< 0.001$
Coronary artery disease — no. (%)	51 (25.6)	22 (17.1)	29 (25.6)	$< 0.001$
Cerebrovascular disease — no. (%)	21 (10.6)	10 (7.8)	11 (15.7)	0.133
Insulin therapy — no. (%)	23 (11.6)	10 (7.8)	13 (18.6)	0.041
Serum creatinine $> 2$ mg/dL — no (%)	13 (6.5)	1 (0.8)	12 (17.1)	$< 0.001$
American University of Beirut Cardiovascular Risk Index				
Median AUB-HAS2 score [IQR] — no	1 [0–2]	1 [0–1]	2 [2–3]	$< 0.001$
Age $\geq 75$ years — no. (%)	92 (46.2)	42 (32.6)	50 (71.4)	$< 0.001$
History of heart disease — no. (%)	77 (38.7)	27 (20.9)	50 (71.4)	$< 0.001$
Angina or dyspnoea — no. (%)	31 (15.6)	10 (7.8)	21 (30.0)	$< 0.001$
Haemoglobin $< 12$ g/dL — no. (%)	68 (34.2)	25 (19.4)	43 (61.4)	$< 0.001$
Emergency surgery — no. (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1.000
Vascular surgery — no. (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1.000
Andersson et al				
Median risk score [IQR] — no	9 [7–10]	9 [7–10]	8 [7–10]	0.777
Male — no. (%)	101 (50.8)	63 (48.8)	38 (54.3)	0.463
Age				
Age 56–65 years — no. (%)	7 (3.5)	4 (3.1)	3 (4.3)	0.698
Age 66–75 years — no. (%)	110 (55.3)	70 (54.3)	40 (57.1)	0.810
Age 76–85 years — no. (%)	71 (35.7)	50 (38.8)	21 (30.0)	0.282
Age $\geq 85$ years — no. (%)	11 (5.5)	5 (3.9)	6 (8.6)	0.289
Body mass index (BMI)				
Underweight — no. (%)	6 (3.0)	3 (2.3)	3 (4.3)	0.735
Normal weight — no. (%)	73 (36.7)	46 (35.7)	27 (38.6)	0.800
Overweight — no. (%)	80 (40.2)	52 (40.3)	28 (40.0)	1.000
Obese — no. (%)	40 (20.1)	28 (21.7)	12 (17.1)	0.561
Acute surgery — no. (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1.000
High-risk type of surgery — no. (%)	77 (38.7)	54 (41.9)	23 (32.9)	0.274
Renal disease — no. (%)	131 (65.8)	79 (61.2)	52 (74.3)	0.090
Cerebrovascular disease — no. (%)	21 (10.6)	10 (7.8)	11 (15.7)	0.133
Insulin therapy — no. (%)	23 (11.6)	10 (7.8)	13 (18.6)	0.041

vascular surgery, these criteria could not be met in this analysis. In contrast, despite the prevalence of preoperative insulin therapy, all Andersson risk score components were comparable between the two groups.

Preoperative NT-proBNP values were very weakly correlated with Andersson scores ( $r_s=0.176$ ), weakly correlated with RCRI scores ( $r_s=0.339$ ), and strongly correlated with AUB-HAS2 scores ( $r_s=0.635$ ; Supplemental Fig. 1).

### Predictive value of clinical risk scores and preoperative NT-proBNP

Preoperative NT-proBNP and AUB-HAS2 could predict the CME, while the AUCROC for the RCRI and Andersson scores did not reach statistical significance. The AUCROC, calculated cut-offs, and their specificity and sensitivity in predicting the CME and the individual components are shown in Fig. 1 and Table 2. The AUCROC was significantly larger for preoperative NT-proBNP than for the RCRI ( $p=0.008$ ) and Andersson score ( $p=0.001$ ) but did not differ statistically between preoperative NT-proBNP and AUB-HAS2 ( $p=0.334$ ). When the individual CME components were analysed, all scores and preoperative NT-proBNP failed to predict any rehospitalisation within our study's observation period. Furthermore, the Andersson score could not predict any individual CME component. However, RCRI could predict AKI but not infection and ADHF in our cohort. Preoperative NT-proBNP and AUB-HAS2 could predict AKI, infection, and ADHF, with the numerically largest AUCROC observed for preoperative NT-proBNP in predicting AKI and ADHF. The calculated optimal preoperative NT-proBNP cut-offs ranged from 443 pg/mL (CME) to 482 pg/mL (ADHF and infection), while RCRI and AUB-HAS2 scores  $>2$  showed the best discrimination for AKI, infection (AUB-HAS2 only), and ADHF. The highest sensitivity and specificity for CME, ADHF, and AKI were obtained with preoperative NT-proBNP, although the AUB-HAS2 showed the highest sensitivity in predicting postoperative infections. The AUCROC for AKI was significantly larger with preoperative NT-proBNP than with AUB-HAS2 ( $p=0.023$ ) but did not differ significantly between preoperative NT-proBNP and RCRI ( $p=0.255$ ). The AUCROC for ADHF ( $p=0.337$ ) and infections ( $p=0.739$ ) did not differ significantly between preoperative NT-proBNP and AUB-HAS2.

### Independent predictors of postoperative morbidity

Multivariable logistic regression models containing the individual score components and the clinically adjusted preoperative NT-proBNP cut-off of 450 pg/mL are shown in Fig. 2. Preoperative NT-proBNP  $>450$  pg/mL was the strongest independent predictor of CME in

each examined model. Furthermore, the original individual score components did not independently predict the CME when the strong predictor preoperative NT-proBNP was added to the respective model.

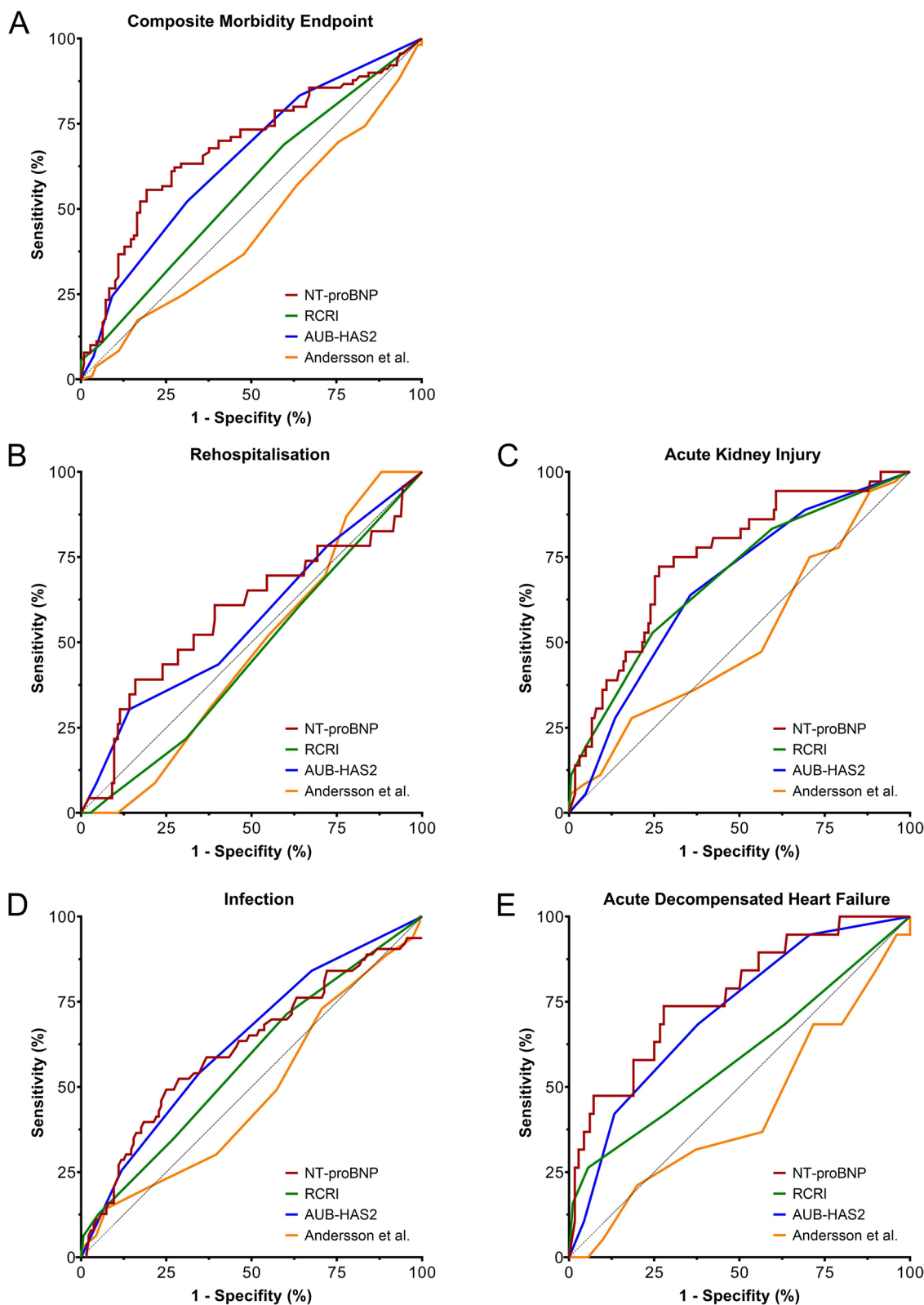
### Improving predictivity of clinical risk scores by adding the preoperative NT-proBNP cut-off

Based on the multivariable logistic regression models, new scores were created using the original score components and the preoperative NT-proBNP cut-off. Each component's influence was adjusted according to the respective multivariable model using its calculated odds ratio, with the components then summed to obtain the new scores. The formulas used to calculate these modified risk scores are shown in the *supplement*. Patients with preoperative NT-proBNP  $\geq 450$  pg/mL had higher optimised RCRI and AUB-HAS2 scores than those with preoperative NT-proBNP  $<450$  pg/mL (optimised RCRI: 1.05 [0.0–1.05] vs. 6.52 [5.41–7.69], optimised AUB-HAS2 0.6 [0.0–1.65] vs. 7.95 [6.90–8.55]; both  $p<0.001$ ), while their optimised Andersson scores remained comparable (5.64 [2.42–7.17] vs. 5.16 [2.42–7.14];  $p=0.552$ ). While adding preoperative NT-proBNP and weighting the individual components by the multivariable model did not improve the predictive ability of the Andersson score for the CME, it did improve the predictive abilities of the RCRI and AUB-HAS2 (both  $p<0.001$ ; Table 3). The AUCROC for the optimised scores are shown in Fig. 3. However, while the numerically largest AUCROC was obtained by combining preoperative NT-proBNP with AUB-HAS2, the AUCROC for the modified RCRI and AUB-HAS2 scores did not differ significantly from that of preoperative NT-proBNP alone.

### Discussion

The most important result of this exploratory analysis was its demonstration that the predictive ability of simple cardiac risk scores, such as the RCRI and AUB-HAS2, could be improved by adding the preoperative NT-proBNP cut-off.

Our data also showed that the score proposed by Andersson et al. is insufficient to assess postoperative morbidity, including all individual components of the CME in this study, after non-cardiac surgery in cohorts containing both patients with and without HF. The Andersson score has been validated for 30-day mortality risk in a large non-cardiac surgery cohort in which all patients had a known history of HF (Andersson et al. 2014). Therefore, the impact of the isolated Andersson score criteria appears to differ substantially from what is needed when assessing perioperative morbidity risk in mixed cohorts. This finding might be particularly aggravated by age and body mass index being weighted



**Fig. 1** Predictive abilities of preoperative NT-proBNP and clinical risk scores. Receiver operating characteristic curves are shown for **A** the composite morbidity endpoint, comprising **B** rehospitalisation, **C** acute kidney injury, **D** infection, and **E** acute decompensated heart failure during the first 30 days after surgery. Abbreviations: RCRI, Revised cardiac risk index; AUB-HAS2, American University of Beirut Cardiovascular Risk Index

**Table 2** The predictivity of preoperative NT-proBNP and the clinical risk scores for the composite morbidity endpoint and its components

Score	AUCROC	<i>p</i>	Cut-off	Sensitivity	Specificity
Composite morbidity endpoint					
NT-proBNP	0.679	< 0.001	443 pg/mL	55.6%	80.7%
Revised Cardiac Risk Index	0.560	0.126			
AUB-HAS2 risk score	0.646	< 0.001	2	52.2%	68.8%
Andersson et al. risk score	0.487	0.760			
Rehospitalisation					
NT-proBNP	0.585	0.236			
Revised Cardiac Risk Index	0.457	0.461			
AUB-HAS2 risk score	0.559	0.371			
Andersson et al. risk score	0.473	0.606			
Acute kidney injury					
NT-proBNP	0.747	< 0.001	453 pg/mL	72.2%	73.6%
Revised Cardiac Risk Index	0.687	< 0.001	2	52.8%	75.5%
AUB-HAS2 risk score	0.664	< 0.001	2	63.9%	64.4%
Andersson et al. risk score	0.510	0.852			
Infection					
NT-proBNP	0.619	0.008	482 pg/mL	49.2%	75.7%
Revised Cardiac Risk Index	0.573	0.081			
AUB-HAS2 risk score	0.632	0.001	2	54.0%	65.4%
Andersson et al. risk score	0.478	0.623			
Acute decompensated heart failure					
NT-proBNP	0.769	< 0.001	482 pg/mL	73.7%	72.2%
Revised Cardiac Risk Index	0.590	0.242			
AUB-HAS2 risk score	0.715	< 0.001	2	68.4%	62.2%
Andersson et al. risk score	0.430	0.334			

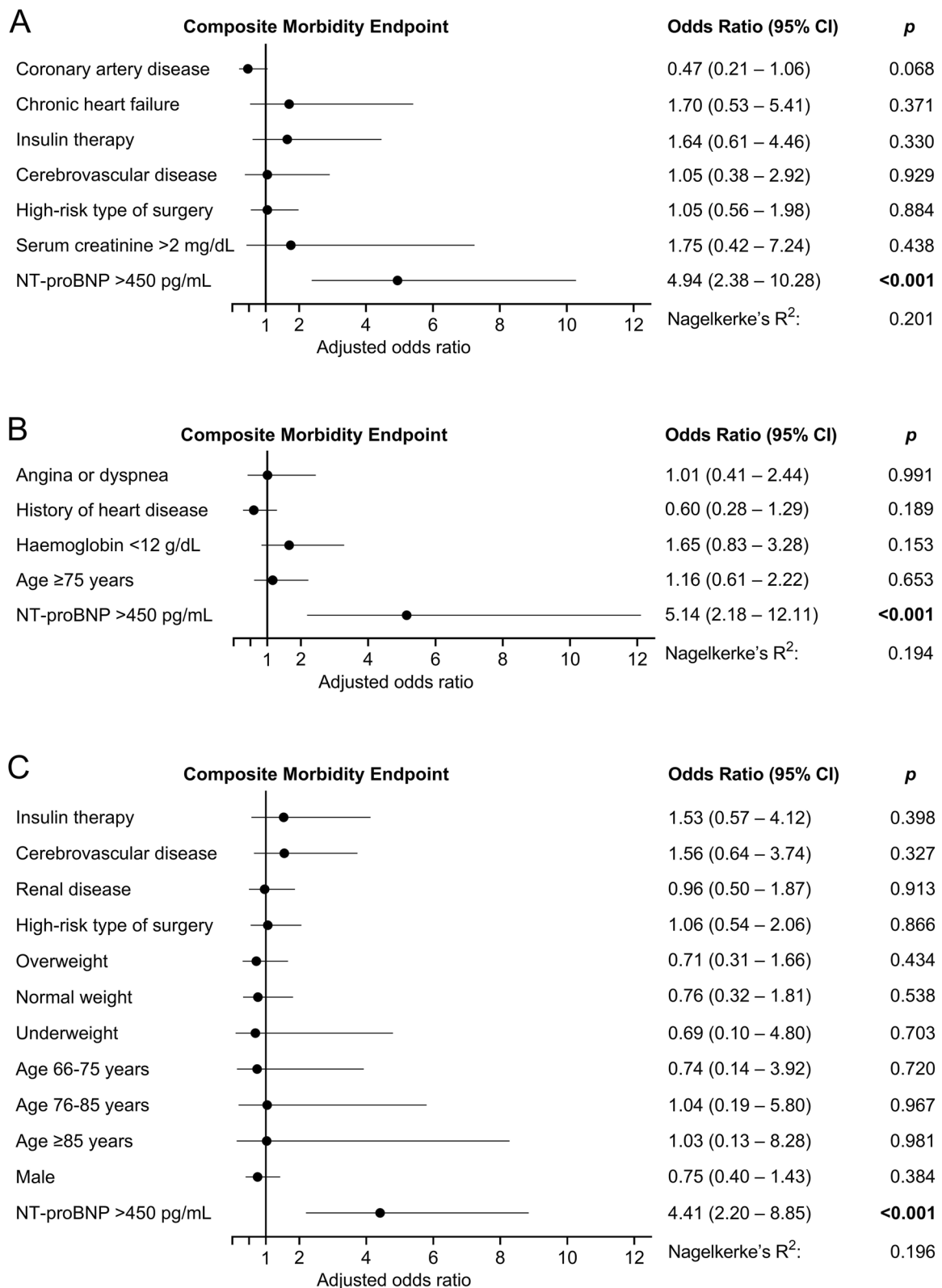
Abbreviations: AUCROC area under the receiver operating characteristic curve, AUBHAS2 American University of Beirut Cardiovascular Risk Index

sevenfold and fourfold in the original score, respectively. When the Andersson score is calculated, the data from our cohort suggest that these two criteria are overemphasised. It is plausible that age and weight alone do not determine postoperative morbidity without other comorbidities in general populations. Therefore, its predictive ability to identify patients at risk for postoperative complications was non-existent in our analysis.

The correlation between preoperative NT-proBNP, which was predictive of postoperative complications in our cohort, and the Andersson score was very weak. The correlation was also weak between preoperative NT-proBNP and the RCRI, which also failed to significantly predict the CME in our small cohort. However, its predictive ability for AKI was sufficient and comparable to preoperative NT-proBNP. Therefore, we generated some preliminary evidence that the RCRI may also be used to predict postoperative AKI after major non-cardiac surgery. The RCRI has generally been shown to discriminate moderately well in mixed non-cardiac surgery cohorts but did not perform well in vascular surgery cohorts

(Ford et al. 2010). However, it was shown that its predictivity for major adverse cardiovascular events could be improved by preoperative biomarkers, such as high-sensitivity cardiac troponin T/I and NT-proBNP (Kyeong et al. 2008; Vernooij et al. 2021; Rodseth et al. 2011; Park et al. 2011). Unfortunately, there is still a lack of clinically applicable strategies combining the RCRI with preoperative biomarker screening.

In our analysis, the modified RCRI, including the weighted preoperative NT-proBNP cut-off and original RCRI components, showed improved predictivity compared to the original RCRI. However, the multivariable logistic regression model showed that preoperative NT-proBNP had an almost fivefold greater adjusted predictive ability for the CME than the RCRI components. A meta-analysis by Rodseth et al. showed that reclassifying the RCRI using a preoperative NT-proBNP cut-off improved risk prediction for cardiovascular deaths and nonfatal myocardial infarction (Rodseth et al. 2011). Therefore, our data are consistent with previously published data, expanding the improvability of the RCRI to

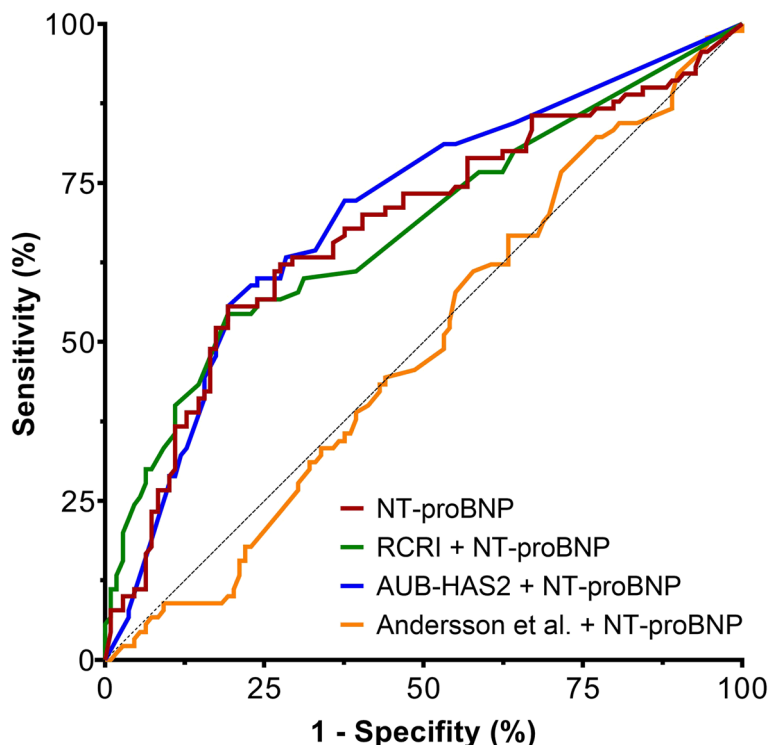


**Fig. 2** Multivariable logistic regression analyses combining clinical risk scores with preoperative NT-proBNP. When the preoperative NT-proBNP cut-off of 450 pg/mL was included, preoperative NT-proBNP was the only independent predictor of postoperative morbidity, outweighing the clinical parameters used in **A** the revised cardiac risk index (RCRI), **B** the American University of Beirut Cardiovascular Risk Index (AUB-HAS2), and **C** the Andersson score

**Table 3** The predictivity of the modified risk scores incorporating preoperative NT-proBNP

Score	AUCROC	p	Cut-off	Sensitivity	Specificity	p (NT-proBNP alone)	p (score alone)
Composite morbidity endpoint							
Optimised Revised Cardiac Risk Index	0.679	≤ 0.001	4.693	54.4%	80.7%	0.988	< 0.001
Optimised AUB-HAS2 risk score	0.703	< 0.001	3.111	55.6%	80.7%	0.367	0.001
Optimised Andersson et al. risk score	0.492	0.845				0.001	0.901

Abbreviations: AUCROC area under the receiver operating characteristic curve, AUBHAS2 American University of Beirut Cardiovascular Risk Index



**Fig. 3** Predictive value of clinical risk scores combined with NT-proBNP. While predictivity of the revised cardiac risk Index (RCRI) and the American University of Beirut Cardiovascular Risk Index (AUB-HAS2) was improved, no improvement was realised using the score by Andersson et al.

the field of postoperative morbidity. However, it must be noted that the original RCRI criteria had only a small impact on the modified score because of the strongly weighted preoperative NT-proBNP cut-off. Therefore, this finding once again underscores the superiority of preoperative NT-proBNP alone over clinical scores, such as the RCRI, in predicting the CME. In addition, its overall predictivity for the CME could not be improved compared to preoperative NT-proBNP alone.

The AUB-HAS2 showed a good correlation with preoperative NT-proBNP in our analysis. It also showed better risk prediction than the RCRI for the CME but for ADHF and postoperative infections. The criteria used in the AUB-HAS2 seem to be of higher relevance for the perioperative outcome than the parameters of the other

scores, leading to the improved predictive value for the CME. For example, symptoms of heart disease are a criterion that can be positive, even if the patient has not yet diagnosed with HF or chronic coronary syndrome. Furthermore, anaemia is not considered in the RCRI and Andersson score; however, preoperative anaemia is strongly associated with postoperative AKI and adverse outcomes (Katayama et al. 2021). The AUB-HAS2 was initially validated for risk prediction of 30-day death, myocardial infarction, and stroke in a general non-cardiac surgery cohort (Dakik et al. 2019b). It was subsequently shown to be predictive in various surgical subpopulations, including vascular surgery (Dakik et al. 2019a; Msheik et al. 2021). Therefore, we expanded the evidence that AUB-HAS2 can also predict postoperative

morbidity, showing better discriminatory power than the RCRI in our cohort. Our data is consistent with previous analyses showing that AUB-HAS2 was superior to the RCRI (Dakik et al. 2019a, 2019b). AUB-HAS2 predicted risk for the CME was comparable to that of preoperative NT-proBNP alone. Therefore, both tools can be suitably used to assess perioperative morbidity risk in patients undergoing non-cardiac surgery. While the individual strength of the AUB-HAS2 depends on accurate information in the patient's history, preoperative NT-proBNP measurement offers an additional independent parameter.

However, it must be noted that NT-proBNP can be negative in up to 20% of patients with HF with preserved ejection fraction and might be influenced by other factors, such as age, weight, sex, and renal function (McDonagh et al. 2021). Therefore, combining preoperative NT-proBNP and clinical risk scores appears attractive. When preoperative NT-proBNP was combined with the AUB-HAS2 after the multivariable analysis in our study, the AUCROC was numerically improved compared to AUB-HAS2 or preoperative NT-proBNP alone. However, the absolute difference in the AUCROC was small, showing statistical significance to the original score but not NT-proBNP alone, potentially reflecting our study's small sample size. Furthermore, preoperative NT-proBNP was weighted stronger than all other AUB-HAS2 parameters together. Therefore, patients with preoperative NT-proBNP below the cut-off but with clinically relevant chronic HF would be at risk of false-negative classification with the modified score calculated in our study. These findings suggest that risk stratification should still be performed by combining biomarkers and risk scores derived from the patient's history because no existing clinical risk scores sufficiently include preoperative biomarkers.

Nevertheless, our data showed that combining preoperative NT-proBNP with established risk scores might improve outcome prediction for postoperative morbidity. Furthermore, while the AUB-HAS2 was validated for death, myocardial infarction, and stroke at 30 days, it could also predict the morbidity measures analysed in our study. These morbidity events occur more frequently than the fatal outcomes initially assessed. For example, the AUB-HAS2 was validated in a cohort with a 1.2% rate of major adverse cardiovascular events (Dakik et al. 2019b). However, there are good reasons to consider morbidity measures, such as those analysed in our study, when assessing perioperative risk. Postoperative morbidity after non-cardiac surgery is not only individually relevant but is also economically important because the morbidity events analysed in our study have already caused longer hospital and intensive care unit

stays (Schmidt et al. 2024). Therefore, when risk scores and biomarker screening jointly indicate high perioperative risk, distinct therapeutic strategies are indicated and should be evaluated in further studies.

Our study had several limitations that must be acknowledged. First, its sample size was small, and the initial sample size was not powered to assess differences in perioperative risk scores. Therefore, the results of this pilot analysis should be interpreted as hypothesis-generating because its small sample size limited its statistical analysis. For example, advanced statistical measures, such as machine learning models, could not be implemented in our study to improve predictivity for the CME. Second, we did not validate the modified scores in an independent validation cohort. Further studies with larger cohorts are necessary to create more accurate predictive models considering preoperative NT-proBNP testing after major non-cardiac surgery. Third, our study only considered elective non-cardiac and non-vascular surgeries. Therefore, the predictive abilities of the analysed scores were impaired because not all of their criteria were covered by this analysis. For example, the AUB-HAS2 considers both vascular and emergency surgery for risk prediction; however, it still had the best predictivity of all analysed scores in our cohort. Fourth, only patients undergoing surgery with intermediate or high surgical risk were analysed. Therefore, our study did not examine risk prediction in patients with low surgical risk but potentially high patient-related risk. The predictivity of the analysed scores may be reduced in patients undergoing low-risk surgery, which could be classified as at high risk for the CME.

## Conclusions

Our secondary analysis of a single-centre observational trial showed that the predictivity of postoperative morbidity varies markedly between the available simple perioperative risk scores. Our data revealed that combining preoperative NT-proBNP with clinical risk scores could generally enhance predictivity for postoperative morbidity compared to the clinical risk scores alone, as shown for the RCRI. However, the predictive ability of preoperative NT-proBNP alone was comparable to that of the AUB-HAS2. Therefore, adding only preoperative NT-proBNP to established risk scores may be insufficient to improve the risk stratification of patients undergoing major non-cardiac surgery. New scores that include preoperative biomarkers should be evaluated in large multicentre cohorts to evaluate which clinical parameters should be added to maximise their predictivity.

## Abbreviations

ADHF	Acute decompensated heart failure
AKI	Acute kidney injury

AUB-HAS2	American University of Beirut Cardiovascular Risk Index
AUCROC	Area under the receiver operating characteristic curve
CME	Composite morbidity endpoint
ESC	European Society of Cardiology
HF	Heart failure
NT-proBNP	N-terminal prohormone of BNP
POD	Postoperative day
RCRI	Revised cardiac risk index

## Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s13741-024-00400-z>.

Supplementary Material 1: Supplementary figure: Fig. 1. Scatter plots of preoperative NT-proBNP and clinical risk scores. Spearman's rank correlation coefficients ( $r_s$ ) indicate that preoperative NT-proBNP is A weakly correlated with the revised cardiac risk index (RCRI) but B strongly correlated with the American University of Beirut Cardiovascular Risk Index (AUB-HAS2). C Preoperative NT-proBNP is only very weakly correlated with the Andersson score.

## Acknowledgements

None

## Authors' contributions

Conceptualization: Birgit Aßmus, Michael Sander, Götz Schmidt, Marit Habicher, Emmanuel Schneck, Christian Koch; Methodology: Götz Schmidt, Nora Frieling; Formal analysis and investigation: Marit Habicher, Emmanuel Schneck, Christian Koch, Nora Frieling, Götz Schmidt; Funding acquisition: Birgit Aßmus, Michael Sander. The first draft of the manuscript was written by Götz Schmidt and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

## Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. This work was supported by the Innovationsfonds of the Gemeinsamer Bundesausschuss (grant number 01NVF21071).

## Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

## Declarations

### Ethics approval and consent to participate

Ethical approval for this study (AZ 263/21) was provided by the local ethics committee of the Medical Faculty of the Justus-Liebig-University, Giessen, Germany, on 10 January 2022, and this trial was registered with the German Clinical Trials Register (DRKS00027871). All methods were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations (Declaration of Helsinki and international and national standards/regulations). According to the observational nature of the entire study and subsequent data anonymisation, written informed consent to participate was waived by the ethics committee of the Medical Faculty of the Justus-Liebig-University, Giessen, Germany, on 10 January 2022 (AZ 263/21).

### Consent for publication

Not applicable.

### Competing interests

The authors declare no competing interests.

### Author details

<sup>1</sup>Department of Anaesthesiology, Intensive Care Medicine and Pain Therapy, Justus Liebig University Giessen, Rudolf-Buchheim-Strasse 7, Giessen 35392, Germany. <sup>2</sup>Department of Cardiology and Angiology, Justus Liebig University of Giessen, Klinikstrasse 33, Giessen 35392, Germany.

Received: 5 April 2024 Accepted: 11 May 2024  
Published online: 17 May 2024

## References

- Andersson C, Gislason GH, Hlatky MA, Søndergaard KB, Pallisgaard J, Smith JG, et al. A risk score for predicting 30-day mortality in heart failure patients undergoing non-cardiac surgery. *Eur J Heart Fail.* 2014;16:1310–6. <https://doi.org/10.1002/ejhf.182>.
- Dakik HA, Chehab O, Eldirani M, Sbeity E, Karam C, Abou Hassan O, et al. AUB-HAS2 cardiovascular risk index: performance in surgical subpopulations and comparison to the Revised Cardiac Risk Index. *J Am Coll Cardiol.* 2019a;73:3067–78. <https://doi.org/10.1161/JAHA.119.016228>.
- Dakik HA, Chehab O, Eldirani M, Sbeity E, Karam C, Abou Hassan O, et al. A new index for pre-operative cardiovascular evaluation. *J Am Coll Cardiol.* 2019b;73:3067–78. <https://doi.org/10.1016/J.JACC.2019.04.023>.
- Farzi S, Stojakovic T, Marko T, Sankin C, Rehak P, Gumpert R, et al. Role of N-terminal pro B-type natriuretic peptide in identifying patients at high risk for adverse outcome after emergent non-cardiac surgery. *Br J Anaesth.* 2013;110:554–60. <https://doi.org/10.1093/bja/aes454>.
- Ford MK, Beattie WS, Wijeyesundera DN. Systematic review: prediction of perioperative cardiac complications and mortality by the Revised Cardiac Risk Index. *Ann. Intern. Med.* 2010. p. 26–35. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-152-1-201001050-00007>.
- Gerber Y, Weston SA, Redfield MM, Chamberlain AM, Manemann SM, Jiang R, et al. A contemporary appraisal of the heart failure epidemic in Olmsted County, Minnesota, 2000 to 2010. *JAMA Intern Med.* 2015;175:996–1004. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2015.0924>.
- Groenewegen A, Rutten FH, Mosterd A, Hoes AW. Epidemiology of heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2020;22:1342–56. <https://doi.org/10.1002/ejhf.1858>.
- Gualandro DM, Puelacher C, Chew MS, Andersson H, Lurati Buse G, Glarner N, et al. Acute heart failure after non-cardiac surgery: incidence, phenotypes, determinants and outcomes. *Eur J Heart Fail.* 2023;25:347–57. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2773>.
- Halvorsen S, Mehilli J, Cassese S, Hall TS, Abdelhamid M, Barbato E, et al. 2022 ESC guidelines on cardiovascular assessment and management of patients undergoing non-cardiac surgery. *Eur Heart J.* 2022; doi:<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac270>.
- Katayama HT, Gomes BC, Lobo SMA, Chaves RCF, Corrêa TD, Assunção MSC, et al. The effects of acute kidney injury in a multicenter cohort of high-risk surgical patients. *Ren Fail.* 2021;43:1338–48. <https://doi.org/10.1080/0886022X.2021.1977318>.
- Kyeong HY, Myung HJ, Seok KO, Choi JH, Sang JR, Eun MP, et al. Preoperative plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentration and perioperative cardiovascular risk in elderly patients. *Circ J.* 2008;72:195–9. <https://doi.org/10.1253/circj.72.195>.
- Lee TH, Marcantonio ER, Mangione CM, Thomas EJ, Polanczyk CA, Cook EF, et al. Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery. *Circulation.* 1999;100:1043–9. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.100.10.1043>.
- McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2021;42:3599–726. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>.
- Msheik A, Kaspar C, Mailhac A, Hoballah JJ, Tamim H, Dakik HA. Performance of the AUB-HAS2 cardiovascular risk index in vascular surgery patients. *Vasc Med (united Kingdom).* 2021;26:535–41. <https://doi.org/10.1177/1358863X21996806>.
- Park SJ, Choi JH, Cho SJ, Chang SA, Choi JO, Lee SC, et al. Comparison of transthoracic echocardiography with N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a tool for risk stratification of patients undergoing major noncardiac surgery. *Korean Circ J.* 2011;41:505–11. <https://doi.org/10.4070/kcj.2011.41.9.505>.
- Rodseth RN, Lurati Buse GA, Bolliger D, Burkhart CS, Cuthbertson BH, Gibson SC, et al. The predictive ability of pre-operative B-type natriuretic peptide in vascular patients for major adverse cardiac events: an individual patient data meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58:522–9. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.04.018>.

- Schmidt G, Frieling N, Schneck E, Habicher M, Koch C, Rubarth K, et al. Preoperative routine measurement of NT-proBNP predicts postoperative morbidity after non-cardiac surgery with intermediate or high surgical risk: an observational study. *BMC Anesthesiol.* 2024;24. <https://doi.org/10.1186/s12871-024-02488-8>.
- Shah KS, Xu H, Matsouaka RA, Bhatt DL, Heidenreich PA, Hernandez AF, et al. Heart failure with preserved, borderline, and reduced ejection fraction: 5-year outcomes. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70:2476–86. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.08.074>.
- Vernooij LM, van Klei WA, Moons KGM, Takada T, van Waes J, Damen JAAG. The comparative and added prognostic value of biomarkers to the revised cardiac risk index for preoperative prediction of major adverse cardiac events and all-cause mortality in patients who undergo noncardiac surgery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013139.pub2>.
- Walther CP, Podoll AS, Finkel KW. Summary of clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Hosp Pract.* 1995;2014(42):7–14. <https://doi.org/10.3810/hp.2014.02.1086>.

### **Publisher's Note**

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**6.3. Impact of the fluid challenge infusion rate on cardiac stroke volume during major spinal neurosurgery: a prospective single center randomized interventional trial**

RESEARCH

Open Access



# Impact of the fluid challenge infusion rate on cardiac stroke volume during major spinal neurosurgery: a prospective single center randomized interventional trial

Götz Schmidt<sup>1\*</sup>, Emmanuel Schneck<sup>1</sup>, Fabian Edinger<sup>1</sup>, Fidaa Jablawi<sup>2</sup>, Eberhard Uhl<sup>2</sup>, Christian Koch<sup>1</sup> and Michael Sander<sup>1</sup>

## Abstract

**Background:** Fluid therapy, including the choice of a crystalloid or colloid infusion, the execution time of a volume bolus, and the expected volume need of a patient during surgery, varies greatly in clinical practice. Different goal directed fluid protocols have been developed, where fluid boluses guided by dynamic preload parameters are administered within a specific period.

**Objective:** To study the efficacy of two fluid bolus infusion rates measured by the response of hemodynamic parameters.

**Design:** Monocentric randomized controlled interventional trial.

**Setting:** University hospital.

**Patients:** Forty patients undergoing elective major spinal neurosurgery in prone position were enrolled, thirty-one were finally analyzed.

**Interventions:** Patients were randomly assigned to receive 250 ml crystalloid and colloid boluses within 5 min (group 1) or 20 min (group 2) when pulse pressure variation (PPV) exceeded 14%.

**Main outcome measures:** Changes in stroke volume (SV), mean arterial pressure (MAP), and catecholamine administration.

**Results:** Group 1 showed a greater increase in SV ( $P=0.031$ ), and MAP ( $P=0.014$ ), while group 2 still had higher PPV ( $P=0.005$ ), and more often required higher dosages of noradrenalin after fluid administration ( $P=0.033$ ). In group 1, fluid boluses improved CI ( $P<0.01$ ), SV ( $P<0.01$ ), and MAP ( $P<0.01$ ), irrespective of whether crystalloids or colloids were used. In group 2, CI and SV did not change, while MAP was slightly increased ( $P=0.011$ ) only after colloid infusion.

\*Correspondence: Goetz.F.schmidt@chiru.med.uni-giessen.de

<sup>1</sup> Department of Anesthesiology, Operative Intensive Care Medicine and Pain Therapy, Justus Liebig University of Giessen, Rudolf-Buchheim-Strasse 7, 35392 Giessen, Germany

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2022. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

**Conclusions:** A fluid bolus within 5 min is more effective than those administered within 20 min and should therefore be the primary treatment option. Furthermore, bolus infusions administered within 20 min may result in volume overload without achieving relevant hemodynamic improvements.

**Trial registration:** German Clinical Trials Register: DRKS00022917.

**Keywords:** Spinal surgery, Fluid therapy, Crystalloid, Colloid, Goal directed therapy

## Background

Fluid therapy is daily routine practice in every operating theatre before, during, and after surgery. While the goal of every volume administration is preserving hemodynamic stability and intracellular homeostasis, a distinction can be made between maintenance and restoration fluid therapy [1, 2]. Perioperative maintenance fluid continuously provides daily water and electrolyte requirements, while restoration and resuscitation fluids replace blood and fluid losses to ensure sufficient cardiac preload and oxygen delivery. Fluids are often administered as bolus infusions delivering a particular volume in a limited time [2]. Balanced isotonic crystalloid solutions are the most frequent fluid type used for fluid maintenance [3]. However, the intravascular volume effect of crystalloids is low and hemodynamic resuscitation with colloids was found to be faster and required less amount of fluid in patients with clinical hypovolemia compared to the same volume of crystalloids [1, 4]. However, the choice of fluid, the execution of a volume bolus, and a patient's expected volume need are characterized by strong local and inter-individual variability [5–7]. Therefore, goal directed fluid therapy (GDT) has been widely used in clinical practice where fluid boluses are guided by cardiac stroke volume (SV), or dynamic preload parameters such as pulse pressure variation (PPV) and stroke volume variation (SVV). Although preload-guided fluid restoration is primarily performed using consecutive steps of a fixed volume of infusion, the period in which a fluid challenge is performed largely differs among protocols, from as fast as possible to less than 5 or 10 min, or within 15 min [8–11]. However, the effect of the time within a fluid bolus is administered on the hemodynamic response relating to cardiac SV and other hemodynamic parameters remains largely unknown. Thus, we hypothesized that a higher infusion rate may trigger a stronger hemodynamic response after a distinct fluid challenge. Consequently, this randomized controlled trial aimed to evaluate the impact of two different infusion rates on cardiac SV, after fluid challenges triggered by PPV.

## Methods

### Study design

This single center randomized prospective interventional trial prospectively enrolled consecutive patients

at the university hospital of Giessen, Germany. Ethical approval for this study (AZ 258/19) was provided by the local ethics committee of the medical faculty of the Justus-Liebig-University, Giessen, Germany on 13 March 2020, and this trial was registered with the German Clinical Trials Register (DRKS00022917; Date of registration: 04/09/2020). All patients gave informed consent to participate in this trial. Patients undergoing elective major spinal neurosurgery in general anesthesia and prone position were screened for inclusion criteria, including age  $\geq 18$  years, presence of sinus rhythm, and the routine need for invasive blood pressure monitoring. Patients were randomized immediately after providing informed consent using opaque envelopes containing the group assignment. Patients were assigned to receive fluid boluses within 5 or 20 min, respectively. Baseline data of the two study groups, including age, sex, body mass index (BMI), medical and clinical history, awake CI, and SV, were compared to ensure adequate matching. Exclusion criteria were emergency surgery, American Society of Anesthesiology (ASA) IV-VI classification, acute heart failure, chronic renal failure greater than stage II according to Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) criteria, arterial disease greater than stage IIb, atrial fibrillation, and pregnancy or nursing [12].

### Anesthetic management

After radial artery cannulation and zero calibration, CI, SV, and MAP were measured in supine position before anesthesia induction using the uncalibrated HemoSphere advanced monitoring platform with FloTrac IQ<sup>®</sup> transducer (Edwards Lifesciences, Irvine, CA, USA). General anesthesia was induced with propofol ( $1 - 2 \text{ mg kg}^{-1}$ ), sufentanil ( $0.3 - 0.5 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ ), and cis-atracurium ( $0.15 \text{ mg kg}^{-1}$ ), while maintenance was achieved with sevoflurane ( $0.8 - 1 \text{ MAC}$ ) and repetitive boluses of sufentanil ( $0.1 - 0.2 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ ) and cis-atracurium ( $0.03 \text{ mg kg}^{-1}$ ). MAP was targeted at 65–80 mmHg using  $0.5 - 1 \text{ ml}$  boluses of cafedrine/theodrenaline 200 mg/10 mg, or continuously infused noradrenaline. All patients underwent endotracheal intubation, while establishing a central venous catheter was at the anesthesiologist's discretion. After the patients were placed in the prone position, intraoperative pressure-controlled ventilation was set at a tidal volume of  $\geq 8 \text{ ml kg}^{-1}$  ideal

body weight (IBW, estimated with body height minus 100 cm) and at respiratory rates maintaining a physiological end-tidal and arterial partial pressures of carbon dioxide. Before skin incision, all patients received less than 500 ml of crystalloid infusion (Sterofundin ISO, B. Braun, Melsungen, Germany) followed by a restrictive baseline crystalloid infusion of 4 ml kgIBW<sup>-1</sup> via an infusion pump [13]. Blood transfusion and coagulation management were performed according to the current guidelines from the European Society of Anesthesiology on the management of severe perioperative bleeding [14].

### Treatment algorithm

During surgery, PPV was continuously assessed. Once it reached  $\geq 14\%$ , a 250 ml fluid bolus was given within the allocated period. Crystalloid boluses (Sterofundin, B. Braun, Melsungen, Germany) were used for the first two consecutive interventions, then any further intervention was performed with colloids (4% gelatin, Gelafundin, B. Braun, Melsungen, Germany) according to local clinical practice [15]. If PPV remained  $\geq 14\%$ , the next intervention began immediately. Once PPV dropped below 14%, no further intervention was performed until PPV was again  $\geq 14\%$ . The treatment protocol was applied between skin incision and last suture while all patients were placed in the prone position, and stable conditions of general anesthesia were ensured.

### Endpoints

The intervention-based primary endpoint of this study was the change in cardiac SV after the intervention. Further endpoints included the percentage of interventions improving SV  $> 10\%$ , MAP, CI, and the administration of noradrenaline. Hemodynamic data were recorded automatically every 20 s.

### Statistical analysis

No formal power analysis was possible due to the absence of previous clinical data. A sample size of 20 patients generating approximately 50 interventions per treatment group was considered suitable for detecting clinically relevant differences in the hemodynamic parameters. Further exploratory measures included intraoperative hypotension (IOH) which was defined as MAP  $< 65$  mmHg for  $\geq 1$  min. Frequency (n), absolute (min) and relative duration (min % of the incision-suture time<sup>-1</sup>), absolute and relative area under the curve (AUC) of IOH (mmHg  $\times$  min and mmHg  $\times$  min % of the incision-suture time<sup>-1</sup>) were calculated. Hemodynamic data were extracted from the HemoSphere advanced monitoring platform, and clinical data were obtained from the local electronic automated patient data management system (IMESO® GmbH, Giessen, Germany).

Categorical variables are presented as numbers and percentages, while continuous variables are presented as median [interquartile range (IQR)]. Data were compared using the Mann–Whitney–Wilcoxon test for continuous data and the  $\chi^2$  test with Yates' continuity correction or Fisher's exact test for categorical data. Results with two-tailed  $P < 0.05$  were considered statistically significant. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics, version 28.0.0.1 (IBM, Armonk, NY, USA).

### Results

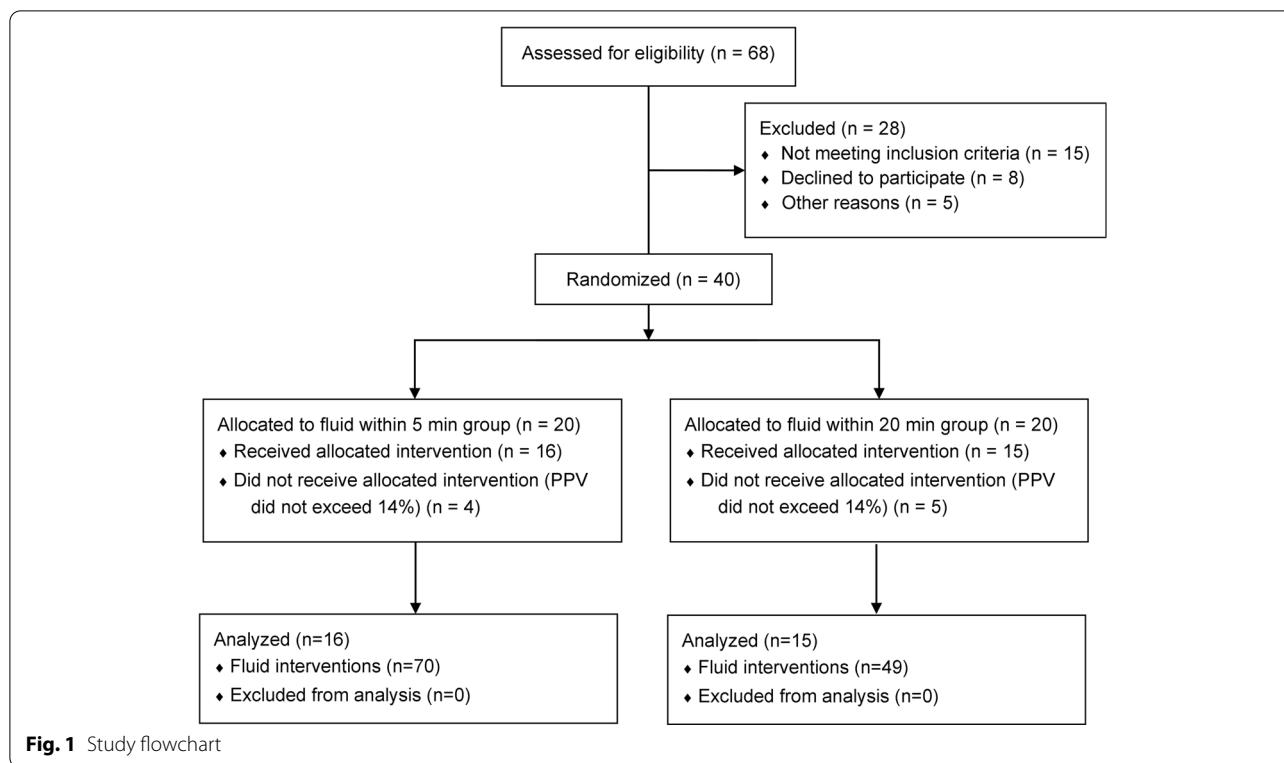
Forty consecutive patients fulfilling the inclusion criteria were prospectively enrolled between August 2020 and December 2021. Patients were randomized into group 1 (bolus within 5 min, equivalent to an infusion rate of 50 ml min<sup>-1</sup>) or group 2 (bolus within 20 min, equivalent to an infusion rate of 12.5 ml min<sup>-1</sup>) in a balanced manner (Fig. 1). Four (group 1) and five (group 2) patients had to be excluded because they did not require any fluid bolus during surgery. Finally, group 1 comprised 16 patients with 70 (29 crystalloid, 41 colloid) fluid boluses, and group 2 comprised 15 patients with 49 (26 crystalloid, 23 colloid) fluid boluses.

### Patient characteristics and intraoperative characteristics

Overall characteristics are summarized in Table 1. Most patients were male (13 (81.3%) in group 1 vs. 10 (66.7%) in group 2,  $P = 0.433$ ), while median age was 66 [57 to 77] years in group 1 and 63 [54 to 70] years in group 2 ( $P = 0.572$ ). Patients in both groups were noted to have a high prevalence of cardiopulmonary comorbidities, which did not differ significantly between the two treatment groups. Awake hemodynamics, including CI, SV, and MAP, were also comparable. No differences were measured between the groups regarding the duration of surgery and anesthesia, and the number of administered fluid boluses. While group 1 received a higher total volume of fluids ( $P = 0.045$ ) due to greater crystalloid infusion ( $P = 0.027$ ), the volumes of colloids, red blood cell concentrate, and fresh frozen plasma were comparable. The cumulative amount of cafedrine/theodrenaline, and noradrenaline administered, and blood loss, urinary output, and total fluid loss did not differ significantly between groups.

### Hemodynamic measurements and catecholamine requirements after bolus infusions

When a fluid bolus was indicated based on the treatment protocol, hemodynamic measurements including PPV were comparable between the two groups (Table 2). Absolute increase in SV ( $p = 0.031$ ), and percent change of SV ( $p = 0.028$ ) were significantly greater in group 1 than in group 2, while absolute values of SV remained



comparable (Fig. 2). The increase in MAP was significantly lower in group 2 ( $p=0.014$ ), and furthermore, the decrease in PPV was lower in group 2 ( $p=0.008$ ), which subsequently resulted in an overall increased PPV after fluid challenges in group 2 ( $p=0.005$ ). An increase of SV greater than 10% was seen in numerically higher fractions in group 1, although not statistically significant. Noradrenaline administration remained on the same dosage more often in group 1 than in group 2 ( $P=0.015$ ), while in group 2, noradrenaline requirements were more frequently elevated ( $P=0.033$ ). Greater changes in PPV, SV and MAP and the differences in catecholamine requirements were found only after colloid boluses in group 1 (Table 3). No significant changes in  $\Delta$ SV,  $\Delta$ MAP, and catecholamine requirements were observed with crystalloid infusions. Hemodynamics and catecholamine requirements stratified by crystalloid and colloid infusion are shown in Supplementary Tables 1 and 2.

#### Efficacy of certain fluid boluses

Administration of a fluid bolus in group 1 caused significant CI and MAP improvement after crystalloid and colloid infusion ( $P<0.01$ ; Table 4). In contrast, CI and SV remained unchanged in group 2, while MAP improved significantly after a fluid challenge ( $P=0.011$ ). However, MAP increased only after colloid infusion ( $P=0.018$ ),

while CI, SV, and MAP did not change after crystalloid infusion in group 2.

#### Intraoperative hypotension

Measurements of IOH incidence, absolute and relative IOH duration, and absolute and relative IOH AUC are summarized in Table 5 and did not differ significantly.

#### Discussion

Our prospective randomized trial evaluated two fluid challenge infusion rates on their efficacy concerning the initial intraoperative hemodynamic response. We have shown that a fluid bolus within 5 min had a stronger effect on the improvement of cardiac SV regardless of the infusion type used, while a fluid bolus given within 20 min had no significant influence on cardiac hemodynamic measurements. These findings should be carefully considered when evaluating different GDT strategies because the time in which a fluid challenge is given varies among GDT protocols used in several clinical trials. While the proposed fluid volumes range between 100 and 500 ml, the time within which a fluid challenge is given varies between 5 and 15 min, with most given within 10 min [2, 7, 9–11].

A distinct administered fluid bolus must sufficiently stretch cardiac sarcomeres, increasing right ventricular end diastolic volume [16]. Whether a fluid

**Table 1** Overall characteristics

Characteristics	Group 1 (5 min) n = 16	Group 2 (20 min) n = 15	P
Patient characteristics			
Male—no. (%)	13 (81.3)	10 (66.7)	0.433
Median age [IQR]—years	66 [57—77]	63 [54—70]	0.572
Mean Body-Mass-Index [IQR] – kg m <sup>-2</sup>	29.9 [25.8—30.9]	26.1 [23.4—30.8]	0.318
ASA-Score			
ASA 1—no. (%)	2 (12.5)	0 (0)	0.484
ASA 2—no. (%)	5 (31.3)	3 (20.0)	0.685
ASA 3—no. (%)	9 (56.3)	12 (80)	0.252
Pre-existing conditions			
Arterial hypertension—no. (%)	12 (75.0)	10 (66.7)	0.704
Coronary artery disease—no. (%)	3 (18.8)	5 (33.3)	0.433
Prior myocardial infarction—no. (%)	2 (12.5)	1 (6.7)	1.0
Diabetes mellitus—no. (%)	4 (33.3)	3 (20.0)	1.0
Chronic pulmonary obstructive disease—no. (%)	2 (12.5)	1 (6.6)	1.0
Congestive heart failure—no. (%)	1 (6.3)	0 (0.0)	1.0
Peripheral vessel disease—no. (%)	2 (12.5)	1 (6.7)	1.0
Chronic kidney disease—no. (%)	2 (12.5)	0 (0)	0.484
Awake haemodynamics			
Cardiac index [IQR]—l/minm <sup>2</sup>	3.2 [2.5—3.5]	2.9 [2.6—4.0]	0.861
Stroke volume [IQR]—ml	86 [78—102]	95 [73—118]	0.626
Mean arterial pressure [IQR]—mmHg	103 [89—109]	105 [96—116]	0.861
Anaesthesia			
Duration of surgery [IQR]—min	167 [150—226]	124 [107—190]	0.101
Duration of anaesthesia [IQR]—min	298 [270—335]	244 [205—317]	0.086
Fluid boluses			
Crystalloid—no. (%)	29 (41.4)	26 (53.1)	0.286
Colloid—no. (%)	41 (58.6)	23 (46.9)	0.286
Intraoperative fluid therapy			
Number of fluid boluses [IQR]—no	4 [3—6]	3 [2—4]	0.129
Total amount of fluids [IQR]—ml	2791 [1987—3108]	1664 [1330—2765]	<b>0.045</b>
Amount of crystalloids [IQR]—ml	1948 [1718—2212]	1490 [1311—1958]	<b>0.027</b>
Amount of colloids [IQR]	750 [250—1000]	250 [0—625]	0.129
Amount of red blood cell concentrate [IQR]—ml	0 [0—225]	0 [0—0]	0.861
Amount of fresh frozen plasma [IQR]—ml	0 [0—0]	0 [0—0]	1.0
Catecholamine therapy			
Cafedrine/theodrenaline [IQR]—ml	1.1 [1.0—1.9]	2.0 [1.0—2.5]	0.188
Noradrenaline [IQR]—µg	101 [0—317]	56 [0—151]	0.545
Loss of body fluids			
Total fluid loss [IQR]—ml	1165 [945—1513]	950 [470—1680]	0.682
Blood loss [IQR]—ml	550 [338—800]	300 [175—725]	0.423
Urinary output [IQR]—ml	450 [350—963]	500 [230—1060]	0.800

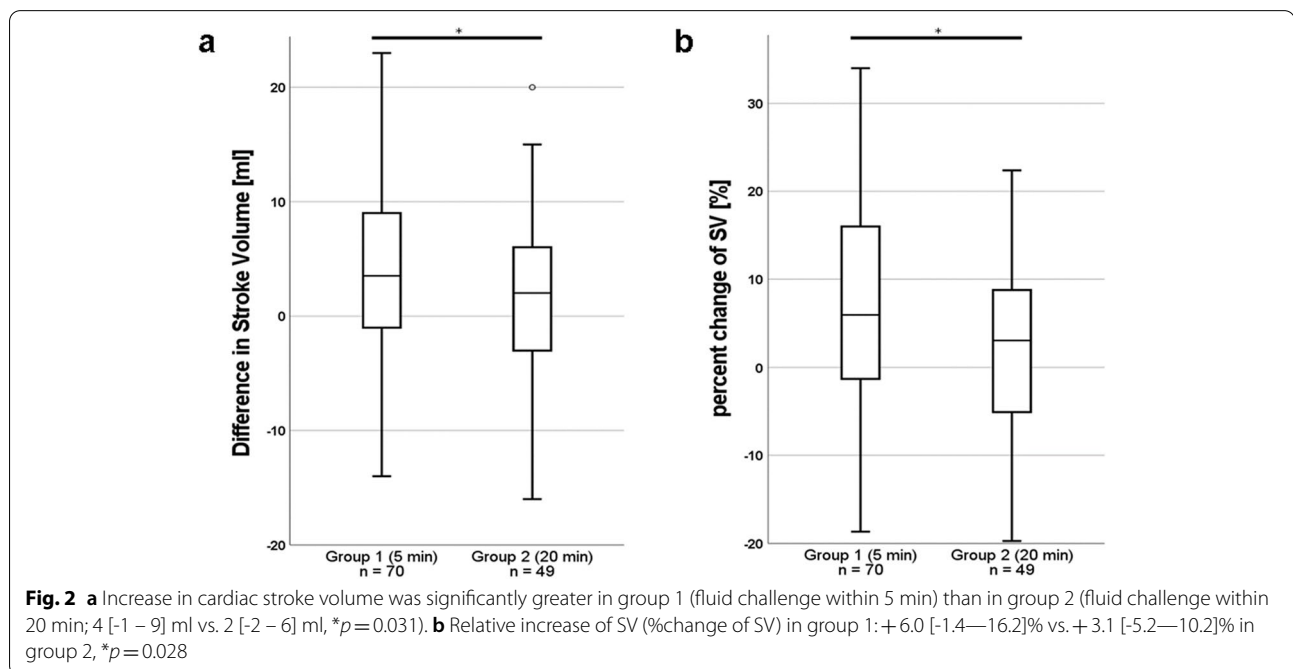
administration within a longer period can meet this requirement must be questioned since our study provides evidence that a fluid bolus within 20 min cannot fulfil these requirements. Furthermore, the intravascular volume effect of the given fluids may not have been sufficient to provoke a significant effect via the Frank-Starling

law. Both redistributions in interstitial spaces and large compliant veins and stress-relaxation of the vessel wall can return intravascular filling pressures to baseline within a short period [17, 18]. Crystalloid use within 20 min appears to be particularly inappropriate since crystalloids are rapidly redistributed within minutes,

**Table 2** Comparison of hemodynamics and catecholamine requirements between two infusion speeds

Characteristics	Group 1 (5 min) n = 70	Group 2 (20 min) n = 49	P
Pulse pressure variation			
PPV prior to bolus infusion [IQR]—%	15 [14–16]	15 [14–16]	0.697
PPV after bolus infusion [IQR]—%	10 [8–12]	12 [10–14]	<b>0.005</b>
Alteration			
$\Delta$ SV > 10%—no (%)	28 (40.0)	12 (24.5)	0.117
%change of SV [IQR]—%	6.0 [-1.4–16.2]	3.1 [-5.2–10.2]	<b>0.028</b>
%change of CI [IQR]—%	4.3 [0.0–10.0]	0.0 [-5.3–7.0]	0.129
$\Delta$ MAP [IQR]—mmHg	8 [1–14]	2 [-2–9]	<b>0.014</b>
$\Delta$ PPV [IQR]—%	-6 [-2–(-8)]	-3 [-6–(-0.5)]	<b>0.008</b>
Noradrenaline requirements			
less—no (%)	7 (10.0)	8 (16.3)	0.458
equal—no (%)	58 (82.9)	30 (61.2)	<b>0.015</b>
more—no (%)	5 (7.1)	11 (28.9)	<b>0.033</b>

PPV pulse pressure variation, CI cardiac index, SV stroke volume, MAP mean arterial pressure



and their intravascular volume effect is below 20%, leading to a subsequent decrease in SV even in initial fluid responders [4, 18]. In addition, clinicians use fluid challenges to quickly assess the potential for improvements in cardiac preload, evaluating the potential benefit of further fluid administrations. This intention may be impeded by a longer period and ineffective intravascular volumes, and by external factors such as intraoperative surgical steps changing the patient's hemodynamics,

leading to unusable results. While the time span within which a fluid bolus is given varies among GDT protocols, an increase in SV > 10% is universally accepted as indicating fluid responsiveness, supporting further volume boluses [7]. However, our findings suggest that a 250 ml fluid challenge given > 5 min underestimates fluid responsiveness based on that cut-off because a median SV increase of > 10% was barely reached in treatment group 1.

**Table 3** Comparison of hemodynamics and catecholamine requirements between two infusion speeds stratified by fluid type

Crystalloids only	Group 1 (5 min) n = 29	Group 2 (20 min) n = 26	P
Haemodynamic alterations			
ΔSV [IQR]—ml	2 [-1.5—9]	1.5 [-4—6.5]	0.340
ΔSV [IQR] > 10%—no (%)	9 (31.0)	6 (23.1)	0.720
ΔMAP [IQR]—mmHg	4 [0—10]	0 [-6—11]	0.307
ΔPPV [IQR]—%	-6 [-8—(-2)]	-3 [-6 - 0]	0.109
Noradrenaline			
less—no (%)	1 (3.4)	3 (11.5)	0.265
equal—no (%)	25 (86.2)	18 (69.2)	0.232
more—no (%)	3 (10.3)	5 (19.2)	0.291
Colloids only	Group 1 (5 min) n = 41	Group 2 (20 min) n = 23	P
Haemodynamic alterations			
ΔSV [IQR]—ml	5 [-1—9]	2 [-2—7]	<b>0.044</b>
ΔSV [IQR] > 10%—no (%)	19 (46.3)	6 (36.1)	0.185
ΔMAP [IQR]—mmHg	9 [6-15]	3 [-1—10]	<b>0.021</b>
ΔPPV [IQR]—%	-5 [-9—(-3)]	-3 [-6—(-1)]	<b>0.036</b>
Noradrenaline			
less—no (%)	6 (14.6)	5 (21.7)	0.347
equal—no (%)	33 (80.5)	12 (52.2)	<b>0.036</b>
more—no (%)	2 (4.9)	6 (26.1)	<b>0.021</b>

SV stroke volume, MAP mean arterial pressure

It should also be noted that the choice of crystalloids or colloids for fluid challenges is important – although our study initially showed comparable hemodynamic improvements within group 1 (Table 2). Because our trial assessed the initial hemodynamic effects of a distinct fluid bolus, it is unsurprising that hemodynamic effects of crystalloids and colloids were comparable in group 1. However, intraoperative longer-term effects were not observed. Considering the above issues, performing fluid boluses in a longer period than necessary may risk too liberal fluid administration and ineffective intravascular volume, potentially leading to additional adverse effects on patient hemodynamics. While a recent meta-analysis did not find any difference in severe postoperative complications and mortality between restrictive and liberal fluid approaches in major abdominal surgery, the incidence of major renal events was lower in liberal approach subgroups [19], a large cohort study found significant associations between high fluid volumes given during surgery with increased total costs resulting from prolonged hospital stays, and increased incidence of postoperative ileus for rectal and colon surgery patients [20].

The findings concerning increased noradrenaline requirements after prolonged fluid administration in

group 2 provide further evidence that the rapid administration of a fluid challenge is accompanied by immediate intraoperative clinical benefits. This finding is also illustrated by the greater increase in SV and MAP after a rapid volume bolus in group 1. However, the overall amount of noradrenaline was comparable between the two treatment groups. Interestingly, reduced noradrenaline requirements and improved hemodynamic measurements were not observed when only crystalloid infusions were used. Moreover, the clinical efficacy of crystalloid infusions for altering intraoperative hemodynamic parameters was independent of the treatment group (Table 3). Only colloids caused significant differences in noradrenaline requirements, SV and MAP highlighting their well-known higher efficacy in restoring cardiac output in patients with clinical hypovolemia [21]. While colloids can cause adverse effects such as anaphylactic reactions, dilution coagulopathy, and endothelial barrier competence impairment, there is no evidence that they worsen perioperative outcomes [3, 22, 23]. Pathophysiologic considerations favor using colloids to restore the patient's intravascular volume following perioperative blood losses during surgery in most GDT protocols [7].

Of course, several limitations of our trial must be acknowledged. Firstly, the limited initial sample size was further reduced because four (group 1) and five (group 2) patients did not require any fluid challenge during surgery, and thus, had to be excluded. Thus, for example, IOH duration and severity were numerically higher in group 2 without reaching statistical significance with the limited study size. Secondly, baseline crystalloid infusion ( $4 \text{ ml kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) was potentially set higher than necessary for restrictive fluid maintenance therapy during major spinal neurosurgery resulting in fewer requirements for a fluid bolus [13]. Thirdly, our study did not include critical ill patients limiting the transferability of the results to such patients due to significantly different pathophysiologic processes. Fourthly, patients' intraoperative hemodynamic parameters were assessed during prone positioning and might be affected by decreased venous return and higher intrathoracic pressure. Because PPV is known to increase during prone positioning, PPV threshold was set higher in our study compared to other GDT protocols [8–11, 24]. We did not use the thermodilution method, which is the reference method for SV measurement. Therefore, the increase in SV induced by a fluid challenge may have been underestimated in our trial. Finally, hemodynamic measurements may be influenced by changes in surgical conditions or anesthesia depth while a fluid bolus was given impeding comparable conditions at the considered time points. This limitation may be particularly relevant to group 2 due to the longer period studied.

**Table 4** Efficacy of fluid boluses in improving hemodynamics stratified by fluid type and infusion speed

Characteristics	Before fluid bolus	After fluid bolus	P
Group 1: Crystalloid & Colloid within 5 min	<i>n</i> = 70		
Cardiac index [IQR]—l min <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup>	2.1 [1.7—2.6]	2.2 [1.8—2.6]	< 0.01
Stroke volume [IQR]—ml	64 [53—74]	70 [57—80]	< 0.01
Mean arterial pressure [IQR]—mmHg	74 [68—79]	82 [74—91]	< 0.01
Crystalloid within 5 min	<i>n</i> = 29		
Cardiac index [IQR]—l min <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup>	2.2 [1.7—2.6]	2.3 [1.8—2.7]	0.039
Stroke volume [IQR]—ml	67 [53—77]	74 [55—80]	< 0.01
Mean arterial pressure [IQR]—mmHg	74 [70—80]	80 [73—87]	< 0.01
Colloid within 5 min	<i>n</i> = 41		
Cardiac index [IQR]—l min <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup>	2.0 [1.6—2.7]	2.2 [1.8—2.7]	< 0.01
Stroke volume [IQR]—ml	62 [53—72]	70 [57—80]	< 0.01
Mean arterial pressure [IQR]—mmHg	73 [67—79]	88 [78—94]	< 0.01
Group 2: Crystalloid & Colloid within 20 min	<i>n</i> = 49		
Cardiac index [IQR]—l min <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup>	2.2 [1.8—2.7]	2.3 [1.8—2.7]	0.288
Stroke volume [IQR]—ml	60 [58—69]	64 [60—72]	0.229
Mean arterial pressure [IQR]—mmHg	74 [69—80]	77 [72—87]	0.011
Crystalloid within 20 min	<i>n</i> = 26		
Cardiac index [IQR]—l min <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup>	2.1 [1.8—2.7]	2.3 [1.9—2.5]	0.362
Stroke volume [IQR]—ml	61 [57—71]	63 [60—74]	0.484
Mean arterial pressure [IQR]—mmHg	75 [69—84]	78 [73—88]	0.192
Colloid within 20 min	<i>n</i> = 23		
Cardiac index [IQR]—l min <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup>	2.3 [1.7—2.8]	2.5 [1.8—2.8]	0.540
Stroke volume [IQR]—ml	60 [58—70]	64 [60—68]	0.261
Mean arterial pressure [IQR]—mmHg	73 [68—78]	77 [71—87]	0.018

**Table 5** Intraoperative hypotension

Characteristics	Group 1 (5 min) <i>n</i> = 16	Group 2 (20 min) <i>n</i> = 15	P
Intraoperative hypotension > 1 min [IQR]—no	1 [0—3]	1 [0—3]	0.711
Absolute duration of IOH [IQR]—min	1.8 [0—6.9]	8.0 [0.2—14.5]	0.470
Relative duration of IOH [IQR]—min % <sup>-1</sup>	1.0 [0—5.9]	5.9 [0—11.0]	0.318
Absolute AUC MAP < 65 mmHg [IQR]—mmHg × min	3.7 [0—30.1]	27.3 [0—53.3]	0.281
Relative AUC MAP < 65 mmHg [IQR]—mmHg × min % <sup>-1</sup>	2.3 [0—18.2]	18.3 [0—47.8]	0.216

IOH intraoperative hypotension, AUC area under the curve, MAP mean arterial pressure

## Conclusions

In conclusion, evidence has been gained that a fluid bolus given within 5 min is more effective than fluid challenges given within 20 min. Therefore, a fluid challenge with high infusion rate should be the primarily treatment choice. Bolus infusions given within 20 min may result in volume administration without achieving relevant hemodynamic improvements, triggering adverse side effects. These findings should be accounted in future GDT protocols by specifying the time sequence in which a fluid bolus should be given.

## Abbreviations

AUC: Area under the curve; ASA: American Society of Anesthesiology; BMI: Body mass index; CI: Cardiac index; GDT: Goal directed fluid; IBW: Ideal body weight; IOH: Intraoperative hypotension; IQR: Interquartile range; KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes; MAP: Mean arterial pressure; PPV: Pulse pressure variation; SV: Stroke volume; SVV: Stroke volume variation.

## Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s12871-022-01945-6>.

**Additional file 1: Supplementary Table 1.** Comparison of hemodynamics and catecholamine requirements between crystalloid and colloid infusion within 5 minutes.

**Additional file 2: Supplementary Table 2.** Comparison of hemodynamics and catecholamine requirements between crystalloid and colloid infusion within 20 minutes.

### Acknowledgements

Not applicable.

### Authors' contributions

GS, FE, FJ and CK were involved in planning, data acquisition and writing the manuscript. ES, EU and MS made substantial contributions to the conception and provided additional references and clinical experience to the discussion. All authors substantially revised it and have approved the submitted version.

### Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

### Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

### Declarations

#### Ethics approval and consent to participate

Ethical approval for this study (AZ 258/19) was provided by the local ethics committee of the medical faculty of the Justus-Liebig-University, Giessen, Germany on 13 March 2020, and this trial was registered with the German Clinical Trials Register (DRKS00022917). All methods were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations (Declaration of Helsinki and international and national standards/regulations). Informed consent to participate was obtained from all subjects or their legal guardian(s).

#### Consent for publication

Not applicable.

#### Competing interests

Michael Sander and Emmanuel Schneck are consultants for Edwards Lifesciences. All other authors declare that they have no conflict of interest.

#### Author details

<sup>1</sup>Department of Anesthesiology, Operative Intensive Care Medicine and Pain Therapy, Justus Liebig University of Giessen, Rudolf-Buchheim-Strasse 7, 35392 Giessen, Germany. <sup>2</sup>Department of Neurosurgery, University of Giessen, Justus Liebig University of Giessen, Klinikstrasse 33, 35392 Giessen, Germany.

Received: 1 September 2022 Accepted: 16 December 2022

Published online: 23 December 2022

### References

- Miller TE, Myles PS. Perioperative fluid therapy for major surgery. *Anesthesiology*. 2019;130:825–32. <https://doi.org/10.1097/ALN.00000000000002603>.
- Malbrain MLNG, Langer T, Annane D, Gattinoni L, Elbers P, Hahn RG, et al. Intravenous fluid therapy in the perioperative and critical care setting: executive summary of the International Fluid Academy (IFA). *Ann Intensive Care*. 2020;10:64. <https://doi.org/10.1186/s13613-020-00679-3>.
- Noonpradej S, Akaraborworn O. Intravenous fluid of choice in major abdominal surgery: a systematic review. *Crit Care Res Pract*. 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2170828>.
- Jacob M, Chappell D, Hofmann-Kiefer K, Helfen T, Schuelke A, Jacob B, et al. The intravascular volume effect of Ringer's lactate is below 20%: a prospective study in humans. *Crit Care*. 2012;16:R86. <https://doi.org/10.1186/cc11344>.
- Lilot M, Ehrenfeld JM, Lee C, Harrington B, Cannesson M, Rinehart J. Variability in practice and factors predictive of total crystalloid administration during abdominal surgery: Retrospective two-centre analysis. *Br J Anaesth*. 2015;114:767–76. <https://doi.org/10.1093/bja/aeu452>.
- Eastwood GM, Parke R, Peck L, Young H, Paton E, Zhang L, et al. Intravenous fluid bolus therapy: a bi-national survey of critical care nurses' self-reported practice. *Anaesth Intensive Care*. 2016;44:44–51. <https://doi.org/10.1177/0310057x1604400108>.
- Messina A, Pelaia C, Bruni A, Garofalo E, Bonicolini E, Longhini F, et al. Fluid challenge during anesthesia: a systematic review and meta-analysis. *Anesth Analg*. 2018;127:1353–64. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000003834>.
- Benes J, Chytra I, Altmann P, Hluchy M, Kasal E, Svitak R, et al. Intraoperative fluid optimization using stroke volume variation in high risk surgical patients: results of prospective randomized study. *Crit Care*. 2010;14:R118. <https://doi.org/10.1186/cc9070>.
- Scheeren TWL, Wiesenack C, Gerlach H, Marx G. Goal-directed intraoperative fluid therapy guided by stroke volume and its variation in high-risk surgical patients: A prospective randomized multicentre study. *J Clin Monit Comput*. 2013;27:225–33. <https://doi.org/10.1007/s10877-013-9461-6>.
- Schneck E, Schulte D, Habig L, Ruhrmann S, Edinger F, Markmann M, et al. Hypotension Prediction Index based protocolized haemodynamic management reduces the incidence and duration of intraoperative hypotension in primary total hip arthroplasty: a single centre feasibility randomised blinded prospective interventional trial. *J Clin Monit Comput*. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10877-019-00433-6>.
- Funcke S, Saugel B, Koch C, Schulte D, Zajonz T, Sander M, et al. Individualized, perioperative, hemodynamic goal-directed therapy in major abdominal surgery (iPEGASUS trial): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2018;19:273. <https://doi.org/10.1186/s13063-018-2620-9>.
- Stevens PE, Levin A. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: Improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med*. 2013;158:825–30. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-158-11-201306040-00007>.
- Lobo SM, Ronchi LS, Oliveira NE, Brandão PG, Froes A, Cunrath GS, et al. Restrictive strategy of intraoperative fluid maintenance during optimization of oxygen delivery decreases major complications after high-risk surgery. *Crit Care*. 2011;15:R226. <https://doi.org/10.1186/cc10466>.
- Kozek-Langenecker SA, Afshari A, Albaladejo P, Santullano CAA, De Robertis E, Filipescu DC, et al. Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology. *Eur J Anaesthesiol*. 2013;30:270–382. <https://doi.org/10.1097/EJA.0b013e32835f4d5b>.
- Cecconi M, Hofer C, Teboul JL, Pettita V, Wilkman E, Molnar Z, et al. Fluid challenges in intensive care: the FENICE study: A global inception cohort study. *Intensive Care Med*. 2015;41:1529–37. <https://doi.org/10.1007/s00134-015-3850-x>.
- Cecconi M, Parsons AK, Rhodes A. What is a fluid challenge? *Curr Opin Crit Care*. 2011;17:290–5. <https://doi.org/10.1097/MCC.0b013e32834699cd>.
- Prather JW, Taylor AE, Guyton AC. Effect of blood volume, mean circulatory pressure, and stress relaxation on cardiac output. *Am J Physiol*. 1969;216:467–72. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1969.216.3.467>.
- Aya HD, Ster IC, Fletcher N, Grounds RM, Rhodes A, Cecconi M. Pharmacodynamic analysis of a fluid challenge. *Crit Care Med*. 2016;44:880–91. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000001517>.
- Messina A, Robba C, Calabrò L, Zambelli D, Iannuzzi F, Molinari E, et al. Perioperative liberal versus restrictive fluid strategies and postoperative outcomes: a systematic review and meta-analysis on randomised-controlled trials in major abdominal elective surgery. *Crit Care*. 2021;25:205. <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03629-y>.
- Thacker JKM, Mountford WK, Ernst FR, Krukus MR, Mythen MG. Perioperative fluid utilization variability and association with outcomes: considerations for enhanced recovery efforts in sample US surgical populations. *Ann Surg*. 2016;263:502–10. <https://doi.org/10.1097/SLA.00000000000001402>.
- Trof RJ, Sukul SP, Twisk JWR, Girbes ARJ, Groeneveld ABJ. Greater cardiac response of colloid than saline fluid loading in septic and non-septic critically ill patients with clinical hypovolaemia. *Intensive Care Med*. 2010;36:697–701. <https://doi.org/10.1007/s00134-010-1776-x>.
- Boer C, Bossers SM, Koning NJ. Choice of fluid type: physiological concepts and perioperative indications. *Br J Anaesth*. 2018;120:384–96. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2017.10.022>.

23. Ertmer C, Rehberg S, Van Aken H, Westphal M. Relevance of non-albumin colloids in intensive care medicine. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2009;23:193–212. <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2008.11.001>.
24. Biais M, Bernard O, Ha JC, Degryse C, Sztark F. Abilities of pulse pressure variations and stroke volume variations to predict fluid responsiveness in prone position during scoliosis surgery. *Br J Anaesth.* 2010;104:407–13. <https://doi.org/10.1093/bja/aeq031>.















### **Publisher's Note**

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**6.4. Cardiac index-guided therapy to maintain optimised postinduction cardiac index in high-risk patients having major open abdominal surgery: the multicentre randomised iPEGASUS trial**

## CARDIOVASCULAR

## Cardiac index-guided therapy to maintain optimised postinduction cardiac index in high-risk patients having major open abdominal surgery: the multicentre randomised iPEGASUS trial

Sandra Funcke<sup>1,†</sup>, Götz Schmidt<sup>2,†</sup>, Alina Bergholz<sup>1</sup>, Pilar Argente Navarro<sup>3</sup>, Gonzalo Azparren Cabezon<sup>4</sup>, Silvia Barbero-Espinosa<sup>4</sup>, Oscar Diaz-Cambronero<sup>3</sup>, Fabian Edinger<sup>2</sup>, Nuria García-Gregorio<sup>3</sup>, Marit Habicher<sup>2</sup>, Gerd Klinkmann<sup>5,6</sup>, Christian Koch<sup>2</sup>, Alina Kröker<sup>1</sup>, Thomas Mencke<sup>5</sup>, Victoria Moral García<sup>4</sup>, Amelie Zitzmann<sup>5</sup>, Susanne Lezius<sup>7</sup>, Amra Pepić<sup>7</sup>, Daniel I. Sessler<sup>8,9</sup>, Michael Sander<sup>2</sup>, Sebastian A. Haas<sup>5</sup>, Daniel A. Reuter<sup>5,†</sup> and Bernd Saugel<sup>1,9,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Anesthesiology, Center of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany, <sup>2</sup>Department of Anesthesiology, Operative Intensive Care and Pain Therapy, Justus-Liebig-University Giessen, Giessen, Germany, <sup>3</sup>Department of Anesthesiology, Perioperative Medicine Research Group, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain, <sup>4</sup>Department of Anesthesia and Pain Management, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain, <sup>5</sup>Department of Anaesthesiology, Intensive Care Medicine and Pain Therapy, University Medical Centre of Rostock, Rostock, Germany, <sup>6</sup>Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology, Department of Extracorporeal Therapy Systems, Rostock, Germany, <sup>7</sup>Institute of Medical Biometry and Epidemiology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany, <sup>8</sup>Outcomes Research Consortium, Department of Anesthesiology, Cleveland Clinic, Cleveland, OH, USA and <sup>9</sup>Outcomes Research Consortium, Cleveland, OH, USA

\*Corresponding author. E-mail: [bernd.saugel@gmx.de](mailto:bernd.saugel@gmx.de)

†These authors contributed equally.



This article is accompanied by an editorial: Individualising goal-directed haemodynamic therapy: future iterations will require novel trial designs by M.R. Edwards, *Br J Anaesth* 2024;133: 241–244, doi: [10.1016/j.bja.2024.04.050](https://doi.org/10.1016/j.bja.2024.04.050)

### Abstract

**Background:** It is unclear whether optimising intraoperative cardiac index can reduce postoperative complications. We tested the hypothesis that maintaining optimised postinduction cardiac index during and for the first 8 h after surgery reduces the incidence of a composite outcome of complications within 28 days after surgery compared with routine care in high-risk patients having elective major open abdominal surgery.

**Methods:** In three German and two Spanish centres, high-risk patients having elective major open abdominal surgery were randomised to cardiac index-guided therapy to maintain optimised postinduction cardiac index (cardiac index at which pulse pressure variation was <12%) during and for the first 8 h after surgery using intravenous fluids and dobutamine or to routine care. The primary outcome was the incidence of a composite outcome of moderate or severe complications within 28 days after surgery.

**Results:** We analysed 318 of 380 enrolled subjects. The composite primary outcome occurred in 84 of 152 subjects (55%) assigned to cardiac index-guided therapy and in 77 of 166 subjects (46%) assigned to routine care (odds ratio: 1.87, 95% confidence interval: 1.03–3.39,  $P=0.038$ ). Per-protocol analyses confirmed the results of the primary outcome analysis.

**Conclusions:** Maintaining optimised postinduction cardiac index during and for the first 8 h after surgery did not reduce, and possibly increased, the incidence of a composite outcome of complications within 28 days after surgery compared

Received: 7 February 2024; Accepted: 25 March 2024

© 2024 The Author(s). Published by Elsevier Ltd on behalf of British Journal of Anaesthesia. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

For Permissions, please email: [permissions@elsevier.com](mailto:permissions@elsevier.com)

with routine care in high-risk patients having elective major open abdominal surgery. Clinicians should not strive to maintain optimised postinduction cardiac index during and after surgery in expectation of reducing complications.

**Clinical trial registration:** NCT03021525.

**Keywords:** anaesthesia; cardiac output; cardiovascular dynamics; haemodynamic monitoring; individualised; morbidity; mortality; randomised controlled trial

### Editor's key points

- Optimising perfusion during surgery could help reduce postoperative complications.
- This multicentre randomised trial tested the hypothesis that maintaining optimised postinduction cardiac index during and after surgery reduces the incidence of complications within 28 days after surgery compared with routine care.
- Maintaining optimised postinduction cardiac index did not reduce, and possibly increased, the incidence of complications compared with routine care in high-risk patients having elective major open abdominal surgery.

About one in five patients having inpatient noncardiac surgery develops postoperative complications.<sup>1,2</sup> Postoperative complications are associated with short-term<sup>3</sup> and long-term<sup>2,4</sup> postoperative mortality. Reducing postoperative complications might thus improve long-term surgical outcomes. The aetiology of postoperative complications is multifactorial but likely includes inadequate organ perfusion during surgery.<sup>5</sup> Optimising blood flow (i.e. stroke volume or cardiac output) during surgery could thus help reduce postoperative complications,<sup>6–8</sup> but optimal target values remain elusive.

Cardiac output is highly variable, both within and between individuals.<sup>9,10</sup> We thus assumed that intraoperative cardiac output targets can best be individually defined after the induction of general anaesthesia.<sup>11</sup> As cardiac output depends on intravascular fluid status, we further assumed that postinduction cardiac output is optimal when patients are unlikely to be fluid responsive. Fluid responsiveness, defined by an increase in cardiac output after fluid administration, can be predicted by pulse pressure variation.<sup>12–14</sup> We therefore used pulse pressure variation to optimise postinduction cardiac index (cardiac output indexed to body surface area), and aimed to determine whether maintaining optimised postinduction cardiac index during surgery improves patient outcomes. Specifically, we tested the primary hypothesis that maintaining optimised postinduction cardiac index during and for the first 8 h after surgery reduces the incidence of a composite outcome of complications within 28 days after surgery compared with routine care in high-risk patients having elective major open abdominal surgery.

## Methods

### Trial design

The multicentre randomised 'Individualized Perioperative Hemodynamic Goal-directed Therapy in Major Abdominal Surgery' (iPEGASUS) trial was conducted between August 29, 2017 and August 26, 2023 in three German and two Spanish medical centres.<sup>15</sup> The trial was approved by the primary ethics

committee (Ethics Committee of the University of Gießen, Gießen, Germany) on February 8, 2017 (reference number 257/16) and by the ethics committees of all participating centres. All subjects provided written informed consent.

The trial was registered at [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) (NCT03021525) on January 16, 2017 and supervised by a data safety monitoring board. The statistical analysis plan was written and approved by the principal investigators and trial statisticians before data analysis. This trial is reported according to the Consolidated Standards of Reporting Trials statement.<sup>16</sup>

### Subjects

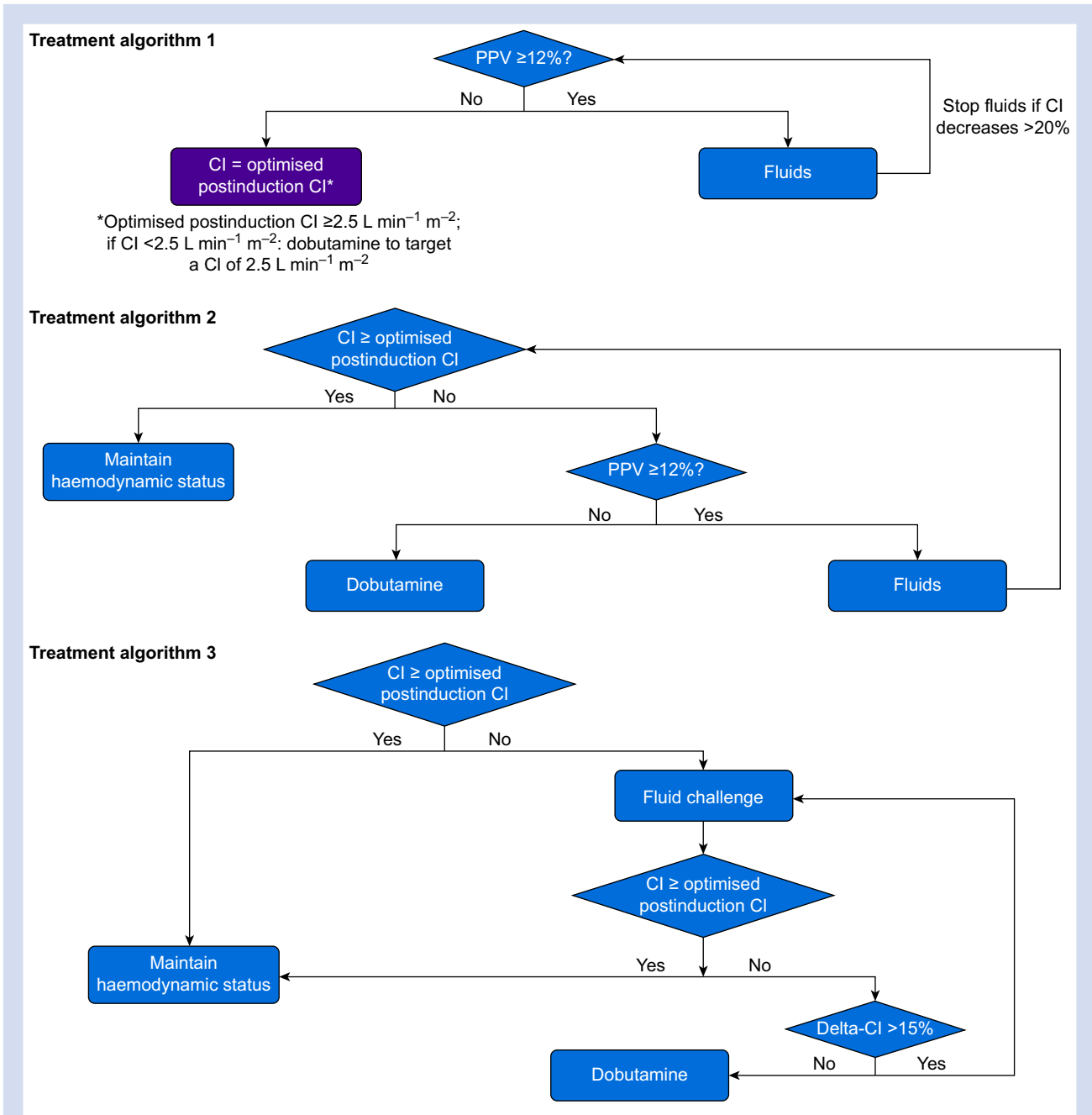
We enrolled consenting adults scheduled for elective major open abdominal (i.e. visceral, urological, or gynaecological) surgery expected to last >2 h whom we expected to get >2 L of intravenous fluids and who had ≥10% risk of postoperative complications according to the American College of Surgery – National Surgical Quality Improvement Program risk calculator.<sup>17</sup> We excluded patients in whom laparoscopic surgery was planned; pregnant women; patients who had heart rhythms other than sinus rhythm, left ventricular ejection fraction <30%, aortic valve stenosis with an aortic valve area <1 cm<sup>2</sup> or mean gradient >40 mm Hg, pheochromocytoma, acute myocardial ischaemia within 30 days before randomisation, septic shock, anuric renal failure; and patients receiving palliative treatment. Inclusion was further restricted to patients in whom clinicians did not plan to use cardiac index monitoring. We excluded patients after randomisation who had surgery lasting <2 h or who were given <2 L of intravenous fluids.

### Randomisation and protocol

We previously published the trial protocol.<sup>15</sup> Basic anaesthetic management was per local routine. General anaesthesia was maintained with inhaled or intravenous anaesthetics. When clinically indicated, an epidural catheter was inserted before induction of general anaesthesia. Clinicians aimed to maintain mean arterial pressure >65 mm Hg, heart rate <100 beats min<sup>-1</sup>, peripheral oxygen saturation >93% (by varying inspired oxygen fraction, tidal volumes within 6–8 ml kg<sup>-1</sup>, and positive end-expiratory pressure 0–10 cm H<sub>2</sub>O), and body core temperature >36°C.

Subjects were centrally randomised to cardiac index-guided therapy to maintain optimised postinduction cardiac index during and for the first 8 h after surgery (cardiac index-guided therapy) or to routine care in a 1:1 ratio using computer-generated codes.

In subjects assigned to cardiac index-guided therapy, cardiac index and pulse pressure variation were measured using internally calibrated pulse wave analysis (ProAQT; Pulsion Medical Systems, Feldkirchen, Germany).<sup>18–20</sup> We assumed that postinduction cardiac index was optimal when pulse pressure variation was <12% (treatment algorithm 1, Fig. 1). If pulse pressure variation was ≥12% after the induction of general



**Fig 1.** Treatment algorithms. Treatment algorithm 1 illustrates determination of the optimised postinduction cardiac index at which pulse pressure variation was  $<12\%$  after induction of general anaesthesia. Clinicians were asked to maintain optimised postinduction cardiac index during surgery according to treatment algorithm 2. During the first 8 h after surgery, cardiac index-guided therapy was performed according to treatment algorithm 2 in subjects on controlled mechanical ventilation or according to treatment algorithm 3 in spontaneously breathing subjects. CI, cardiac index; PPV, pulse pressure variation.

anaesthesia, we gave fluids until pulse pressure variation was  $<12\%$ , and then defined the respective cardiac index as 'optimised postinduction cardiac index'. If pulse pressure variation was  $<12\%$  after induction of general anaesthesia, we defined the respective cardiac index as 'optimised postinduction cardiac index'. In either case, the minimum 'optimised postinduction cardiac index' we allowed was  $2.5 \text{ L min}^{-1} \text{ m}^{-2}$ .

Clinicians were asked to maintain optimised postinduction cardiac index by giving dobutamine or 500 ml fluid boluses during surgery (treatment algorithm 2; Fig. 1), and, as practical, for the first 8 h after surgery. During the first 8 h after surgery, cardiac index-guided therapy was performed according to treatment algorithm 2 in subjects on controlled mechanical ventilation or according to treatment algorithm 3 in

spontaneously breathing subjects (Fig. 1). In subjects assigned to routine care, clinicians managed haemodynamics without cardiac index monitoring per local clinical routine. Subjects were blinded to group allocation before and during surgery. Clinicians and outcome assessors were not blinded to group allocation.

## Outcomes

The primary outcome was the incidence of a collapsed (any event vs none) composite outcome of complications within 28 days after surgery (Supplementary Methods). Complications included death and 22 complications as defined by the European Perioperative Clinical Outcome definitions.<sup>21</sup> We only considered complications if classified as moderate or severe.<sup>21</sup>

Secondary outcomes included the incidences of the composite outcome within 3 and 7 days after surgery; the individual incidences of each complication within 3, 7, and 28 days after surgery; the number of complications per subject within 3, 7, and 28 days after surgery; length of stay in the intensive care unit and in the hospital within 6 months after surgery; days alive within 6 months after surgery; and the incidence of death within 6 months after surgery.

Subjects were followed during their hospital stay and up to 6 months after surgery. Postoperative outcomes were assessed by reviewing electronic medical records and telephone interviews.

## Statistical analysis

Categorical data are presented as absolute number (percentage). Continuous data are presented as mean (standard deviation [SD]) or median (25th percentile–75th percentile). All statistical tests were performed two-sided at a 5% significance level. Confidence intervals (CIs) are presented as 95% two-sided. We calculated absolute standardised differences<sup>22</sup> to describe baseline imbalances between the two treatment groups, and considered factors with absolute standardised differences >0.2 as imbalanced. The primary and secondary outcomes were assessed in the modified intention-to-treat population, that is subjects who were randomised, had surgery lasting >120 min, and who were given >2 L of fluid.

The incidence of the composite primary outcome was compared between subjects assigned to cardiac index-guided therapy and subjects assigned to routine care using a binary logistic regression model with treatment group and centre as independent variables. A treatment-by-centre interaction was also included in the model. We report adjusted odds ratios with 95% CIs and *P*-values.

As a sensitivity analysis, the analysis was conducted adjusting for imbalanced baseline variables between groups. In two separate per-protocol analyses, we compared the incidence of the primary outcome between subjects assigned to routine care and subjects assigned to cardiac index-guided therapy in whom: (a) cardiac index was at or above the optimised postinduction cardiac index for ≥80% of the intervention period (i.e. during surgery and during the first 8 h after surgery); and (b) treatment algorithm 2 was correctly followed for ≥80% of the time during surgery (Supplementary Methods).

Secondary outcomes were not adjusted for multiple analyses. Binary secondary outcomes are described using absolute and relative frequencies. The incidences of binary secondary outcomes were compared between subjects assigned to cardiac index-guided therapy and subjects assigned to routine

care as for the primary outcome. For the individual incidences of each complication, statistical tests were restricted to complications within 28 days after surgery (owing to multiplicity) and to complications with at least two events per treatment group (owing to model computability). The other binary secondary outcomes are presented descriptively.

Count secondary outcomes were analysed using negative binomial regression models with treatment group and centre as independent variables. Analyses were restricted to complications with at least two events. The interaction term was kept in the model if the *P*-value for treatment-by-centre interaction was <0.05. Observed and adjusted event rates for the treatment groups, and the adjusted incidence rate ratios with 95% CI and *P*-values for the group comparison, are presented either overall or separated by centre when interaction terms were kept in the model.

The secondary outcome ‘days alive within 6 months after surgery’ was analysed using a linear regression model with treatment group and centre as independent variables. The interaction term was kept in the model if the *P*-value for treatment-by-centre interaction was <0.05. Observed mean (SD) for the treatment groups, and the adjusted mean difference with 95% CI and *P*-value for the group comparison, are presented either overall or separated by centre when interaction terms were kept in the model.

Analyses were performed using R version 4.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) or Stata 17 (StataCorp LLC, College Station, TX, USA).

## Sample size estimate

We assumed that the composite primary outcome would occur in 48% of subjects assigned to routine care. 167 subjects per group (*n*=334 in total) would provide 80% power for detecting an absolute reduction in the incidence of the composite primary outcome from 48% in subjects assigned to routine care to 33% in subjects assigned to cardiac index-guided therapy at a significance level of 5%. We planned to exclude the first two subjects in each centre *a priori* and to perform an interim analysis after recruitment of 50% of subjects. Allowing for 10% of subjects dropping out and excluding the first two subjects in each centre, we planned to enrol a total of 380 subjects (190 subjects per group).

## Results

### Subject enrolment and follow-up

As planned, we enrolled 380 subjects but excluded 16 before and 46 after randomisation (Fig. 2; Supplementary Table S2). We thus finally analysed 318 subjects, 152 (48%) assigned to cardiac index-guided therapy and 166 (52%) assigned to routine care. Demographic and baseline characteristics were generally well-balanced between the two groups, but subjects assigned to cardiac index-guided therapy had a higher body weight and were more often receiving chronic antihypertensive medications (Table 1). All subjects were followed up until 6 months after surgery.

### Trial treatment

In the 152 subjects assigned to cardiac index-guided therapy, the median optimised postinduction cardiac index was 2.6 (2.5–2.8) L min<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> and ranged from 2.5 L min<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> to 4.2 L min<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup>; 71 of these 152 (47%) subjects required fluids to

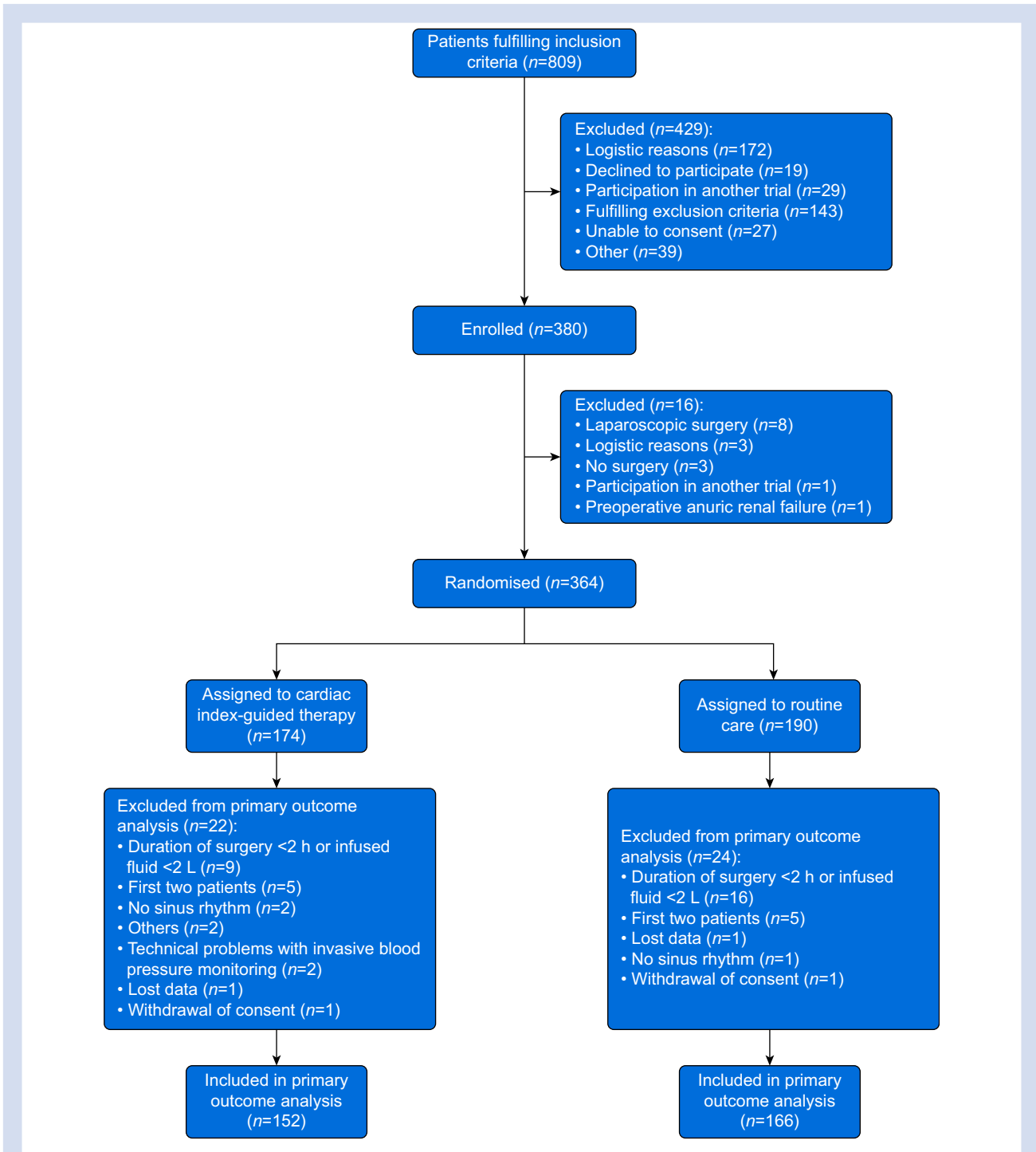


Fig 2. Subject flow chart. Flow chart illustrating subject screening, enrolment, randomisation, and reasons for exclusion.

achieve the optimised postinduction cardiac index (i.e. the cardiac index at which pulse pressure variation was <12%). The median amount of fluid subjects were given to achieve the optimised postinduction cardiac index was 500 (500–500) ml.

A vasopressor was given to 135 of the 152 subjects (89%) assigned to cardiac index-guided therapy and to 141 of the 166 subjects (85%) assigned to routine care. Subjects assigned to cardiac index-guided therapy were given slightly more fluids

than subjects assigned to routine care (median total amount of fluids: 4380 [3557–5789] ml vs 4000 [3200–5263] ml; Table 2). Dobutamine was given to 66 of the 152 subjects (43%) assigned to cardiac index-guided therapy, but to none of the subjects assigned to routine care.

In 120 of the 152 subjects (79%) assigned to cardiac index-guided therapy, cardiac index was at or above the optimised postinduction cardiac index for  $\geq 80\%$  of the intervention

**Table 1** Baseline subject characteristics. Categorical data are presented as n (%), and continuous data are presented as median (25th percentile–75th percentile). Percentages may not sum up to 100% because of rounding. ACS-NSQUIP, American College of Surgery – National Surgical Quality Improvement Program.

Characteristic	Routine care (n=166)	Cardiac index-guided therapy (n=152)	Absolute standardised difference
Age (yr)	64 (55–75)	68 (61–74)	0.197
Height (cm)	171 (164–176)	170 (162–177)	0.097
Weight (kg)	73 (62–83)	78 (64–89)	0.206
Sex, n (%)			
Female	67 (40)	60 (39)	0.018
Male	99 (60)	92 (61)	
American Society of Anesthesiologists physical status, n (%)			
1	5 (3)	2 (1)	0.117
2	74 (45)	67 (44)	0.010
3	87 (52)	81 (53)	0.018
4	0 (0)	2 (1)	0.162
ACS-NSQUIP risk score for serious postoperative complications (%)	18 (13–25)	19 (14–26)	0.048
ACS-NSQUIP risk score for any postoperative complications (%)	22 (15–29)	22 (17–30)	0.068
Baseline risk factors, n (%)			
Chronic arterial hypertension/peripheral arterial occlusive disease	82 (49)	90 (59)	0.198
Chronic kidney disease	16 (10)	11(7)	0.087
Chronic obstructive pulmonary disease/chronic restrictive pulmonary disease	23 (14)	23 (15)	0.034
Diabetes mellitus	43 (26)	33 (22)	0.099
Reduced ejection fraction/right ventricular dysfunction/coronary artery disease	10 (6)	9 (6)	0.004
Stroke	6 (4)	8 (5)	0.083
Thrombosis/pulmonary artery embolism/coagulation disorder	10 (6)	8 (5)	0.030
Antihypertensive medication	75 (45)	90 (59)	0.283
Immunosuppressive medication	8 (5)	5 (3)	0.076
Type of surgery, n (%)			
Visceral	115 (69)	98 (64)	0.102
Urological	37 (22)	46 (30)	0.182
Gynaecological	14 (8)	8 (5)	0.123

period. In 143 of the 152 subjects (94%), treatment algorithm 2 was correctly followed  $\geq 80\%$  of the time during surgery. Cardiac index-guided therapy was continued until 8 h after surgery in 122 of the 152 subjects (80%) assigned to cardiac index-guided therapy (Supplementary Fig. S1).

### Primary outcome

The composite primary outcome occurred in 84 of 152 subjects (55%) assigned to cardiac index-guided therapy and in 77 of 166 subjects (46%) assigned to routine care (odds ratio: 1.87, 95% CI: 1.03–3.39,  $P=0.038$ ; Fig. 3; Supplementary Fig. S2). Adjusting for imbalanced baseline variables (body weight and chronic antihypertensive medications) resulted in an adjusted odds ratio of 1.84 (95% CI: 1.01–3.38,  $P=0.047$ ).

Per-protocol analyses confirmed the results of the primary outcome analysis in the modified intention-to-treat population. The composite primary outcome occurred in 67 of 120 subjects (56%) assigned to cardiac index-guided therapy in whom cardiac index was at or above the optimised post-induction cardiac index  $\geq 80\%$  of the intervention period (odds ratio: 1.79, 95% CI: 0.97–3.30,  $P=0.062$ ) and in 79 of 143 subjects (55%) assigned to cardiac index-guided therapy in whom treatment algorithm 2 was correctly followed  $\geq 80\%$  of the time during surgery (odds ratio: 1.86, 95% CI: 1.03–3.39,  $P=0.041$ ).

### Secondary outcomes

The individual incidences of each complication within 28 days after surgery are shown in Fig. 3. The composite outcome

occurred more frequently in subjects assigned to cardiac index-guided therapy than in subjects assigned to routine care both within 3 days after surgery (22% vs 17%) and within 7 days after surgery (37% vs 28%) (Supplementary Table S1). Subjects assigned to cardiac index-guided therapy had more complications within 3, 7, and 28 days after surgery than subjects assigned to routine care (Supplementary Table S1). At 6 months after surgery, 10 of the 152 subjects (7%) assigned to cardiac index-guided therapy and 21 of the 166 subjects (13%) assigned to routine care had died (odds ratio: 0.48, 95% CI: 0.22–1.05,  $P=0.065$ ; Table 3; Supplementary Fig. S3).

### Discussion

Contrary to our hypothesis, maintaining optimised post-induction cardiac index during and for the first 8 h after surgery did not reduce, and possibly increased, the incidence of a composite outcome of complications within 28 days after surgery compared with routine care in high-risk patients having elective major open abdominal surgery.

There are numerous previous trials on cardiac output-guided management in patients having noncardiac surgery.<sup>6–8,23</sup> It nevertheless remains controversial whether targeted perioperative cardiac output management improves postoperative outcomes.<sup>8</sup> The results of most multicentre trials are consistent with ours, and indicate that cardiac output-guided management does not improve outcomes in patients having noncardiac surgery. In a multicentre trial including 482 abdominal surgery patients, targeting fixed age-specific cardiac index values did not reduce major complications compared with routine care.<sup>24</sup> In the two largest trials so far,

**Table 2** Clinical characteristics. Categorical data are presented as n (%), and continuous data are presented as median (25th percentile–75th percentile).

Characteristic	Routine care (n=166)	Cardiac index-guided therapy (n=152)
<b>Duration</b>		
Duration of total intervention period (min)	690 (622–780)	719 (631–780)
Duration of surgery (min)	230 (180–300)	240 (180–321)
Duration of postoperative intervention period (h)	8.0 (7.7–8.0)	8.0 (8.0–8.0)
<b>Anaesthetic technique, n (%)</b>		
Balanced anaesthesia	122 (73)	120 (79)
Total intravenous anaesthesia	44 (27)	32 (21)
Epidural catheter	124 (75)	105 (69)
<b>Arterial blood pressure</b>		
Intra-arterial blood pressure monitoring, n (%)	141 (85)	152 (100)
Mean arterial pressure during surgery (mm Hg)	77 (73–82)	77 (72–83)
Mean arterial pressure during postoperative intervention period (mm Hg)	78 (72–84)	78 (72–86)
<b>Fluids</b>		
Crystalloids (ml)	3375 (2814–4199)	3732 (3032–4642)
Colloids (ml)	500 (0–700)	500 (0–1000)
Transfusion of fresh frozen plasma, n (%)	21 (13)	13 (9)
Transfusion of packed red cells, n (%)	32 (19)	36 (24)
Total amount of fluids (ml)	4000 (3200–5301)	4337 (3519–5804)
Amount of fluids during surgery (ml)	2700 (2200–4000)	3005 (2362–4300)
Amount of fluids during postoperative intervention period (ml)	1199 (700–1540)	1179 (797–1865)
<b>Vasopressor use, n (%)</b>		
Any vasopressor	141 (85)	135 (89)
Norepinephrine	99 (60)	119 (78)
Cafedrine/theodrenaline	44 (27)	39 (26)
Ephedrine	29 (17)	20 (13)
Phenylephrine	28 (17)	16 (11)
<b>Dobutamine use</b>		
Dobutamine, n (%)	0 (0)	66 (43)
Total dobutamine dose (n=66; mg)	–	27 (14–50)
Dobutamine dose during surgery (n=66; mg)	–	21 (12–47)
Dobutamine dose during postoperative intervention period (n=23; mg)	–	5 (2–49)
<b>Estimated blood loss (ml)</b>	500 (300–1000)	600 (400–950)
<b>Diuresis (ml)</b>	848 (570–1260)	908 (553–1270)
<b>Extubation after end of surgery, n (%)</b>	141 (85)	129 (85)
<b>Postoperative destination, n (%)</b>		
General ward	73 (44)	60 (39)
Intensive care or high-dependency unit	93 (56)	92 (61)

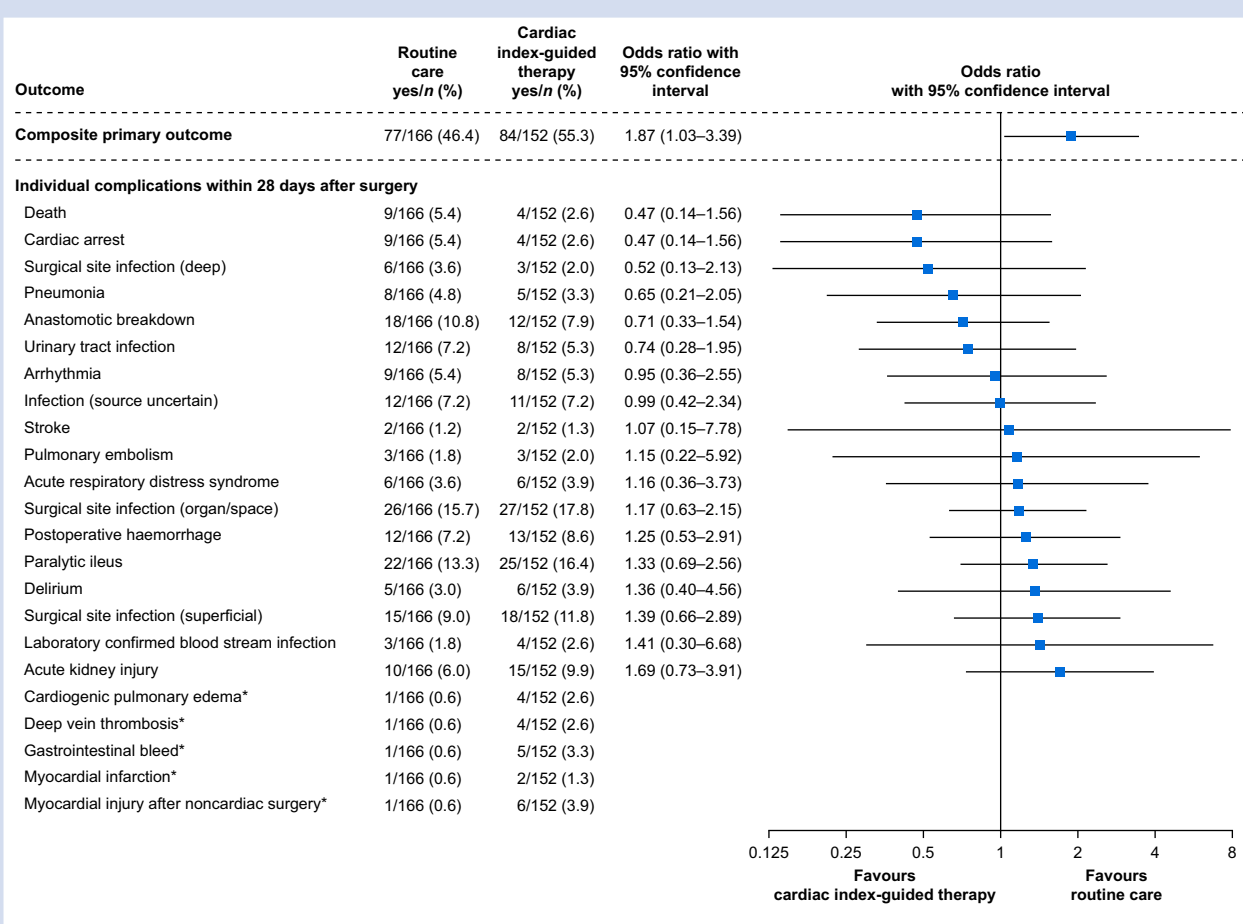
maximising stroke volume with fluid challenges after anaesthetic induction and maintaining this maximised post-induction stroke volume by giving fluids and a fixed low dose of an inotrope during major gastrointestinal surgery did not reduce the incidence of a composite outcome of 30-day postoperative complications and death in 734 patients (OPTIMISE<sup>25</sup>) or the incidence of 30-day postoperative infectious complications in 2498 patients (OPTIMISE II<sup>26</sup>; results presented at the EBPOW World Congress of Prehabilitation Medicine 2023 in London on July 6, 2023).

We assumed that postinduction cardiac index is optimal when patients are unlikely to be fluid responsive. We thus used pulse pressure variation to optimise postinduction cardiac index, and then maintained optimised cardiac index during and for the first 8 h after surgery. We chose to define optimised cardiac index after induction of general anaesthesia for two main reasons. Firstly, cardiac index is mainly determined by metabolic needs.<sup>27</sup> Energy expenditure after induction of general anaesthesia is about 25% lower than awake resting energy expenditure and reflects energy expenditure during abdominal surgery.<sup>28</sup> Secondly, defining cardiac index targets after induction of general anaesthesia allowed us to

use pulse pressure variation that can predict fluid responsiveness only during controlled mechanical ventilation.<sup>13,14,29</sup>

Protocol adherence is crucial in trials of targeted haemodynamic management. Adherence was good in our trial. Cardiac index was sustained at or above the optimised postinduction cardiac index for  $\geq 80\%$  of the intervention period in 79% of subjects, and the treatment algorithm was correctly followed for  $\geq 80\%$  of the time during surgery in 94% of subjects. It is thus highly unlikely that better protocol adherence would have changed our findings. The question, then, is whether a different protocol might have produced favourable outcomes.

Using optimised postinduction cardiac index as intraoperative target might not have been the best approach. Anaesthetic induction agents can produce myocardial depression and vasodilation resulting in relative hypovolaemia.<sup>30–32</sup> Cardiac index measured just after induction of general anaesthesia might thus be particularly low and pulse pressure variation particularly high. Consistent with this, about half of the subjects required fluids to achieve the optimised postinduction cardiac index (i.e. to decrease pulse pressure variation to  $<12\%$ ).



**Fig 3.** Primary outcome. Forest plots showing the effect of cardiac index-guided therapy compared with routine care on the composite primary outcome and individual complications within 28 days after surgery. \*Statistical tests were restricted to complications with at least two events per treatment group owing to model computability.

Targeting cardiac index measured *before* induction of anaesthesia might have been preferable intraoperatively, and likely would have been preferable postoperatively. Consistent with this assumption, maintaining preoperative resting cardiac index reduced major postoperative complications within 30 days after surgery compared with routine care in 188 high-risk patients having major abdominal surgery.<sup>33</sup> Additionally, as fluid responsiveness is not the same as the need for fluids, it might be better to simply define cardiac index targets without considering fluid responsiveness.

Our results suggest that maintaining optimised post-induction cardiac index might increase the risk for postoperative complications, but potential underlying mechanisms remain speculative. The median total amount of fluids was only slightly higher in subjects assigned to cardiac index-guided therapy than in subjects assigned to routine care, and > 80% of subjects in each group were given vasopressors. Aside from potential differences in fluid timing, use of dobutamine was a main difference in the haemodynamic management between subjects assigned to cardiac index-guided therapy and subjects assigned to routine care. It remains unclear whether use of dobutamine was directly linked to complications.

A limitation of our trial is that recruiting 380 subjects took 6 yr, in part because of the COVID-19 pandemic. Furthermore, we performed the trial in only five centres. Including more centres would presumably have sped up recruitment and improved external validity. Additionally, subjects were blinded to group allocation before and during surgery, but could have recognised group allocation in the postoperative period. Outcome assessors were not systematically blinded to group allocation. However, it is unlikely that not blinding outcome assessors introduced bias because we used objective outcomes and monitored outcome data. We measured cardiac index using internally calibrated pulse wave analysis, which can become unreliable when vasomotor tone is markedly altered or rapidly changes.<sup>18–20</sup> However, the specific pulse wave analysis system we used is validated in surgical patients.<sup>34</sup> Additionally, using pulse wave analysis reflects current clinical practice because it is the most commonly used method to measure cardiac index during surgery.<sup>35,36</sup> Finally, we only measured cardiac index in subjects assigned to cardiac index-guided therapy, but not in subjects assigned to routine care. Blinded cardiac index monitoring in subjects assigned to routine care would have allowed to determine if

**Table 3** Secondary outcomes. Categorical data are presented as n (%) with odds ratio (95% confidence interval [CI]). Continuous data are presented as mean (standard deviation) with incidence rate ratio (95% CI) or mean difference (95% CI). The P-value for treatment-by-centre interaction was >0.05 for all presented outcomes (except for 'length of stay in the intensive care unit within 6 months after surgery' [P<0.001] and 'length of stay in the hospital within 6 months after surgery' [P=0.009]). Centre 1: University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany; Centre 2: University Medical Centre of Rostock, Rostock, Germany; Centre 3: Justus-Liebig-University Giessen, Giessen, Germany; Centre 4: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain; Centre 5: Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain. \*The effect size is an incidence rate ratio. †The effect size is a mean difference. ‡The effect size is an odds ratio.

Outcome		Routine care (n=166)	Cardiac index-guided therapy (n=152)	Effect size	P-value
Number of complications per subject within 28 days after surgery, n/n		1.1 (1.8)	1.3 (1.8)	1.13* (0.82–1.57)	0.447
Length of stay in the intensive care unit within 6 months after surgery (days)	Centre 1	1.8 (2.0)	4.0 (7.4)	2.24* (0.80–6.24)	0.123
	Centre 2	1.9 (2.5)	5.5 (7.4)	2.82* (1.22–6.53)	0.016
	Centre 3	2.9 (6.4)	2.7 (4.0)	0.91* (0.58–1.43)	0.697
	Centre 4	4.8 (12.6)	2.3 (3.5)	0.48* (0.26–0.87)	0.016
	Centre 5	0.5 (0.9)	2.3 (5.2)	4.64* (2.13–10.13)	<0.001
Length of stay in the hospital within 6 months after surgery (days)	Centre 1	22.6 (15.2)	18.5 (17.4)	0.82* (0.46–1.46)	0.497
	Centre 2	24.0 (14.5)	43.3 (45.0)	1.80* (1.12–2.90)	0.015
	Centre 3	17.9 (13.4)	15.7 (12.03)	0.88* (0.68–1.14)	0.319
	Centre 4	23.7 (23.3)	28.2 (25.5)	1.19* (0.85–1.68)	0.312
	Centre 5	14.4 (16.1)	24.6 (26.1)	1.71* (1.19–2.45)	0.004
Days alive within 6 months after surgery (days)		167.2 (44.2)	174.1 (33.9)	7.10 <sup>†</sup> (-1.68–15.87)	0.113
Death within 6 months after surgery, n (%)		21 (13)	10 (7)	0.48 <sup>‡</sup> (0.22–1.05)	0.065

intraoperative cardiac index markedly differed between treatment groups.

In conclusion, maintaining optimised postinduction cardiac index during and for the first 8 h after surgery did not reduce, and possibly increased, the incidence of a composite outcome of complications within 28 days after surgery compared with routine care in high-risk patients having elective major open abdominal surgery. Clinicians should not strive to maintain optimised postinduction cardiac index during and after surgery in the expectation of reducing complications.

### Authors' contributions

Trial conception and design: SF, SAH, DAR, BS  
 Data acquisition: GS, AB, PAN, GAC, SBE, ODC, FE, NGG, MH, GK, CK, AK, TM, VMG, AZ, MS, SAH  
 Data analysis and interpretation: all authors  
 Statistical analysis: SL, AP  
 Drafting of manuscript: SF, GS, AB, SL, DIS, DAR, BS  
 Critical revision of manuscript for important intellectual content: all authors  
 Final approval of the version to be published: all authors  
 Agreement to be accountable for all aspects of the work, thereby ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved: all authors

### Declarations of interest

SF, GS, AB, PAN, GAC, SBE, FE, NGG, GK, CK, AK, TM, VMG, SL, AP, DIS, and SAH declare that they have no conflict of interest related to this trial. ODC has received research grants and funding for medical advice or transportation from MSD, Bbraun, Menarini, Masimo and/or Norgine. MH has received honoraria for giving lectures from Edwards Lifesciences

(Irvine, CA, USA), and has received honoraria for giving lectures from Baxter (Deerfield, IL, USA). AZ has received a research grant, honoraria for giving lectures and refunds of travel expenses from Edwards Lifesciences (Irvine, CA, USA). MS is a consultant for Edwards Lifesciences and has received institutional research funding for investigator-initiated trials and honoraria for giving lectures from Edwards Lifesciences, has received honoraria for giving lectures from AMOMED (Vienna, Austria), Orion Pharma (Hamburg, Germany), and Philips Medizin Systeme Böblingen (Böblingen, Germany). DAR has received research funding (institutional) from Edwards and Getinge, and has received speaker honoraria from Edwards, Baxter, Ratiopharm, and Philips. BS is a consultant for and has received institutional restricted research grants and honoraria for giving lectures from Edwards Lifesciences (Irvine, CA, USA). BS is a consultant for Philips North America (Cambridge, MA, USA) and has received honoraria for giving lectures from Philips Medizin Systeme Böblingen (Böblingen, Germany). BS has received institutional restricted research grants and honoraria for giving lectures from Baxter (Deerfield, IL, USA). BS is a consultant for and has received institutional restricted research grants and honoraria for giving lectures from GE Healthcare (Chicago, IL, USA). BS has received institutional restricted research grants and honoraria for giving lectures from CNSystems Medizintechnik (Graz, Austria). BS is a consultant for Maquet Critical Care (Solna, Sweden). BS has received honoraria for giving lectures from Getinge (Gothenburg, Sweden). BS is a consultant for and has received institutional restricted research grants and honoraria for giving lectures from Pulsion Medical Systems (Feldkirchen, Germany). BS is a consultant for and has received institutional restricted research grants and honoraria for giving lectures from Vygon (Aachen, Germany). BS is a consultant for and has received institutional restricted research grants from Retia Medical (Valhalla, NY, USA). BS has received institutional restricted research grants from Osypka Medical (Berlin,

Germany). BS is a consultant for Dynocardia (Cambridge, MA, USA). BS was a consultant for and has received institutional restricted research grants from Tensys Medical (San Diego, CA, USA). BS is an editor of the *British Journal of Anaesthesia*.

## Funding

Pulsion Medical Systems, Germany and institutional and departmental sources.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.bja.2024.03.040>.

## References

- International Surgical Outcomes Study group. Global patient outcomes after elective surgery: prospective cohort study in 27 low-, middle- and high-income countries. *Br J Anaesth* 2016; **117**: 601–9
- Fowler AJ, Wan YI, Prowle JR, et al. Long-term mortality following complications after elective surgery: a secondary analysis of pooled data from two prospective cohort studies. *Br J Anaesth* 2022; **139**: 588–97
- Spence J, LeManach Y, Chan MTV, et al., Vascular Events in Noncardiac Surgery Patients Cohort Evaluation (VISION) Study Investigators. Association between complications and death within 30 days after noncardiac surgery. *CMAJ* 2019; **191**: E830–7
- Roshanov PS, Chan MTV, Borges FK, et al. One-year outcomes after discharge from noncardiac surgery and association between pre-discharge complications and death after discharge: analysis of the VISION prospective cohort study. *Anesthesiology* 2024; **140**: 8–24
- Parker T, Brealey D, Dyson A, Singer M. Optimising organ perfusion in the high-risk surgical and critical care patient: a narrative review. *Br J Anaesth* 2019; **123**: 170–6
- Cecconi M, Corredor C, Arulkumaran N, et al. Clinical review: goal-directed therapy-what is the evidence in surgical patients? The effect on different risk groups. *Crit Care* 2013; **17**: 209
- Chong MA, Wang Y, Berbenetz NM, McConachie I. Does goal-directed haemodynamic and fluid therapy improve peri-operative outcomes? A systematic review and meta-analysis. *Eur J Anaesthesiol* 2018; **35**: 469–83
- Jessen MK, Vallentin MF, Holmberg MJ, et al. Goal-directed haemodynamic therapy during general anaesthesia for noncardiac surgery: a systematic review and meta-analysis. *Br J Anaesth* 2022; **128**: 416–33
- Cain PA, Ahl R, Hedstrom E, et al. Age and gender specific normal values of left ventricular mass, volume and function for gradient echo magnetic resonance imaging: a cross sectional study. *BMC Med Imaging* 2009; **9**: 2
- Eyeington CT, Ancona P, Cioccarelli L, et al. Non-invasive estimation of cardiac index in healthy volunteers. *Anaesth Intensive Care* 2018; **46**: 290–6
- Saugel B, Vincent JL, Wagner JY. Personalized hemodynamic management. *Curr Opin Crit Care* 2017; **23**: 334–41
- Marik PE, Cavallazzi R, Vasu T, Hirani A. Dynamic changes in arterial waveform derived variables and fluid responsiveness in mechanically ventilated patients: a systematic review of the literature. *Crit Care Med* 2009; **37**: 2642–7
- Perel A. Using dynamic variables to guide perioperative fluid management. *Anesthesiology* 2020; **133**: 929–35
- Teboul JL, Monnet X, Chemla D, Michard F. Arterial pulse pressure variation with mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 2019; **199**: 22–31
- Funcke S, Saugel B, Koch C, et al. Individualized, perioperative, hemodynamic goal-directed therapy in major abdominal surgery (iPEGASUS trial): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2018; **19**: 273
- Schulz KF, Altman DG, Moher D. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Trials* 2010; **11**: 32
- Bilimoria KY, Liu Y, Paruch JL, et al. Development and evaluation of the universal ACS NSQIP surgical risk calculator: a decision aid and informed consent tool for patients and surgeons. *J Am Coll Surg* 2013; **217**: 833–42. e1–3
- Saugel B, Kouz K, Scheeren TWL, et al. Cardiac output estimation using pulse wave analysis-physiology, algorithms, and technologies: a narrative review. *Br J Anaesth* 2021; **126**: 67–76
- Kouz K, Scheeren TWL, de Backer D, Saugel B. Pulse wave analysis to estimate cardiac output. *Anesthesiology* 2021; **134**: 119–26
- Thomsen KK, Kouz K, Saugel B. Pulse wave analysis: basic concepts and clinical application in intensive care medicine. *Curr Opin Crit Care* 2023; **29**: 215–22
- Jammer I, Wickboldt N, Sander M, et al. Standards for definitions and use of outcome measures for clinical effectiveness research in perioperative medicine: European Perioperative Clinical Outcome (EPCO) definitions: a statement from the ESA-ESICM joint taskforce on perioperative outcome measures. *Eur J Anaesthesiol* 2015; **32**: 88–105
- Austin PC. Balance diagnostics for comparing the distribution of baseline covariates between treatment groups in propensity-score matched samples. *Stat Med* 2009; **28**: 3083–107
- Grocott MP, Dushianthan A, Hamilton MA, et al. Perioperative increase in global blood flow to explicit defined goals and outcomes after surgery: a Cochrane Systematic Review. *Br J Anaesth* 2013; **111**: 535–48
- de Waal EEC, Frank M, Scheeren TWL, et al. Perioperative goal-directed therapy in high-risk abdominal surgery. A multicenter randomized controlled superiority trial. *J Clin Anesth* 2021; **75**, 110506
- Pearse RM, Harrison DA, MacDonald N, et al. Effect of a perioperative, cardiac output-guided hemodynamic therapy algorithm on outcomes following major gastrointestinal surgery: a randomized clinical trial and systematic review. *JAMA* 2014; **311**: 2181–90
- Edwards MR, Forbes G, MacDonald N, et al. Optimisation of Perioperative Cardiovascular Management to Improve Surgical Outcome II (OPTIMISE II) trial: study protocol for a multicentre international trial of cardiac output-guided fluid therapy with low-dose inotrope infusion compared with usual care in patients undergoing major elective gastrointestinal surgery. *BMJ Open* 2019; **9**, e023455
- Guyton AC. Regulation of cardiac output. *Anesthesiology* 1968; **29**: 314–26
- Briesenick L, Schaade A, Bergholz A, et al. Energy expenditure under general anaesthesia: an observational study using indirect calorimetry in patients having noncardiac surgery. *Anesth Analg* 2023; **137**: 169–75

29. Michard F, Chemla D, Teboul JL. Applicability of pulse pressure variation: how many shades of grey? *Crit Care* 2015; **19**: 144
30. Saugel B, Bebert EJ, Briesenick L, et al. Mechanisms contributing to hypotension after anesthetic induction with sufentanil, propofol, and rocuronium: a prospective observational study. *J Clin Monit Comput* 2022; **36**: 341–7
31. Kouz K, Brockmann L, Timmermann LM, et al. Endotypes of intraoperative hypotension during major abdominal surgery: a retrospective machine learning analysis of an observational cohort study. *Br J Anaesth* 2023; **130**: 253–61
32. Poterman M, Scheeren TWL, van der Velde MI, et al. Prophylactic atropine administration attenuates the negative haemodynamic effects of induction of anaesthesia with propofol and high-dose remifentanyl: a randomised controlled trial. *Eur J Anaesthesiol* 2017; **34**: 695–701
33. Nicklas JY, Diener O, Leistenschneider M, et al. Personalised haemodynamic management targeting baseline cardiac index in high-risk patients undergoing major abdominal surgery: a randomised single-centre clinical trial. *Br J Anaesth* 2020; **125**: 122–32
34. Smetkin AA, Hussain A, Kuzkov VV, Bjertnaes LJ, Kirov MY. Validation of cardiac output monitoring based on uncalibrated pulse contour analysis vs transpulmonary thermodilution during off-pump coronary artery bypass grafting. *Br J Anaesth* 2014; **112**: 1024–31
35. Flick M, Joosten A, Scheeren TWL, Duranteau J, Saugel B. Haemodynamic monitoring and management in patients having noncardiac surgery: a survey among members of the European Society of Anaesthesiology and Intensive Care. *Eur J Anaesthesiol Intensive Care* 2023; **2**: e0017
36. Cannesson M, Pestel G, Ricks C, Hoeft A, Perel A. Hemodynamic monitoring and management in patients undergoing high risk surgery: a survey among North American and European anesthesiologists. *Crit Care* 2011; **15**: 1–11

Handling Editor: Hugh C Hemmings Jr

**6.5.A 20:1 synergetic mixture of cafedrine/theodrenaline accelerates particle transport velocity in murine tracheal epithelium via IP<sub>3</sub> receptor-associated calcium release**



## OPEN ACCESS

## EDITED BY

Haiyang Tang,  
University of Arizona, United States

## REVIEWED BY

Martin Diener,  
University of Giessen, Germany  
Valerie Chappe,  
Dalhousie University, Canada  
Brijeshkumar Patel,  
Mayo Clinic, United States

## \*CORRESPONDENCE

Götz Schmidt,  
✉ goetz.f.schmidt@chiru.med.uni-  
giessen.de

<sup>†</sup>These authors share senior authorship

RECEIVED 01 February 2023

ACCEPTED 26 July 2023

PUBLISHED 16 August 2023

## CITATION

Schmidt G, Rienas G, Müller S, Edinger F,  
Sander M, Koch C and Henrich M (2023),  
A 20:1 synergetic mixture of cafedrine/  
theodrenaline accelerates particle  
transport velocity in murine tracheal  
epithelium via IP<sub>3</sub> receptor-associated  
calcium release.  
*Front. Pharmacol.* 14:1155930.  
doi: 10.3389/fphar.2023.1155930

## COPYRIGHT

© 2023 Schmidt, Rienas, Müller, Edinger,  
Sander, Koch and Henrich. This is an  
open-access article distributed under the  
terms of the [Creative Commons  
Attribution License \(CC BY\)](#). The use,  
distribution or reproduction in other  
forums is permitted, provided the original  
author(s) and the copyright owner(s) are  
credited and that the original publication  
in this journal is cited, in accordance with  
accepted academic practice. No use,  
distribution or reproduction is permitted  
which does not comply with these terms.

# A 20:1 synergetic mixture of cafedrine/theodrenaline accelerates particle transport velocity in murine tracheal epithelium via IP<sub>3</sub> receptor-associated calcium release

Götz Schmidt<sup>1\*</sup>, Gerrit Rienas<sup>1</sup>, Sabrina Müller<sup>1</sup>, Fabian Edinger<sup>1</sup>,  
Michael Sander<sup>1</sup>, Christian Koch<sup>1†</sup> and Michael Henrich<sup>2†</sup>

<sup>1</sup>Department of Anesthesiology, Operative Intensive Care Medicine and Pain Therapy, Justus Liebig  
University Giessen, Giessen, Germany, <sup>2</sup>Department of Anesthesiology, Intensive Care Medicine,  
Emergency Medicine, Vidia St. Vincentius-Clinic Karlsruhe gAG, Karlsruhe, Germany

**Background:** Mucociliary clearance is a pivotal physiological mechanism that protects the lung by ridding the lower airways of pollution and colonization by pathogens, thereby preventing infections. The fixed 20:1 combination of cafedrine and theodrenaline has been used to treat perioperative hypotension or hypotensive states due to emergency situations since the 1960s. Because mucociliary clearance is impaired during mechanical ventilation and critical illness, the present study aimed to evaluate the influence of cafedrine/theodrenaline on mucociliary clearance.

**Material and Methods:** The particle transport velocity (PTV) of murine trachea preparations was measured as a surrogate for mucociliary clearance under the influence of cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, and theodrenaline alone. Inhibitory substances were applied to elucidate relevant signal transduction cascades.

**Results:** All three applications of the combination of cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, or theodrenaline alone induced a sharp increase in PTV in a concentration-dependent manner with median effective concentrations of 0.46  $\mu$ M (consisting of 9.6  $\mu$ M cafedrine and 0.46  $\mu$ M theodrenaline), 408 and 4  $\mu$ M, respectively. The signal transduction cascades were similar for the effects of both cafedrine and theodrenaline at the murine respiratory epithelium. While PTV remained at its baseline value after non-selective inhibition of  $\beta$ -adrenergic receptors and selective inhibition of  $\beta_1$  receptors, cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, or theodrenaline alone increased PTV despite the inhibition of

**Abbreviations:** 2-APB, 2-Aminoethoxydiphenylborane; ATP, Adenosine triphosphate; Ca<sup>2+</sup>, calcium; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; CBF, ciliary beat frequency; DMSO, dimethyl sulfoxide; EC<sub>50</sub>, median effective concentration; HEPES, 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid; PKA, protein kinase A; PLC, phospholipase C; PTV, particle transport velocity; SEM, standard error of the mean; SOCE, store-operated calcium entry.

the protein kinase A. However, IP<sub>3</sub> receptor activation was found to be the pivotal mechanism leading to the increase in murine PTV, which was abolished when IP<sub>3</sub> receptors were inhibited. Depleting intracellular calcium stores with caffeine confirmed calcium as another crucial messenger altering the PTV after the application of cafedrine/theodrenaline.

**Discussion:** Cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, and theodrenaline alone exert their effects via IP<sub>3</sub> receptor-associated calcium release that is ultimately triggered by β<sub>1</sub>-adrenergic receptor stimulation. Synergistic effects at the β<sub>1</sub>-adrenergic receptor are highly relevant to alter the PTV of the respiratory epithelium at clinically relevant concentrations. Further investigations are needed to assess the value of cafedrine/theodrenaline-mediated alterations in mucociliary function in clinical practice.

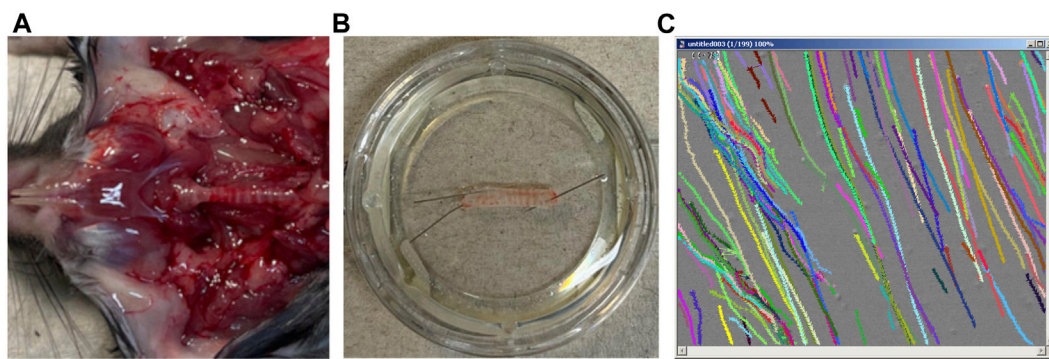
#### KEYWORDS

mucociliary clearance, ciliary beat frequency, Akrinor, perioperative, ciliary activity

## Introduction

Mucociliary clearance is a pivotal physiological mechanism that protects the lung by ridding the airways of pollution, colonization by pathogens, and infection. Together with basal, suprabasal, and goblet cells, multiciliated epithelial cells constitute the complex mucociliary clearance function of the respiratory tract (Legendre et al., 2021). Herein, ciliary cells play a pivotal role in preventing the accumulation of debris and colonization by microbial pathogens via outward-directed transportation processes (Whitsett, 2018; Legendre et al., 2021). Cilia are located on the apical side of the respiratory epithelium along the airways, where they are constructed by unique structural proteins (Whitsett, 2018). Due to their continuous synchronized and orally directed motion, not only inhaled particles, but also complex compositions of mucus, electrolytes, and endogenous defensive substances can be removed from lower airways and can be coughed up under normal physiological conditions (Delmotte and Sanderson, 2006; Legendre et al., 2021). Ciliary activity, which can be measured as ciliary beat frequency (CBF), or particle transport velocity (PTV) as its surrogate, is not only a complex process ensuring precise adaption to different physiological and pathophysiological settings, but its function is modified by many different endogenous and exogenous parameters (Delmotte and Sanderson, 2006; Legendre et al., 2021). Several known influencing factors accelerate PTV with a subsequent improvement in the mucociliary clearance. First, ciliary activity is modulated by the sympathetic and parasympathetic nervous systems. Their transmitters, (nor)adrenaline and acetylcholine, modulate second messengers, such as cyclic adenosine monophosphate (cAMP), cyclic guanosine monophosphate, and calcium, which induce alterations in CBF (Salathe, 2007; Wyatt, 2015). Second, ciliary cells are sensitive to local temperature, acid-base balance, humidity, mechanical stress, cytokines released during infection, and paracrine effects mediated by adjacent cells, like mast cells and macrophages (Sanderson and Dirksen, 1986; Kilgour et al., 2004; Sutto et al., 2004; Salathe, 2007; Weiterer et al., 2014; Perniss et al., 2020). Third, the formation of reactive oxygen species and pathogenic bacterial or fungal components mediates opposing effects and may lead to a reduction in CBF with consequent impaired mucociliary clearance (Burman and Martin, 1986;

Weiterer et al., 2015). Furthermore, congenital impairment of the coordination of mucociliary clearance can result in severe diseases, like primary cilia dyskinesia, where recurrent infections occur due to ineffective clearance (Horani and Ferkol, 2021). Ciliary dysfunction can also be acquired in many pathophysiological conditions. Mucociliary clearance is impaired in critically ill patients in intensive care units, and it is further impaired during mechanical ventilation, which is associated with increased bacterial colonization and pneumonia (Nakagawa et al., 2005; Bassi et al., 2008). Furthermore, mucociliary clearance is impaired during general anesthesia with mechanical ventilation following endotracheal intubation. The degree of impairment depends not only on the temperature of the inspired air and the respirator settings, but also on the drugs used perioperatively. For example, some intravenous anesthetics, volatile anesthetics, and perioperative antagonists like neostigmine and sugammadex, have been studied for their influence on mucociliary clearance (Forbes and Gamsu, 1979; Kesimci et al., 2008; Ozciftci et al., 2022). However, the impact of drugs used to treat perioperative hypotension, which is a frequently observed condition in clinical practice, remains unclear. In Germany, a fixed 20:1 combination of cafedrine and theodrenaline (Akrinor<sup>®</sup>, Ratiopharm GmbH, Ulm, Germany) has been the main drug used to treat intraoperative hypotension or hypotensive states due to emergency situations since the 1960s (Heller et al., 2015; Bein et al., 2017; Weitzel et al., 2018). Cafedrine is composed of covalently linked theophylline and norephedrine, and theodrenaline is formed from theophylline and noradrenaline in the same manner (Bein et al., 2017; Kloth et al., 2017). These compounds are administered as an intravenous bolus in adults, and they restore mean arterial blood pressure by increasing preload, cardiac stroke volume, and cardiac output (Bein et al., 2017; Eberhart et al., 2018; Weitzel et al., 2018). The clinical effects of cafedrine/theodrenaline are provided through β<sub>1</sub>- and α-adrenoreceptor stimulation, while nonspecific inhibition of phosphodiesterases is thought to enhance their response (Bein et al., 2017; Kloth et al., 2017). In contrast with synthetic vasopressors (e.g., ephedrine, phenylephrine), systemic vascular resistance and heart rate remain mostly unaffected, which makes cafedrine/theodrenaline especially appealing in obstetric surgery (Heller et al., 2015; Bein et al., 2017; Kranke et al., 2021). Although cafedrine/theodrenaline has been widely used for



**FIGURE 1**

Tracheal preparation, microscopy, and particle tracking. **(A)** The trachea is dissected with a parasternal incision of the thorax and a median incision of the throat. **(B)** The trachea was fixed so that the pars membranacea, including the musculus trachealis, faced upward. **(C)** Particle tracks were recorded and processed offline.

decades, little is known about its pharmacodynamics and pharmacokinetics in specific end organs (Heller et al., 2015; Bein et al., 2017). This is rather surprising, as the unique combination of three single drugs (theophylline, norephedrine, noradrenaline) in a 20:1 mixture can produce various effects *in vivo*, which have recently been evaluated in human atrial myocardium (Kloth et al., 2017). However, the influence of cafedrine/theodrenaline on mucociliary clearance has not yet been investigated. Consequently, the aim of our experiments was to evaluate the influence of cafedrine/theodrenaline on PTV, which indicates mucociliary clearance in the lower airways. Mouse tracheae were exposed to the clinically applied 20:1 mixture of cafedrine/theodrenaline and the individual substances alone. Our experiments aimed to evaluate the interaction between cafedrine and theodrenaline to assess the effects of the individual components and to reveal the signaling cascades provoking an alteration in PTV. Therefore, specific inhibitory substances were applied to elucidate signal transduction cascades in the epithelium and inside the epithelial cell itself. Further experiments were conducted to determine the value of intracellular calcium release, its origin, and the value of extracellular calcium entry.

## Materials and methods

### Tracheal preparation and imaging

Male C57BL6J mice weighing 25–35 g (aged 12–15 weeks) were purchased from Charles River (Sulzfeld, Germany). All procedures involving animals were conducted in compliance with the European legislation for the protection of animals used for scientific purposes and the standards for animal experiments according to the German animal welfare law. The experiments were approved by the local committee for animal care of the regional council (Permit number 813\_M, regional council of Giessen, Germany). After deep isoflurane (Baxter, Unterschleissheim, Germany) narcosis, animals were sacrificed by cervical dislocation. The following steps were performed immediately within 30 min after euthanasia. The trachea was dissected with a parasternal incision of the thorax and a median incision of the throat (Figure 1A). The

trachea was then gently disconnected by slicing cranial to its bifurcation and directly caudal to the larynx. The trachea was immediately transferred to a Delta T culture dish (Bioprotechs, Butler, PA, USA) containing 2 mL of preheated 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid (HEPES) buffer at pH 7.4 and 30°C. The dish was pre-coated with Sylgard polymer (Dow Corning, Wiesbaden, Germany) to allow precise positioning of the trachea with two minutiae (Fiebig Lehrmittel, Berlin, Germany). The trachea was fixed so that the cartilage arches faced the Sylgard polymer and the pars membranacea, including the musculus trachealis, faced upward. During the following fine preparations, connective tissues and surrounding blood vessels were gently resected using spring scissors (Vannas-Tübingen, FST, Heidelberg, Germany). Finally, preparation was completed when the musculus trachealis was cut open in a longitudinal direction and the respiratory epithelium was directly visualized (Figure 1B). After the HEPES buffer was replaced, the trachea was transferred to the stage holder of the upright transmission light microscope (BX50 WI, Olympus, Hamburg, Germany). A temperature control unit maintained a constant temperature of 30°C in the center of the buffer solution, where the trachea had been placed. According to the previously published methods, the optimal measuring conditions were realized at 30°C, although the PTV might be slightly slower than real time (Weiterer et al., 2015; Müller et al., 2021). Subsequently, 3 µL of polymer particles (Dynabeads, Dynal Biotech GmbH, Hamburg, Germany) with a mean diameter of 2.8–4.5 µm were added to the buffer solution. The tracheal epithelium was then focused between to cartilages in bright-field mode using a 20 × water immersion lens (BW50 WI, Olympus, Hamburg, Germany), allowing the measurement of PTV indicated by the controlled motion of the Dynabeads along the tracheal epithelium.

### Measurement of PTV

After a 30-min resting period, subsequent 80-min observation period started, where repeated measurements of PTV were performed under the influence of the different drugs. During the

first 72 min of the observation period, measurement of PTV was conducted every 3 min. Afterward, adenosine triphosphate (ATP) was applied to confirm the viability of the tracheal epithelium leading to a maximal increase in PTV; measurements of PTV were then performed every 2 min to the end of the experiment at minute 80. At each timepoint, short movie sequences were recorded with high sampling rates using TiLLvisION Imaging software (Till Photonics, Gräfeling, Germany), as described previously (Weiterer et al., 2014). In brief, each video sequence consisted of 200 images taken during a period of 16.726 s (one image/83.63 ms), where approximately 200–400 particle tracks were recorded (Supplementary Video S1). Subsequent offline processing was performed using Image Pro Plus analysis software (Media Cybernetics, Rockville, MD, United States). After background subtraction, the images were converted in grey scale, and the formerly dark Dynabeads appeared as bright images. In greyscale, the 12-bit film was reduced to an eight-bit film to realize the monitoring of individual particle pathways (Figure 1C). Particles with less than 15% lateral deviation were included in the analysis. From these measurements, the average PTV was calculated for each timepoint.

## Statistical analysis

The absolute PTV value was standardized to 100% after the resting time and prior to the observation period. Tracheal preparations and PTV measurements were only included in the statistical analyses when tracheal preparations showed directed particle motion during the whole observation period, and a clear response to the application of ATP was detected at the end of the experiments, immediately resulting in normalized PTV values of more than 200%. However, when high concentrations were applied to obtain the concentration-response relationship, maximum PTV was already reached and could not be further accelerated by ATP. In this case, tracheal preparations were still included when directed particle motion was preserved during the whole observation period, and replicate experiments yielded similar results. Absolute values of basal PTV per experimental group prior to the standardization are shown in Supplementary Table S1. PTV values are presented as mean and standard error of the mean (SEM). Median effective concentrations ( $EC_{50}$ ) were calculated using the Hill equation. The Mann-Whitney U test was used to compare equivalent measurement points from the different experiments, while the Wilcoxon rank-sum test was used to compare paired variables. In general, two-tailed values of  $p < 0.05$  were considered statistically significant, while issues with multiple comparisons were counteracted by adjusting the  $\alpha$  level according to the Bonferroni correction.

## Drugs and buffer solutions

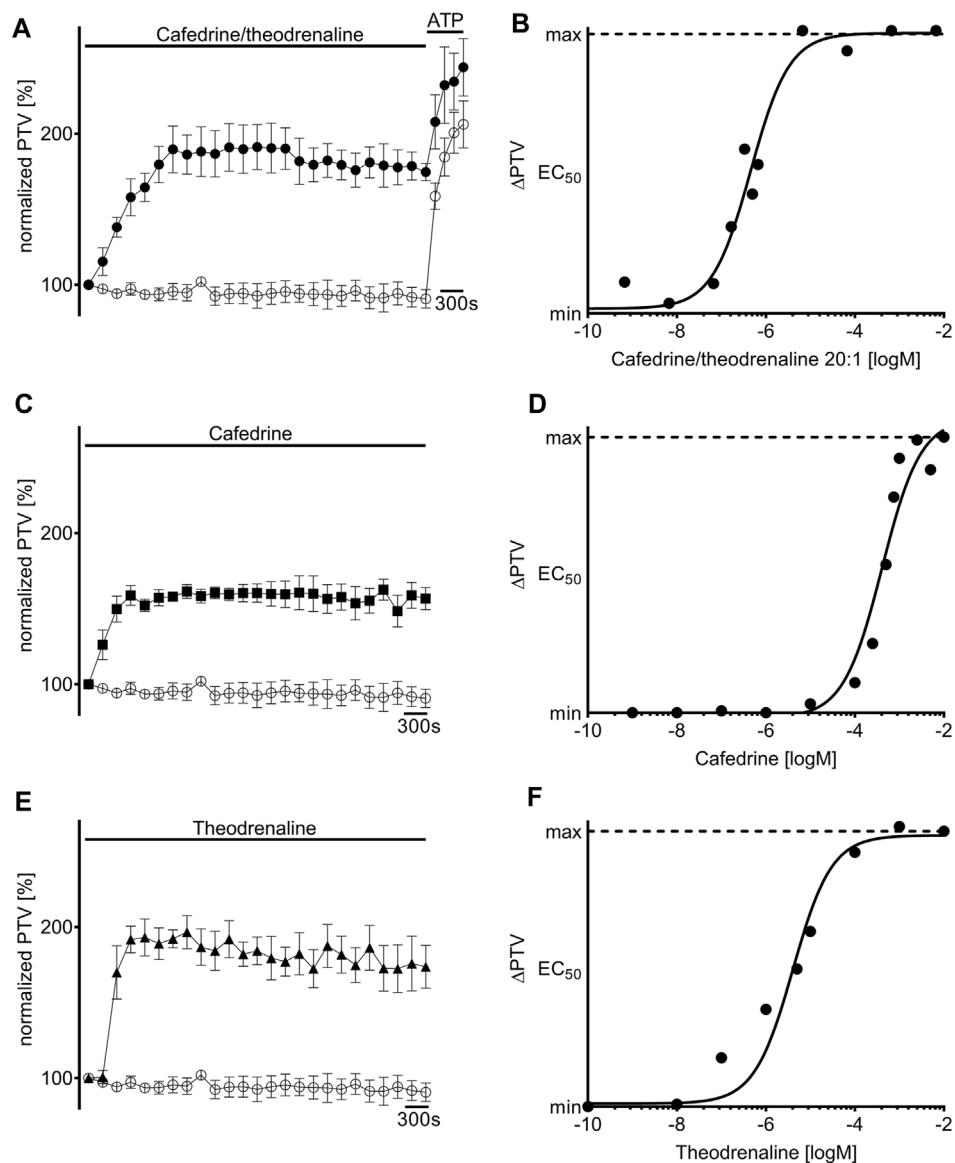
The historically established 20:1 ratio of cafedrine/theodrenaline is related to mass but not molarity; therefore, due to the different molar masses of cafedrine (357.41 g/mol) and theodrenaline (375.38 g/mol), a 1 M solution of cafedrine/theodrenaline 20:1 with a molar mass of 7,882.98 g/mol consists of 1 M

theodrenaline, and approximately 21 M cafedrine. Preparations and experiments were performed in HEPES solution consisting of 10 mM HEPES, 5.6 mM KCl, 2.2 mM  $CaCl_2$ , 11 mM glucose, 136 mM NaCl, and 2.2 mM  $MgCl_2$ . NaOH was used to adjust the pH to 7.4 at 30°C. To realize the experiments in  $Ca^{2+}$ -free solutions,  $CaCl_2$  was substituted with 1 mM ethylene glycol tetraacetic acid. The following drugs were applied during the experiments: 2-aminoethoxydiphenylborane (2-APB, 40  $\mu$ M diluted in 8  $\mu$ L dimethyl sulfoxide (DMSO), TOCRIS Bioscience, Bristol, United Kingdom), ATP (150  $\mu$ M in 3  $\mu$ L  $H_2O$ , Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States), cafedrine (408  $\mu$ M diluted in 100  $\mu$ L  $H_2O$ , Arevipharma, Radebeul, Germany), cafedrine/theodrenaline 20:1 (0.47  $\mu$ M diluted in 100  $\mu$ L  $H_2O$ , Akrinor<sup>®</sup>, Ratiopharm, Ulm, Germany), caffeine (30 mM in 2 mL HEPES, Roth, Karlsruhe, Germany), CGP20712A (100  $\mu$ M diluted in 20  $\mu$ L  $H_2O$ , TOCRIS Bioscience, Bristol, United Kingdom), H-89 (10  $\mu$ M diluted in 20  $\mu$ L DMSO, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States), ICI-118,551 (100  $\mu$ M diluted in 20  $\mu$ L  $H_2O$ , TOCRIS Bioscience, Bristol, UK), theodrenaline (4  $\mu$ M diluted in 100  $\mu$ L  $H_2O$ , Arevipharma, Radebeul, Germany), and U-73122 (7.5  $\mu$ M diluted in 4  $\mu$ L DMSO, Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, United States). The reported drug concentrations were achieved during the experiments after applying the stock solution to the buffer solution in the recording chamber.

## Results

### Effects of cafedrine, theodrenaline and 20:1 cafedrine/theodrenaline

Under control conditions, murine PTV remained around baseline during the whole observation period (96%  $\pm$  2%). When cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, or theodrenaline alone were applied, PTV significantly increased almost immediately in all experiments (cafedrine/theodrenaline: 178%  $\pm$  12%, cafedrine: 160%  $\pm$  8%, theodrenaline: 196%  $\pm$  9%; each  $p < 0.001$ ; Figures 2A,C,E). All three substances reached a sustained PTV plateau within a few minutes after application, which was largely maintained until the end of each experiment. The slowest increase lasted 18 min and was observed after the application of cafedrine/theodrenaline, while the most rapid increase was observed during the application of theodrenaline, reaching its plateau after a brief delay within 9 min. When ATP was applied at the end of the experiments, PTV was further accelerated, indicating the vitality of the tracheal epithelium; this is demonstrated for all the experiments by an example in Figure 2A. Supplementary Videos S1, S2 show raw movie sequences of baseline PTV and accelerated PTV following the application of cafedrine/theodrenaline 20:1. All three substances elevated the PTV in a concentration-dependent manner (Figures 2B,D,F), reaching maximum PTV values. At the highest concentration, PTV was not further increased by ATP, indicating full agonistic behavior of the three tested substances. The Hill equation fit the individual concentration-response curves and revealed  $EC_{50}$  values of 0.46  $\mu$ M (3.6  $\mu$ g/mL consisting of 3.42  $\mu$ g/mL [9.6  $\mu$ M] cafedrine and 0.17  $\mu$ g/mL [0.46  $\mu$ M] theodrenaline) for cafedrine/theodrenaline (Figure 2B), 408  $\mu$ M (145.8  $\mu$ g/mL) for cafedrine (Figure 2D), and 4  $\mu$ M (1.5  $\mu$ g/mL) for theodrenaline



**FIGURE 2**

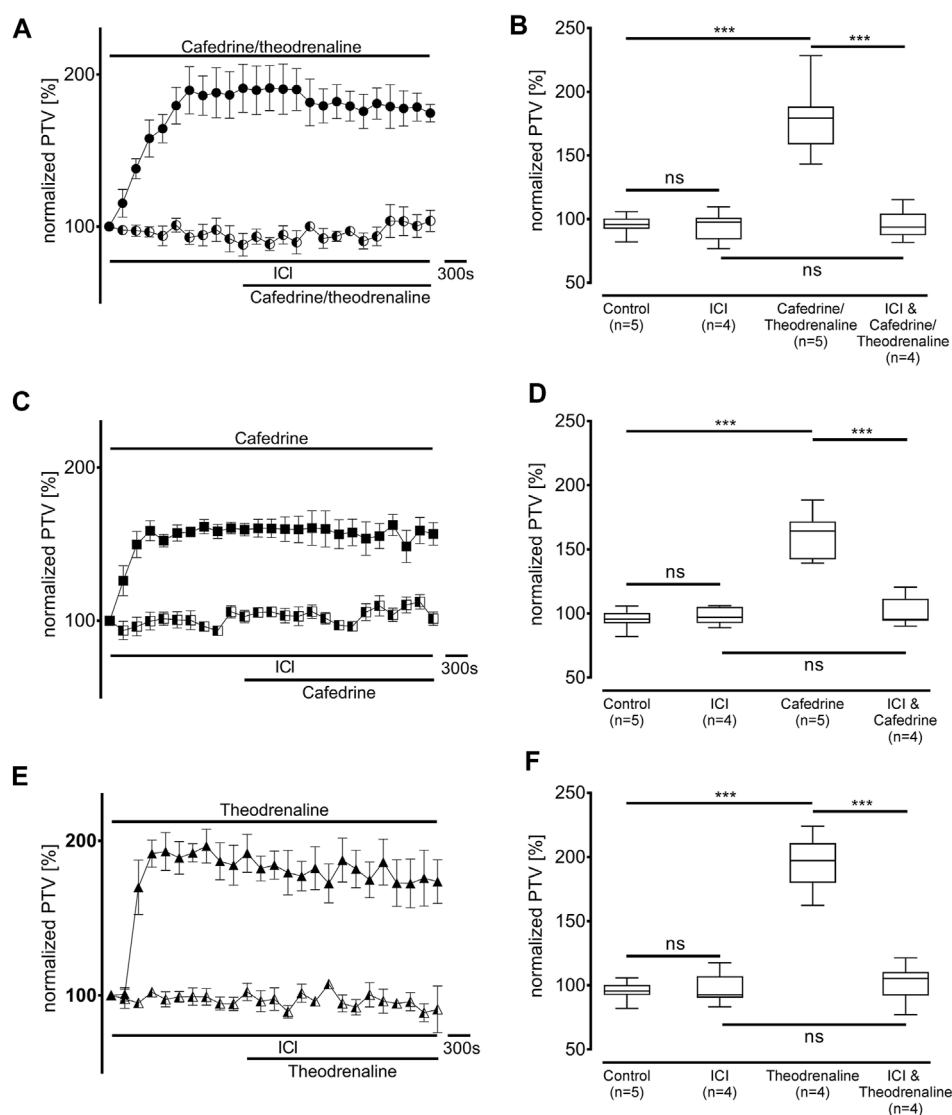
Particle transport velocity (PTV) is increased by cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone and theodrenaline alone. Application of (A) 20:1 cafedrine/theodrenaline (●, 0.46  $\mu$ M), (C) cafedrine alone (■ 408  $\mu$ M), and (E) theodrenaline alone (▲, 4  $\mu$ M) provoked a steep and long-lasting increase in murine PTV, while the PTV remained constant around its baseline value in control experiments (○). Concentration-response relationship of (B) 20:1 cafedrine/theodrenaline, (D) cafedrine alone, and (F) theodrenaline alone, as described by the Hill equation.  $\pm$  standard error of the mean.

(Figure 2F). The following experiments aimed to evaluate the mediating effects and the individual value of cafedrine and theodrenaline when applied in a 20:1 combination. The clinical impact of different adrenoceptors and the value of phosphodiesterases were initially studied because these target structures were known to be affected by theophylline, norephedrine, and noradrenaline.

## Extracellular signal transduction

First, the non-selective blocker of  $\beta$ -adrenergic receptors ICI-118,551 (100  $\mu$ M) was evaluated to determine the overall influence

of  $\beta$ -adrenergic effects on the alteration in PTV. ICI-118,551 alone did not alter the baseline value of PTV, however, the increase in PTV was already completely blocked in the presence of ICI-118,551 when cafedrine/theodrenaline (95%  $\pm$  5%,  $p = 0.52$ , Figures 3A,B), cafedrine (100%  $\pm$  5%,  $p = 0.61$ , Figures 3C,D), or theodrenaline (102%  $\pm$  6%,  $p = 0.14$ , Figures 3E,F) were applied. To assess the individual value of the  $\beta_1$  receptor, the selective  $\beta_1$  receptor blocker CGP20712A was applied. Again, cafedrine/theodrenaline (95%  $\pm$  3%,  $p = 0.17$ , Figures 4A,B), cafedrine (98%  $\pm$  4%,  $p = 0.61$ , Figures 4C,D), and theodrenaline (99%  $\pm$  2%,  $p = 0.53$ , Figures 4E,F) were unable to provoke any alteration of the PTV compared to control conditions. Because a clinically relevant effect of other adrenergic receptors or the phosphodiesterases could not be assumed from



**FIGURE 3**

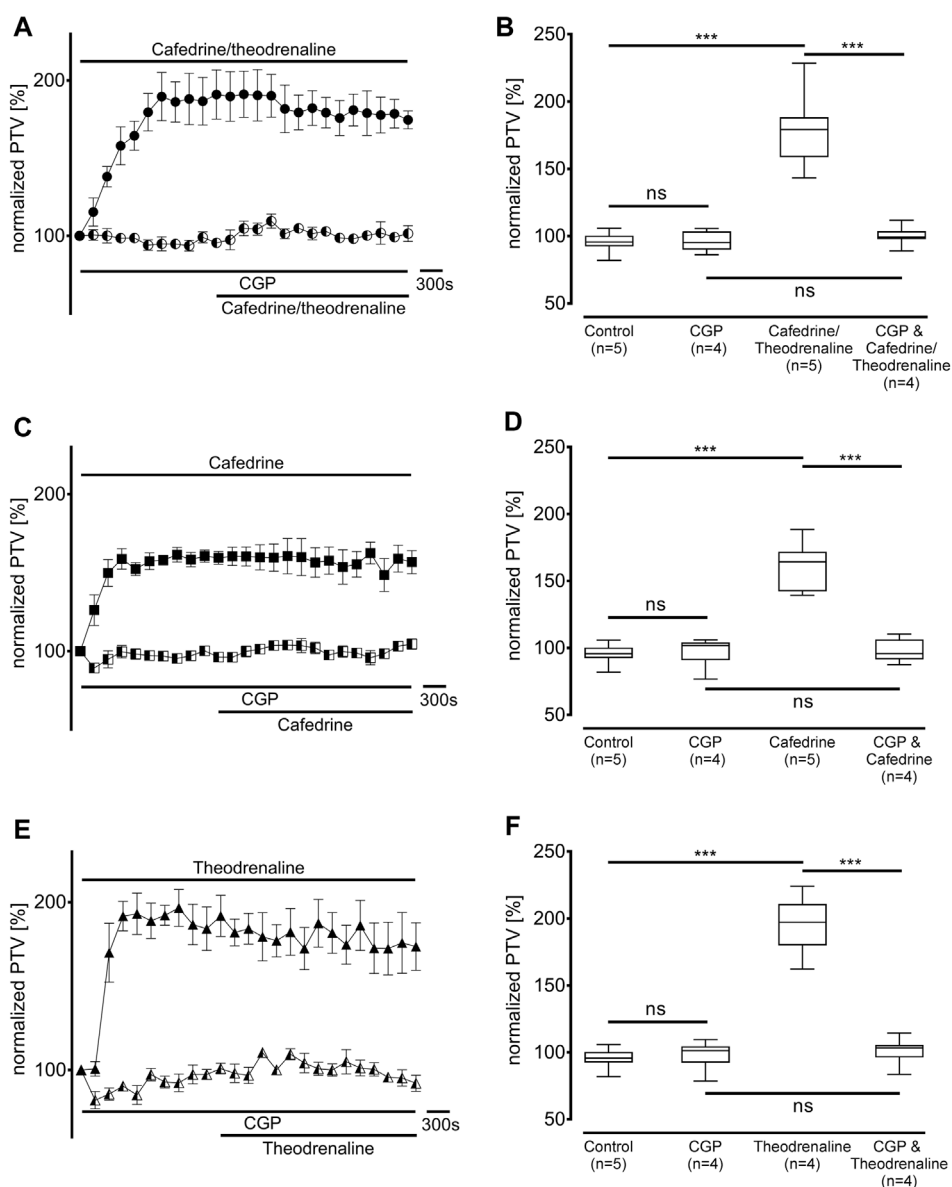
The increase in PTV depends on  $\beta$ -adrenergic receptor activation. Effects of (A, B) 20:1 cafedrine/theodrenaline, (C, D) cafedrine alone, and (E, F) theodrenaline alone completely vanished when  $\beta$ -adrenergic receptors were blocked by the non-selective inhibitor ICI. ICI alone did not provoke any alteration in the PTV. \*\*\* $p < 0.001$ , ns: not significant. ● 20:1 cafedrine/theodrenaline, ○ 20:1 cafedrine/theodrenaline + ICI 100  $\mu$ M, ■ cafedrine, □ cafedrine + ICI 100  $\mu$ M, ▲ theodrenaline, △ theodrenaline + ICI 100  $\mu$ M,  $\perp$  standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

these data, further experiments elucidating these mechanisms were waived.

## Intracellular signal transduction

Since our experiments found the  $\beta_1$  pathway to be the pivotal mechanism provoking an alteration of PTV after the application of cafedrine/theodrenaline, further experiments were carried out on the cAMP-dependent protein kinase signal pathway. H-89 was used to inhibit the protein kinase A (PKA), which alone reduced basal PTV (59%  $\pm$  6%,  $p < 0.001$  compared with control experiments, Figures 5B,D,F). However, cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, and theodrenaline alone were all able to induce a significant rise in

PTV despite the presence of H-89 (each  $p < 0.001$ , Figure 5). Although the plateau value was slightly lower when cafedrine/theodrenaline was applied in the presence of H-89 (136%  $\pm$  18%,  $p = 0.004$ ), cafedrine (145%  $\pm$  15%,  $p = 0.076$ ) and theodrenaline (201%  $\pm$  11%,  $p = 0.755$ ) alone produced comparable PTV values. When phospholipase C (PLC) was inhibited using U-73122 (7.5  $\mu$ M), baseline value of PTV remained unchanged; however, PTV still increased following the administration of cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, and theodrenaline alone (each  $p < 0.001$ , Figure 6). PTV plateau values of cafedrine/theodrenaline (196%  $\pm$  12%,  $p = 0.236$ , Figures 6A,B), cafedrine (162%  $\pm$  19%,  $p = 0.420$ , Figures 6C,D), and theodrenaline (191%  $\pm$  13%,  $p = 0.755$ , Figures 6E,F) alone were all comparable to the PTV observed without PLC inhibition. To further evaluate alternative



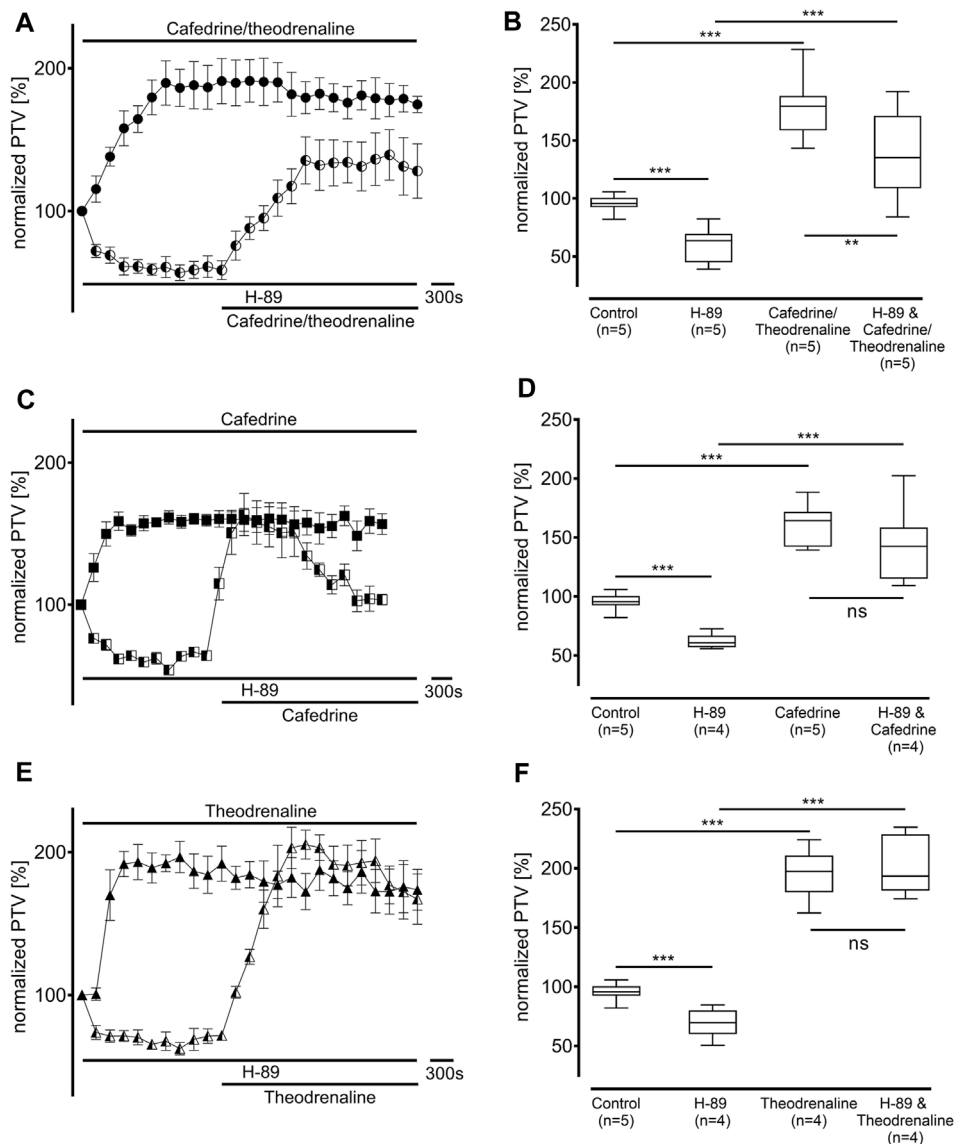
**FIGURE 4**

Alteration of PTV is completely dependent on  $\beta_1$ -adrenergic receptor activation. When the selective  $\beta_1$ -adrenergic receptor blocker CGP (100  $\mu$ M) was applied, the effects of (A, B) 20:1 cafedrine/theodrenaline, (C, D) cafedrine alone, and (E, F) theodrenaline alone completely vanished. CGP alone did not provoke any alteration in the PTV. \*\*\* $p < 0.001$ , ns: not significant. ● 20:1 cafedrine/theodrenaline, ○ 20:1 cafedrine/theodrenaline + CGP 100  $\mu$ M, ■ cafedrine, □ cafedrine + CGP 100  $\mu$ M, ▲ theodrenaline, △ theodrenaline + CGP 100  $\mu$ M,  $\pm$  standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

signal transduction cascades, IP<sub>3</sub> receptors were inhibited using 2-APB. While 2-APB alone did not provoke any alteration in the baseline PTV, the increase previously seen after the application of cafedrine/theodrenaline (90%  $\pm$  7%,  $p = 0.943$ , Figures 7A,B), cafedrine alone (93%  $\pm$  3%,  $p = 0.831$ , Figures 7C,D), and theodrenaline alone (99%  $\pm$  2%,  $p = 0.093$ , Figures 7E,F) completely vanished. As these results indicated that intracellular calcium (Ca<sup>2+</sup>) release as crucial mechanism changing the PTV after the application of cafedrine/theodrenaline, further experiments were carried out on the value and the origin of intra- and extracellular Ca<sup>2+</sup>.

## Utilization of Ca<sup>2+</sup> stores and Ca<sup>2+</sup>-dependent effects on PTV

Ca<sup>2+</sup>-free buffer solution was used to distinguish the origin of Ca<sup>2+</sup> during the following experiments. PTV in Ca<sup>2+</sup>-free buffer solution did not differ from the Ca<sup>2+</sup>-containing control (94%  $\pm$  11%,  $p > 0.99$ ). As most intracellular Ca<sup>2+</sup> is stored in the endoplasmic reticulum, these stores were depleted by caffeine prior to the application of the three substances. Subsequently, a decline of the basal PTV was noted (89%  $\pm$  3%,  $p < 0.001$ ); neither cafedrine/theodrenaline (83%  $\pm$  5%,  $p = 0.242$ ) nor cafedrine



**FIGURE 5**

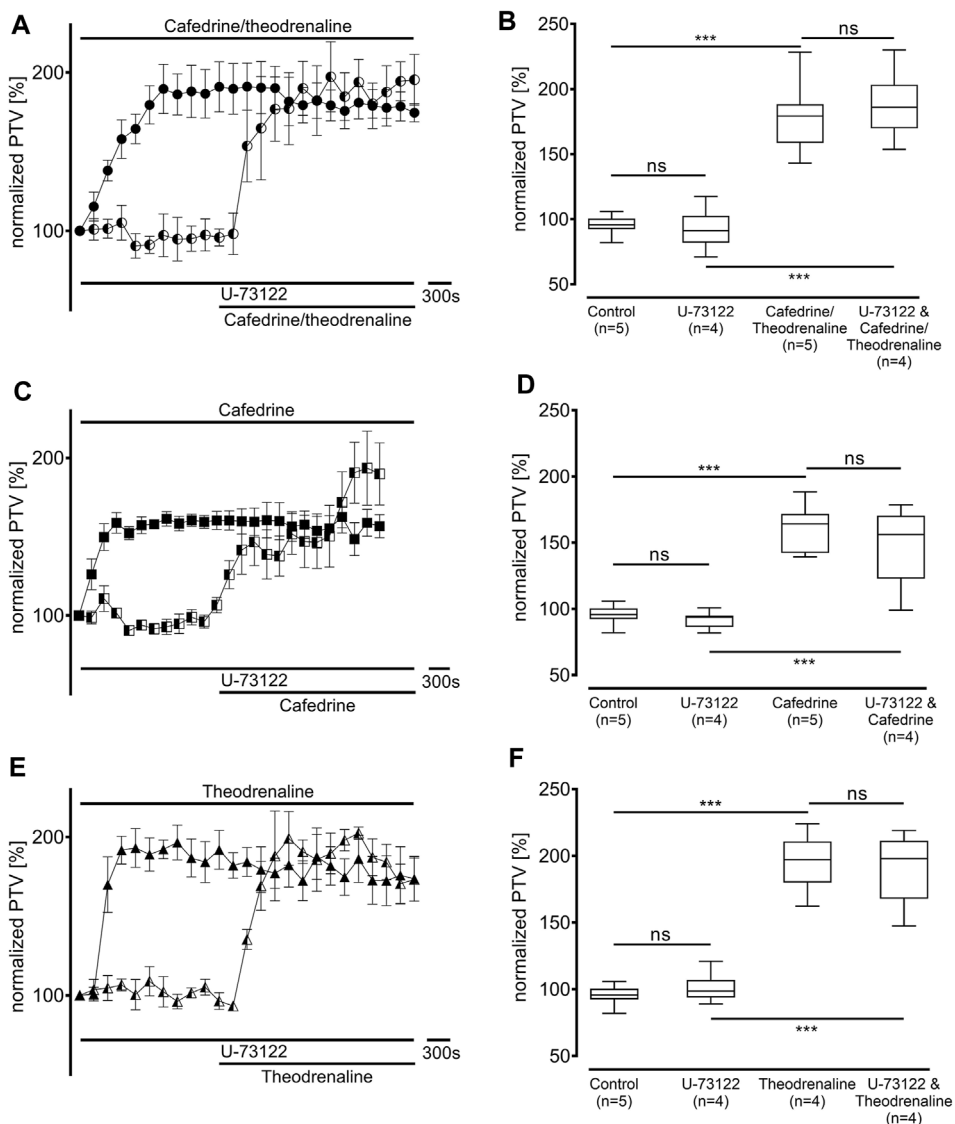
The increase in PTV was independent from protein kinase A (PKA). Baseline PTV decreased when the selective PKA inhibitor H-89 (10  $\mu$ M) was applied. However, (A, B) 20:1 cafedrine/theodrenaline, (C, D) cafedrine alone, and (E, F) theodrenaline alone still provoked a steep increase in PTV. \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , ns: not significant. ● 20:1 cafedrine/theodrenaline, ◐ 20:1 cafedrine/theodrenaline + H-89 10  $\mu$ M, ■ cafedrine, ◑ cafedrine + H-89 10  $\mu$ M, ▲ theodrenaline, ◒ theodrenaline + H-89 10  $\mu$ M,  $\pm$  standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

(88%  $\pm$  2%,  $p = 0.843$ ) or theodrenaline (66%  $\pm$  2%,  $p < 0.001$  indicating further decline) alone were able to cause a significant rise in PTV compared with caffeine alone (Figure 8). Further experiments were conducted to assess the value of extracellular  $Ca^{2+}$  influx following treatment with cafedrine/theodrenaline (Figure 9). PTV increased equally after the application of cafedrine/theodrenaline (167%  $\pm$  6%,  $p = 0.251$ , Figures 9A,B), and theodrenaline alone (177%  $\pm$  7%,  $p = 0.021$  did not reach the adjusted  $\alpha$  level of 0.0125, Figures 9E,F); however, PTV without extracellular  $Ca^{2+}$  was slightly lower when cafedrine alone was applied (144%  $\pm$  6%,  $p = 0.005$ , Figures 9C,D). Furthermore, the plateau formed after the individual application of cafedrine and theodrenaline was less robust than

that plateau observed with  $Ca^{2+}$ -containing buffer solution (Figures 9A,C,E).

## Discussion

Our experiments revealed a significant increase in murine PTV, suggesting an alteration in mucociliary clearance, after the application of 20:1 cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, and theodrenaline alone. Existing clinical data reported a plasma concentration of 6  $\mu$ g/mL after the intravenous application of one ampoule of 2 mL cafedrine/theodrenaline (Sternitzke et al., 1984). Therefore, our  $EC_{50}$  of 3.6  $\mu$ g/mL represents clinically plausible



**FIGURE 6**

The increase in PTV was independent from phospholipase C (PLC). When the selective PLC inhibitor U-73122 (7.5  $\mu\text{M}$ ) was applied, (A, B) 20:1 caffeine/theodrenaline, (C, D) caffeine alone, and (E, F) theodrenaline alone still provoked a steep increase in PTV. \*\*\* $p < 0.001$ , ns: not significant. ● 20:1 caffeine/theodrenaline, ◐ 20:1 caffeine/theodrenaline + U-73122 7.5  $\mu\text{M}$ , ■ caffeine, ◑ caffeine + U-73122 7.5  $\mu\text{M}$ , ▲ theodrenaline, △ theodrenaline + U-73122 7.5  $\mu\text{M}$ ,  $\pm$  standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

concentrations in our experiments, as most applications of caffeine/theodrenaline are given in 0.5–1 mL steps in daily routine practice. Therefore, *in vivo* effects of caffeine/theodrenaline on mucociliary clearance are likely according to our experiments. Furthermore, it can be hypothesized that the transient intravasal and intraepithelial concentrations reached immediately after injection could be much higher than those observed after initial distribution to the body compartments. Our experiments were performed at a lower temperature compared with human body temperature; thus, clinical effects of caffeine/theodrenaline on PTV might be even stronger. Interestingly, the  $\text{EC}_{50}$  of caffeine was more than two log units higher than the  $\text{EC}_{50}$  of theodrenaline. Therefore, the initial alteration of the PTV in our experiments could largely be attributed to theodrenaline. However,

theodrenaline alone cannot explain the concentration-response relationship of the 20:1 combination of caffeine and theodrenaline, because its concentration-response curve was shifted further left by almost one log unit. However, compared with the concentration-response curve of caffeine, the remarkably low amount of caffeine alone cannot explain the sharp increase in PTV observed in combination with theodrenaline. Therefore, we conclude that caffeine and theodrenaline may initially interact in a highly synergistic manner at the respiratory epithelium. However, the pharmacological relevance of caffeine has already been questioned in Kloth et al.'s *in vitro* investigation of the human atrial myocardium (Kloth et al., 2017). While clinical data suggested that the immediate response to caffeine/theodrenaline was attributed to theodrenaline, the caffeine response was observed

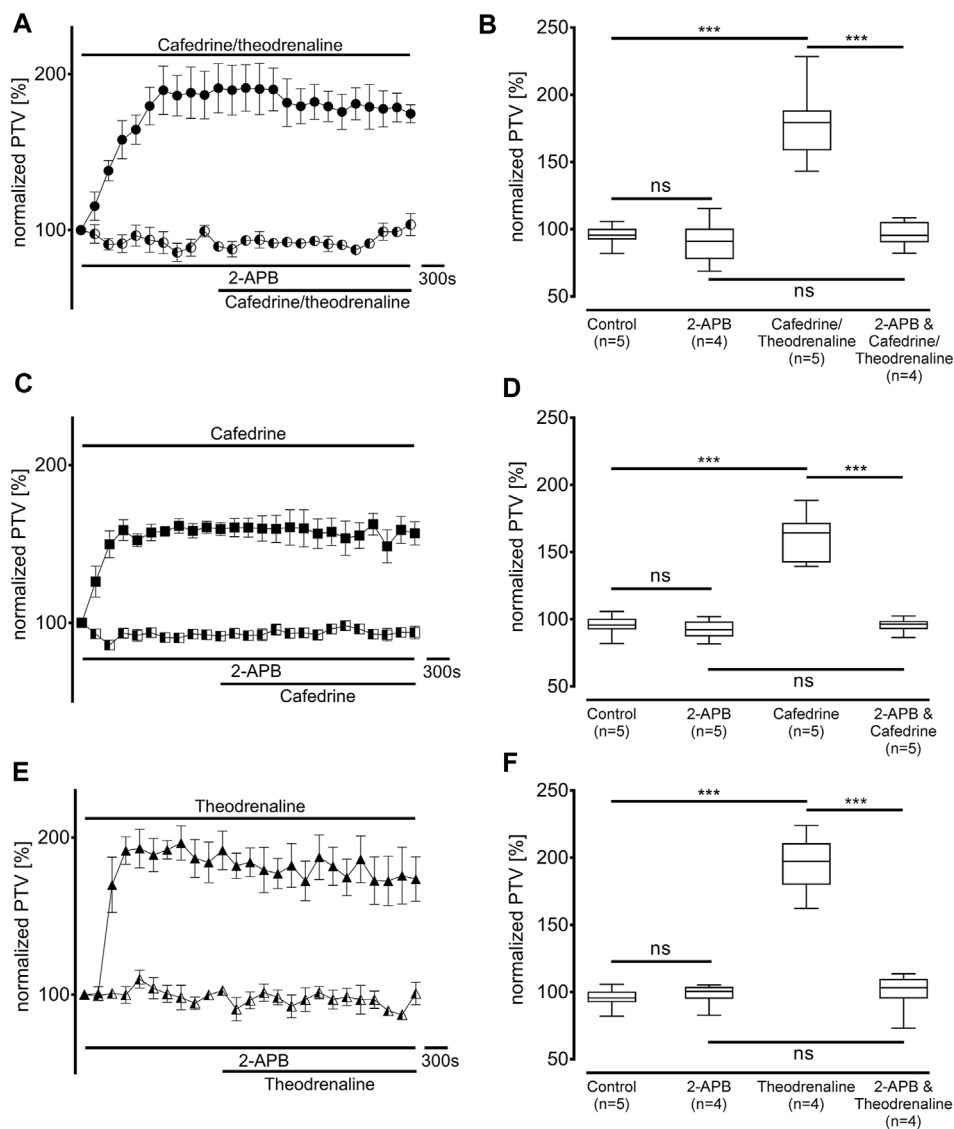


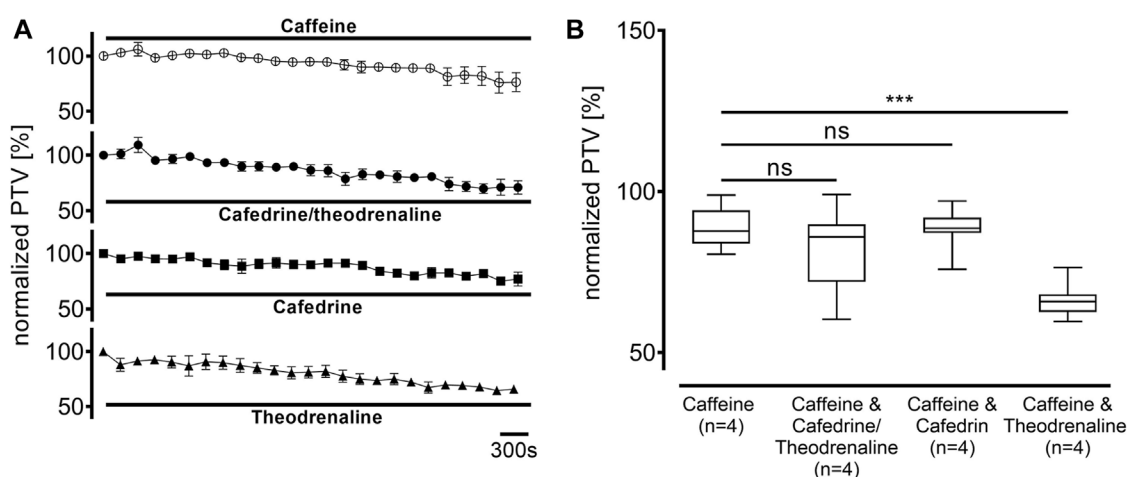
FIGURE 7

IP<sub>3</sub> receptor activation was found to be the pivotal mechanism leading to the increase in PTV. IP<sub>3</sub> receptors were selectively inhibited by 2-aminoethoxydiphenylborane (2-APB, 40  $\mu$ M). When (A, B) 20:1 cafedrine/theodrenaline, (C, D) cafedrine alone, or (E, F) theodrenaline alone were subsequently applied, no increase in PTV was observed compared to control experiments. \*\*\* $p < 0.001$ , ns: not significant. ● 20:1 cafedrine/theodrenaline, ○ 20:1 cafedrine/theodrenaline + 2-APB 40  $\mu$ M, ■ cafedrine, □ cafedrine + 2-APB 40  $\mu$ M, ▲ theodrenaline, △ theodrenaline + 2-APB 40  $\mu$ M,  $\pm$  standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

with a 20-min delay (Sternitzke et al., 1984; Kloth et al., 2017). Therefore, it was hypothesized that cafedrine could act as prodrug, and only its metabolites were responsible for its clinical effect (Kloth et al., 2017). In our data, we did not observe any changes during the observation period as the PTV reached a robust plateau. However, despite raising the question of whether potential cafedrine metabolites could have been formed during our experimental setup, we still observed an immediate effect after its application. Unfortunately, to date, there are no studies evaluating the specific pharmacodynamics and potential metabolites of cafedrine, so this hypothesis remains unanswered.

To elucidate the interaction between cafedrine and theodrenaline regarding signal transduction cascades, we initially

inhibited  $\beta$ -adrenergic receptors because these have been known to provide the main effect in increasing blood pressure and cardiac inotropy (Usichenko et al., 2006; Heller et al., 2015; Bein et al., 2017; Kloth et al., 2017). Although cafedrine and theodrenaline have different drugs linked to theophylline, their effect of increasing the PTV was completely abolished after the non-selective inhibition of  $\beta$ -adrenergic receptors using ICI-118,551 in high concentrations (Hoffmann et al., 2004). Selective inhibition of  $\beta_1$  receptors did not change these results; therefore, we conclude that cafedrine and theodrenaline both produce the increase in PTV exclusively via the  $\beta_1$  receptor. This conclusion is in line with experiments conducted on human myocardium and coronary arteries (Usichenko et al., 2006; Kloth et al., 2017; Weitzel et al.,



**FIGURE 8**

Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  stores were depleted by caffeine (30 mM), which subsequently decreased PTV. When (A) 20:1 cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, or theodrenaline alone were applied, a decrease from baseline was inexorable and (B) no increase was observed. \*\*\* $p < 0.001$ , ns: not significant. ○ caffeine 30 mM, ● 20:1 cafedrine/theodrenaline + caffeine 30 mM, ■ cafedrine + caffeine 30 mM, ▲ theodrenaline + caffeine 30 mM, ⊥ standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

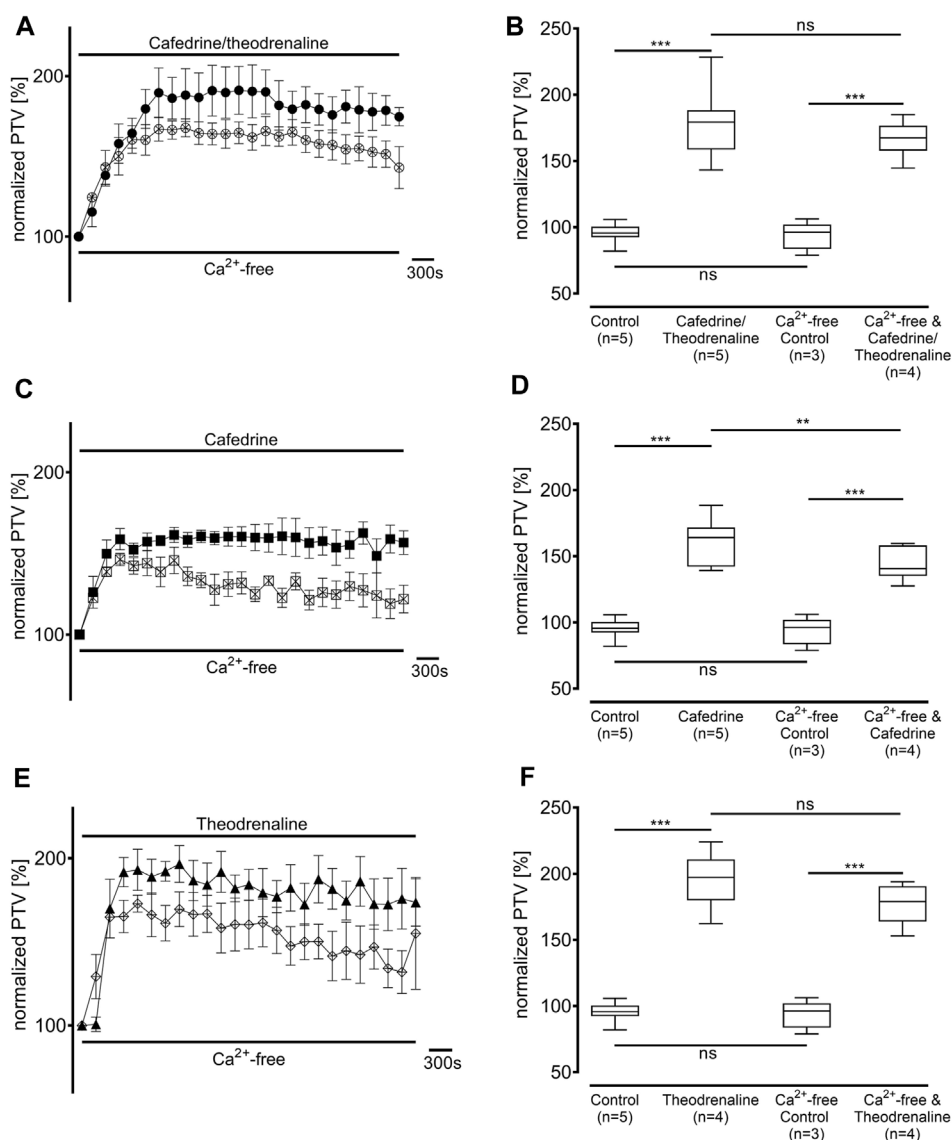
2018). However, effects on  $\alpha$ -adrenergic receptors were found in coronary arteries and mammary arteries when  $\beta$ -adrenergic receptors were inhibited (Usichenko et al., 2006; Kloth et al., 2017). These effects were solely attributed to theodrenaline, however, through our experiments, we did not observe any clinically relevant effect on the  $\alpha$ -adrenergic receptors of the tracheal epithelium. Interestingly, peripheral artery vasoconstriction following the administration of theodrenaline seemed to be abolished by cafedrine, as it may act as a partial agonist at the  $\alpha_1$ -adrenergic receptor (Bein et al., 2017). One could hypothesize that the concentration of theodrenaline alone was not high enough to provoke a significant effect in our experiments, as  $\alpha$ -adrenergic receptors were already shown to exist on the tracheal epithelium (Weiterer et al., 2015). However, Weiterer et al. only detected the  $\alpha_1D$  subtype and subsequently stated that the increases in PTV observed in their study were independent from  $\alpha$ -adrenergic receptor activation because the PTV could not be increased after the application of  $\alpha$ -receptor agonists (Weiterer et al., 2015). Consequently, we did not observe any difference between theodrenaline alone and the combination of cafedrine/theodrenaline. However, we can hypothesize that the alteration in PTV might be reduced in patients who use  $\beta$ -blocking agents, because same inhibitory effects accompanied by a slower and less powerful increase in arterial blood pressure were observed in clinical practice (Heller et al., 2015).

In addition to the activation of adrenergic receptors, our experiments did not indicate that the theophylline in cafedrine and theodrenaline provoked any effect at the tracheal epithelium by inhibiting phosphodiesterases. Although some trials reported increased mucociliary clearance and CBF after treatment with theophylline, data remain controversial (Matthys and Kohler, 1980; Ziment, 1987; Konrad et al., 1994). In general, only high concentrations of theophylline are able to provoke relevant effects, while low concentrations do not alter mucociliary clearance (Matthys and Kohler, 1980; Ziment, 1987). Therefore, our results

are not only in line with clinical data, but *in vitro* data showed that only high, clinically irrelevant, concentrations of cafedrine/theodrenaline can provoke significant inhibition of phosphodiesterase in the human myocardium (Kloth et al., 2017).

As the change in mucociliary clearance was only evident when  $\beta_1$  receptors were stimulated, the synergistic effects of cafedrine and theodrenaline are likely to be provided there. The suggested mechanisms for synergistic effects are an increase in the agonist's affinity or efficacy, and both mechanism are possible at  $\beta$ -adrenergic receptors (Lau et al., 1995; Liapakis et al., 2004; Ahn et al., 2018; Wang et al., 2021). The number of functional groups on epinephrine increase the affinity to  $\beta$ -adrenergic receptors (Liapakis et al., 2004). This can explain the higher receptor affinity and lower  $\text{EC}_{50}$  calculated for theodrenaline compared with cafedrine, because the linked noradrenaline contains two catechol hydroxy groups, while norephedrine does not. However, neither noradrenaline nor norephedrine contain the methyl group bound to the amino group as epinephrine does, but both molecules do contain the carboxy-bound hydroxy group. Furthermore, cafedrine has another methyl group covalently bound to the upward carbon. On the one hand, it can be hypothesized that providing more functional groups through the application of both cafedrine and theodrenaline at the receptor allows for higher receptor efficacy to be realized; on the other hand, allosteric modulators also improve the  $\beta$ -receptor's affinity to agonists, which could also be induced by cafedrine, or theodrenaline (Ahn et al., 2018; Wang et al., 2021). However, it is possible that the presence of the catechol hydroxy groups increases the receptor's affinity to cafedrine. Although this question will be difficult to answer in further studies, other epinephrine-derived substances could be combined with cafedrine or theodrenaline to distinguish their individual effects.

When intracellular signal transduction cascades following  $\beta_1$ -receptor activation were analyzed, we found that PKA was not responsible for the effects triggered by the application of cafedrine/theodrenaline. In other experiments, no direct effects of cAMP were



shown on CBF when PKA was blocked (Braiman et al., 1998; Wyatt et al., 1998). Therefore, we concluded that the increase in PTV was independent from direct effects triggered by PKA. Acetylcholine was described as a main initiator of PKA, in line with the decrease in baseline PTV observed after the inhibition of PKA alone preventing these basal effects (Zagoory et al., 2002). However, our results elucidated  $\text{IP}_3$  receptor activation as involving an alternative signaling cascade, the inhibition of which totally abolished the increase in PTV. Therefore, we conclude that  $\text{IP}_3$  receptor activation, but not PKA activity, is the pivotal mechanism leading to the rise in murine PTV triggered by cafedrine/theodrenaline.  $\text{IP}_3$  releases  $\text{Ca}^{2+}$  from intracellular stores after it is separated from phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate by PLC,

which certainly is not the main effector protein of the  $\beta_1$  receptor. However,  $\text{IP}_3$  is known to influence CBF, and it has already been shown that mammalian cAMP and PKA signaling pathways can mobilize  $\text{Ca}^{2+}$  from intracellular stores (Braiman et al., 1998; Barrera et al., 2004; Kuremoto et al., 2018). One suggested mechanism is that PKA shifts the affinity of the  $\text{IP}_3$  receptor to  $\text{IP}_3$  and thereby decreases the dose of  $\text{IP}_3$  that is required to provoke significant  $\text{Ca}^{2+}$  release; but cAMP alone can also activate PLC pathways (Schmidt et al., 2001). Furthermore, not only the  $\alpha$  subunit of G-coupled receptors can activate PLC pathways as it is observed at the  $\alpha_1$ -adrenergic receptor,  $\beta\gamma$  subunits of  $\beta$ -adrenergic receptors can also activate PLC pathways (Galaz-Montoya et al., 2017; Madukwe et al., 2018; Fisher et al., 2020). However, PTV still

increased equally following the administration of cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, and theodrenaline alone, when PLC was inhibited by U-73122. Our experiments depleting caffeine-sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  stores, which are mainly found in the endoplasmic reticulum, confirmed that the  $\text{IP}_3$ -receptor associated increase in PTV is due to  $\text{Ca}^{2+}$  release from the endoplasmic reticulum. We further evaluated secondary  $\text{Ca}^{2+}$  influx from extracellular spaces that occurs after  $\text{Ca}^{2+}$  release from the endoplasmic reticulum. This mechanism is referred to as store-operated calcium entry (SOCE), and it is mediated by stromal-interacting molecules activating ORAI channels (Spinelli and Trebak, 2016; Nguyen et al., 2018). To evaluate whether SOCE influences the PTV increase triggered by cafedrine/noradrenaline, we measured PTV in a  $\text{Ca}^{2+}$ -free buffer solution, thereby excluding extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  influx. While the immediate increase in PTV was comparable among all substances in  $\text{Ca}^{2+}$ -free buffer solution, only cafedrine produced a significantly reduced PTV amplitude. Our experiments in  $\text{Ca}^{2+}$ -free buffer solution provided further evidence that the PTV peak is produced by theodrenaline to a larger extent than cafedrine because its amplitude was comparable to the peak observed when cafedrine/theodrenaline were both applied. Although significant differences regarding a slightly reduced PTV amplitude were detected following cafedrine application, we do not support the high relevance of SOCE after the application of cafedrine/theodrenaline because the clinical relevance of this finding might be questioned according to the measured PTV peak values, because comparable peaks were seen when both cafedrine and theodrenaline were applied in their clinically used mixture.

Several limitations of our study must be acknowledged. First, we used isolated murine tracheae; therefore, the physiological integrity of the respiratory tract was not completely preserved. Consequently, physiological drug administration via capillary vessels could not be replicated, and atypical entrance (e.g., from the apical or lateral side of the trachea) of our tested drugs was preserved. Second, pharmacodynamics and pharmacokinetics might differ between murine tracheae and human lower airways, including the concentration-response relationship. Third, we used small sample sizes in each group; however, clear effects were observed, and larger sample sizes were prohibited by animal welfare regulations. Although clinically administered concentrations were comparable to the concentrations used in our experiments, further studies on human tissues are necessary to confirm the results of our study, and the clinical relevance of the observed effects should be assessed *in vivo*.

In conclusion, our experiments showed a sustained elevation in murine PTV when cafedrine/theodrenaline, cafedrine alone, or theodrenaline alone were applied. Both substances produce their effects via  $\beta_1$ -adrenergic receptor-associated  $\text{Ca}^{2+}$  release that is ultimately triggered through  $\text{IP}_3$  receptor activation. We obtained evidence that the alteration in murine PTV observed after 20:1 cafedrine/theodrenaline is foremost induced by theodrenaline; however, their synergistic effects at the  $\beta_1$ -adrenergic receptor are highly relevant to accelerate the PTV of the respiratory epithelium. Because the pharmacokinetics of cafedrine/theodrenaline remain unknown, further experiments including human tracheal epithelium

and clinical studies are needed to evaluate the value of cafedrine/theodrenaline in altering mucociliary function in clinical practice.

## Data availability statement

The raw data supporting the conclusion of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

## Ethics statement

The animal study was reviewed and approved by the Permit number 813\_M, regional council of Giessen, Germany.

## Author contributions

GS, FE, CK, MH, GR, and MS were involved in planning, data acquisition and writing the manuscript. GS and SM conducted the experiments. FE, CK, MH, and MS made substantial contributions to the conception and provided additional references and clinical experience to the discussion. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

## Acknowledgments

We thank Ilona Magel for her excellent technical assistance.

## Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

The reviewer MD declared a shared affiliation with the authors to the handling editor at the time of review

## Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

## Supplementary material

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2023.1155930/full#supplementary-material>

## References

- Ahn, S., Pani, B., Kahsai, A. W., Olsen, E. K., Husemoen, G., Vestergaard, M., et al. (2018). Small-molecule positive allosteric modulators of the  $\beta_2$ -adrenoceptor isolated from DNA-encoded libraries. *Mol. Pharmacol.* 94 (2), 850–861. doi:10.1124/mol.118.111948
- Barrera, N. P., Morales, B., and Villalón, M. (2004). Plasma and intracellular membrane inositol 1,4,5-trisphosphate receptors mediate the  $\text{Ca}^{2+}$  increase associated with the ATP-induced increase in ciliary beat frequency. *Am. J. Physiology - Cell. Physiology* 287 (4 56-4), 1114–1124. doi:10.1152/ajpcell.00343.2003
- Bassi, G. L., Zanella, A., Cressoni, M., Stylianou, M., and Kolobov, T. (2008). Following tracheal intubation, mucus flow is reversed in the semirecumbent position: possible role in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *Crit. Care Med.* 36 (2), 518–525. doi:10.1097/01.CCM.0000299741.32078.E9
- Bein, B., Christ, T., and Eberhart, L. H. J. (2017). Cafedrine/theodrenaline (20:1) is an established alternative for the management of arterial hypotension in Germany—a review based on a systematic literature search. *Front. Pharmacol.* 8 (FEB), 68. doi:10.3389/fphar.2017.00068
- Braiman, A., Zagoory, O., and Priel, Z. (1998). PKA induces  $\text{Ca}^{2+}$  release and enhances ciliary beat frequency in a  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent and -independent manner. *Am. J. Physiology - Cell. Physiology* 275 (3 44-3), C790–C797. doi:10.1152/ajpcell.1998.275.3.C790
- Burman, W. J., and Martin, W. J. (1986). Oxidant-mediated ciliary dysfunction. Possible role in airway disease. *Chest* 89 (3), 410–413. doi:10.1378/chest.89.3.410
- Delmotte, P., and Sanderson, M. J. (2006). Ciliary beat frequency is maintained at a maximal rate in the small airways of mouse lung slices. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 35 (1), 110–117. doi:10.1165/rcmb.2005-0417OC
- Eberhart, L., Geldner, G., Huljic, S., Marggraf, K., Keller, T., Koch, T., et al. (2018). A non-interventional comparative study of the 20:1 combination of cafedrine/theodrenaline versus ephedrine for the treatment of intra-operative arterial hypotension: the “HYPOTENS” study design and rationale. *Curr. Med. Res. Opin.* 34 (6), 953–961. doi:10.1080/03007995.2018.1438379
- Fisher, I. J., Jenkins, M. L., Tall, G. G., Burke, J. E., and Smrcka, A. V. (2020). Activation of phospholipase C  $\beta$  by  $\text{g}\beta\gamma$  and  $\text{g}\alpha\text{q}$  involves C-terminal rearrangement to release autoinhibition. *Structure* 28 (7), 810–819. doi:10.1016/j.str.2020.04.012
- Forbes, A. R., and Gamsu, G. (1979). Mucociliary clearance in the canine lung during and after general anesthesia. *Anesthesiology* 50 (1), 26–29. doi:10.1097/0000542-197901000-00006
- Galaz-Montoya, M., Wright, S. J., Rodriguez, G. J., Lichtarge, O., and Wensel, T. G. (2017).  $\beta_2$ -Adrenergic receptor activation mobilizes intracellular calcium via a non-canonical cAMP-independent signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 292 (24), 9967–9974. doi:10.1074/jbc.M117.787119
- Heller, A. R., Heger, J., Gama de Abreu, M., and Müller, M. P. (2015). Cafedrine/theodrenaline in anaesthesia: influencing factors in restoring arterial blood pressure. *Anaesthetist* 64 (3), 190–196. doi:10.1007/s00101-015-0005-y
- Hoffmann, C., Leitz, M. R., Oberdorf-Maass, S., Lohse, M. J., and Klotz, K. N. (2004). Comparative pharmacology of human  $\beta$ -adrenergic receptor subtypes - characterization of stably transfected receptors in CHO cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives Pharmacol.* 369 (2), 151–159. doi:10.1007/s00210-003-0860-y
- Horani, A., and Ferkol, T. W. (2021). Understanding primary ciliary dyskinesia and other ciliopathies. *J. Pediatr.* 230, 15–22.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2020.11.040
- Kesimci, E., Bercin, S., Kutluhan, A., Ural, A., Yamanturk, B., and Kanbak, O. (2008). Volatile anesthetics and mucociliary clearance. *Minerva Anesthesiol.* 74 (4), 107–111. Available at: <https://europepmc.org/article/med/18354365> (Accessed December 8, 2022).
- Kilgour, E., Rankin, N., Ryan, S., and Pack, R. (2004). Mucociliary function deteriorates in the clinical range of inspired air temperature and humidity. *Intensive Care Med.* 30 (7), 1491–1494. doi:10.1007/s00134-004-2235-3
- Kloth, B., Pecha, S., Moritz, E., Schneeberger, Y., Söhren, K. D., Schwedhelm, E., et al. (2017). Akrinor<sup>TM</sup>, a cafedrine/theodrenaline mixture (20:1), increases force of contraction of human atrial myocardium but does not constrict internal mammary artery *in vitro*. *Front. Pharmacol.* 8 (MAY), 272. doi:10.3389/fphar.2017.00272
- Konrad, F., Schreiber, T., Hahnel, J., Kilian, J., and Georgieff, M. (1994). The effect of theophylline on the mucociliary clearance function in ventilated intensive care patients. *Anaesthetist* 43 (2), 101–106. doi:10.1007/s001010050038
- Kranke, P., Geldner, G., Kienbaum, P., Gerbershagen, H. J., Chappell, D., Wallenborn, J., et al. (2021). Treatment of spinal anaesthesia-induced hypotension with cafedrine/theodrenaline versus ephedrine during caesarean section: results from HYPOTENS, a national, multicentre, prospective, noninterventional study. *Eur. J. Anaesthesiol.* 38 (10), 1067–1076. doi:10.1097/EJA.0000000000001474
- Kuremoto, T., Kogiso, H., Yasuda, M., Inui, Taka aki, Murakami, K., Hirano, S., et al. (2018). Spontaneous oscillation of the ciliary beat frequency regulated by release of  $\text{Ca}^{2+}$  from intracellular stores in mouse nasal epithelia. *Biochem. Biophysical Res. Commun.* 507 (1–4), 211–216. doi:10.1016/j.bbrc.2018.11.010
- Lau, W. F., Khoo, H. E., and Das, N. P. (1995). Potentiation of beta-adrenoceptor agonist mediated-lipolysis by cholesterol-derived oxysterols. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 35 (6), 1349–1358.
- Legendre, M., Zaragosi, L. E., and Mitchison, H. M. (2021). Motile cilia and airway disease. *Seminars Cell. Dev. Biol.* 110 (November), 19–33. doi:10.1016/j.semcdb.2020.11.007
- Liapakis, G., Chan, W. C., Papadokostaki, M., and Javitch, J. A. (2004). Synergistic contributions of the functional groups of epinephrine to its affinity and efficacy at the beta2 adrenergic receptor. *Mol. Pharmacol.* 65 (5), 1181–1190. doi:10.1124/mol.65.5.1181
- Madukwe, J. C., Garland-Kuntz, E. E., Lyon, A. M., and Smrcka, A. V. (2018). G protein subunits directly interact with and activate phospholipase C. *J. Biol. Chem.* 293 (17), 6387–6397. doi:10.1074/jbc.RA118.002354
- Matthys, H., and Kohler, D. (1980). Effect of theophylline on mucociliary clearance in man. *Eur. J. Respir. Dis.* 61 (109), 98–102. Available at: <https://europepmc.org/article/med/6934090> (Accessed December 14, 2022).
- Müller, S., Droll, M. C., Koch, C., Weiterer, S., Weigand, M. A., Sander, M., et al. (2021). Echinocandins accelerate particle transport velocity in the murine tracheal epithelium: dependency on intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  stores. *Antimicrob. agents Chemother.* 65 (11), e0066921. doi:10.1128/AAC.00669-21
- Nakagawa, N. K., Franchini, M. L., Driusso, P., De Oliveira, L. R., Saldiva, P. H. N., and Lorenzi-Filho, G. (2005). Mucociliary clearance is impaired in acutely ill patients. *Chest* 128 (4), 2772–2777. doi:10.1378/chest.128.4.2772
- Nguyen, N. T., Han, W., Cao, W. M., Wang, Y., Wen, S., Huang, Y., et al. (2018). Store-operated calcium entry mediated by ORAI and STIM. *Compr. Physiol.* 8 (3), 981–1002. doi:10.1002/cphy.c170031
- Ozçiftci, S., Sahiner, Y., and Sahiner, I. T. (2022). Effects of sugammadex and neostigmine on mucociliary clearance in general anesthesia. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 26 (12), 4289–4294. doi:10.26355/eurrev\_202206\_29067
- Perniss, A., Liu, S., Boonen, B., Keshavarz, M., Ruppert, A. L., Timm, T., et al. (2020). Chemosensory cell-derived acetylcholine drives tracheal mucociliary clearance in response to virulence-associated formyl peptides. *Immunity* 52 (4), 683–699. doi:10.1016/j.immuni.2020.03.005
- Salathe, M. (2007). Regulation of mammalian ciliary beating. *Annu. Rev. Physiology* 69, 401–422. doi:10.1146/annurev.physiol.69.040705.141253
- Sanderson, M. J., and Dirksen, E. R. (1986). Mechanosensitivity of cultured ciliated cells from the mammalian respiratory tract: implications for the regulation of mucociliary transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83 (19), 7302–7306. doi:10.1073/pnas.83.19.7302
- Schmidt, M., Evellin, S., Weernink, P. A. O., vom Dorp, F., Rehmann, H., Lomasney, J. W., et al. (2001). A new phospholipase-C-calcium signalling pathway mediated by cyclic AMP and a Rap GTPase. *Nat. Cell. Biol.* 3 (11), 1020–1024. doi:10.1038/ncb1101-1020
- Spinelli, A. M., and Trebak, M. (2016). Orai channel-mediated  $\text{Ca}^{2+}$  signals in vascular and airway smooth muscle. *Am. J. Physiology - Cell. Physiology* 310 (6), C402–C413. doi:10.1152/ajpcell.00355.2015
- Sternitzke, N., Schieffer, H., Rettig, G., and Bette, L. (1984). Die Beeinflussung der Herz-Kreislauf-Dynamik durch die Theophyllin-Verbindung Cafedrin und Theodrenalin sowie durch ihre Kombination. *Herz Kreislauf* 8, 401–412.
- Sutto, Z., Conner, G. E., and Salathe, M. (2004). Regulation of human airway ciliary beat frequency by intracellular pH. *J. Physiology* 560 (2), 519–532. doi:10.1113/jphysiol.2004.068171
- Usichenko, T. I., Foellner, S., Gruendling, M., Feyerherd, F., Lehmann, C., Wendt, M., et al. (2006). Akrinor-induced relaxation of pig coronary artery *in vitro* is transformed into alpha1-adrenoreceptor-mediated contraction by pretreatment with propranolol. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 47 (3), 450–455. doi:10.1097/01.fjc.0000211710.87863.89
- Wang, J., Pani, B., Gokhan, I., Xiong, X., Kahsai, A. W., Jiang, H., et al. (2021).  $\beta$ -arrestin-biased allosteric modulator potentiates carvedilol-stimulated  $\beta$  adrenergic receptor cardioprotection. *Mol. Pharmacol.* 100 (6), 568–579. doi:10.1124/molpharm.121.000359
- Weiterer, S., Kohlen, T., Veit, F., Sachs, L., Uhle, F., Lichtenstern, C., et al. (2015). Galactomannan and zymosan block the epinephrine-induced particle transport in tracheal epithelium. *PLoS ONE* 10 (11), e0143163. doi:10.1371/journal.pone.0143163
- Weiterer, S., Schulte, D., Müller, S., Kohlen, T., Uhle, F., Weigand, M. A., et al. (2014). Tumor necrosis factor alpha induces a serotonin dependent early increase in ciliary beat frequency and epithelial transport velocity in murine tracheae. *PLoS ONE* 9 (3), e91705–e91710. doi:10.1371/journal.pone.0091705
- Weitzel, M., Hammels, P., Schorer, C., Klingler, H., and Weyland, A. (2018). Hemodynamic effects of cafedrine/theodrenaline on anesthesia-induced hypotension. *Anaesthetist* 67 (10), 766–772. doi:10.1007/s00101-018-0472-z
- Whitsett, J. A. (2018). “Airway epithelial differentiation and mucociliary clearance,” in *Annals of the American thoracic society* (America: American Thoracic Society), S143–S148. doi:10.1513/AnnalsATS.201802-128AW
- Wyatt, T. A., Spurzem, J. R., May, K., and Sisson, J. H. (1998). Regulation of ciliary beat frequency by both PKA and PKG in bovine airway epithelial cells. *Am. J. Physiology - Lung Cell. Mol. Physiology* 275 (4 19-4), 827–835. doi:10.1152/ajplung.1998.275.4.827
- Wyatt, T. A. (2015). ‘Cyclic GMP and cilia motility’, Cells. Switzerland: Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 315–330. doi:10.3390/cells4030315
- Zagoory, O., Braiman, A., and Priel, Z. (2002). The mechanism of ciliary stimulation by acetylcholine: roles of calcium, PKA, and PKG. *J. General Physiology* 119 (4), 329–339. doi:10.1085/jgp.20028519
- Ziment, I. (1987). Theophylline and mucociliary clearance. *Chest* 92 (1), 38S–43S–43S. doi:10.1378/chest.92.1\_supplement.38s

**6.6. Dopamine, norepinephrine, and vasopressin accelerate particle transport velocity in murine tracheal epithelium via substance-specific receptor pathways: dependency on intra- and extracellular Ca<sup>2+</sup> sources**



## OPEN ACCESS

## EDITED BY

Hasan Bayram,  
Koç University, Türkiye

## REVIEWED BY

Martin Fronius,  
University of Otago, New Zealand  
Marian Haburcak,  
Brandeis University, United States

## \*CORRESPONDENCE

Götz Schmidt,  
✉ goetz.f.schmidt@chiru.med.uni-giessen.de

<sup>†</sup>These authors share senior authorship

RECEIVED 16 March 2024

ACCEPTED 15 August 2024

PUBLISHED 06 September 2024

## CITATION

Schmidt G, Greif I, Müller S, Markmann M, Edinger F, Sander M, Koch C and Henrich M (2024) Dopamine, norepinephrine, and vasopressin accelerate particle transport velocity in murine tracheal epithelium via substance-specific receptor pathways: dependency on intra- and extracellular Ca<sup>2+</sup> sources. *Front. Pharmacol.* 15:1401983. doi: 10.3389/fphar.2024.1401983

## COPYRIGHT

© 2024 Schmidt, Greif, Müller, Markmann, Edinger, Sander, Koch and Henrich. This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

# Dopamine, norepinephrine, and vasopressin accelerate particle transport velocity in murine tracheal epithelium via substance-specific receptor pathways: dependency on intra- and extracellular Ca<sup>2+</sup> sources

Götz Schmidt<sup>1\*</sup>, Isabelle Greif<sup>1</sup>, Sabrina Müller<sup>1</sup>,  
Melanie Markmann<sup>1</sup>, Fabian Edinger<sup>1</sup>, Michael Sander<sup>1</sup>,  
Christian Koch<sup>1†</sup> and Michael Henrich<sup>2†</sup>

<sup>1</sup>Department of Anesthesiology, Intensive Care Medicine and Pain Therapy, Justus Liebig University Giessen, Giessen, Germany, <sup>2</sup>Department of Anesthesiology, Intensive Care Medicine, Emergency Medicine, Vidia St. Vincentius-Clinic Karlsruhe gAG, Karlsruhe, Germany

**Background:** The unique ability of the respiratory tract to protect the integrity of the airways by removing potentially harmful substances is defined as mucociliary clearance. This complex physiological mechanism protects the lower airways by ridding them of pollutants and pathogens. This study aimed to evaluate the potential influence of clinically relevant vasopressors on mucociliary clearance.

**Material and methods:** The particle transport velocity (PTV) of isolated murine tracheae was measured as a surrogate for mucociliary clearance under the influence of dopamine, norepinephrine, and vasopressin. Inhibitory substances were applied to elucidate relevant signal transduction cascades and the value and origin of calcium ions. Reverse-transcription polymerase chain reactions (RT-PCR) were performed to identify the expression of vasopressin receptor subtypes.

**Results:** Dopamine, norepinephrine, and vasopressin significantly increased the PTV in a dose-dependent manner with half maximal effective concentrations of 0.58  $\mu$ M, 1.21  $\mu$ M, and 0.10  $\mu$ M, respectively. Each substance increased the PTV via separate receptor pathways. While dopamine acted on D<sub>1</sub>-like receptors to increase the PTV, norepinephrine acted on  $\beta$ -adrenergic receptors, and vasopressin acted on V<sub>1a</sub> receptors. RT-PCR revealed the expression of V<sub>1a</sub> in the murine whole trachea and tracheal epithelium. PTV increased when protein kinase A was inhibited and norepinephrine or vasopressin were applied, but not when dopamine was applied. Phospholipase C inhibition decreased the PTV

**Abbreviations:** 2-APB, 2-Aminoethoxydiphenylborane; ATP, Adenosine triphosphate; Ca<sup>2+</sup>, calcium ions; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; CBF, ciliary beat frequency; DMSO, dimethyl sulfoxide; EC<sub>50</sub>, half maximal effective concentration; ER, endoplasmic reticulum; HEPES, 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid; IP<sub>3</sub>, inositol trisphosphate; IQR, interquartile range; PKA, protein kinase A; PLC, phospholipase C; PTV, particle transport velocity; RT-PCR, reverse transcription polymerase chain reaction; SEM, standard error of the mean; SOCE, store-operated calcium entry.

when vasopressin was applied. In general, maximum PTV was significantly reduced when extracellular calcium entry was inhibited. When intracellular calcium stores were depleted, no increase in PTV was observed after administering all three substances. Inositol trisphosphate receptor activation was found to be pivotal in the increase in murine PTV after applying dopamine and vasopressin.

**Discussion:** Dopamine, norepinephrine, and vasopressin accelerate the murine PTV via substance-specific receptor pathways. Further investigations should assess the value and interaction of these substances on mucociliary clearance in clinical practice.

#### KEYWORDS

vasopressor, mucociliary clearance, ciliary beat frequency, perioperative, ciliary activity

## 1 Introduction

The unique ability of the respiratory tract to protect the integrity of the airways by removing potentially harmful substances is called mucociliary clearance. Mucociliary clearance protects the lungs by ridding the airways of pollution and preventing pathogen colonization, and infection. The cooperation of different cells, such as basal, suprabasal, goblet, and multiciliated epithelial cells, ensures the complex mucociliary clearance function of the respiratory tract (Lee and Foskett, 2014; Legendre et al., 2021). These ciliated epithelial cells use outward-directed transportation to prevent the accumulation of debris and colonization by microbial pathogens (Whitsett, 2018; Legendre et al., 2021). Cilia are located on the apical side of the respiratory epithelium along the airways, and are constructed from unique structural proteins (Whitsett, 2018). Ciliary activity can be quantified as ciliary beat frequency (CBF), with particle transport velocity (PTV) used as its surrogate (Delmotte and Sanderson, 2006; Weiterer et al., 2014).

Mucociliary clearance is a complex process that can adapt to different physiological and pathophysiological conditions, with many endogenous and exogenous pathways involved in modifying its function (Delmotte and Sanderson, 2006; Legendre et al., 2021). Therefore, not only inhaled particles but also mucus, electrolytes, and endogenous defensive substances can be removed from the lower airways, which are then expectorated under normal physiological conditions (Delmotte and Sanderson, 2006; Legendre et al., 2021).

The sympathetic and parasympathetic nervous systems increase or decrease ciliary activity, facilitated by their transmitters, norepinephrine and acetylcholine (Frohock et al., 2002; Hollenhorst and Krasteva-Christ, 2021). Important secondary messengers are cyclic adenosine monophosphate (cAMP), cyclic guanosine monophosphate, and calcium ions ( $\text{Ca}^{2+}$ ), which ultimately induce alterations in the CBF (Salathe, 2007; Wyatt, 2015). However, ciliary activity is also sensitive to local temperature, acid-base balance, humidity, mechanical stress, cytokines released during infection, and paracrine effects mediated by adjacent cells, such as mast cells or macrophages (Sanderson and Dirksen, 1986; Kilgour et al., 2004; Sutto et al., 2004; Salathe, 2007; Weiterer et al., 2014; Perniss et al., 2020). Local milieu changes in pathophysiological conditions also influence mucociliary clearance, such as the formation of reactive oxygen species, and pathogenic bacterial, viral or fungal components mediate opposing effects and can reduce CBF with subsequent clinically relevant impairment in mucociliary clearance (Burman and Martin, 1986; Weiterer et al., 2015; Kamiya et al., 2020).

Some severe congenital diseases, such as primary cilia dyskinesia, are characterized by recurrent infections caused by a significant impairment of mucociliary clearance (Ren et al., 2023). However, acquired ciliary dysfunction is pivotal in many pathophysiologic conditions. For example, mucociliary clearance is impaired in tracheal intubated and mechanically ventilated patients, and mechanical ventilation is associated with increased bacterial colonization and pneumonia (Bassi et al., 2008). Furthermore, an overall impairment of mucociliary clearance was also found in critically ill patients in intensive care units (Nakagawa et al., 2005). Impairment of mucociliary clearance is already observed during general anesthesia with mechanical ventilation following endotracheal intubation and may even persist in the postoperative period (Adams et al., 2021). The temperature of the inspired air and the respirator settings modulate the degree of impairment, but the drugs used perioperatively also influence mucociliary clearance (Deng et al., 2023).

Some intravenous and volatile anesthetics, and perioperative antagonists, such as neostigmine and sugammadex, have been evaluated for their influence on mucociliary clearance (Forbes and Gamsu, 1979; Kesimci et al., 2008; Ozciftci et al., 2022). In addition, a recent experimental series showed that a drug commonly used to treat perioperative hypotension, a 20:1 mixture of cafedrine/theodrenaline, accelerated murine PTV and is, therefore, suggested to modulate mucociliary clearance when administered intravenously (Schmidt et al., 2023a). However, cafedrine/theodrenaline is solely used as an intravenous bolus applied for a short period to treat acute hypotensive states. When profound and prolonged hypotension persists, vasopressors, such as dopamine, norepinephrine, or vasopressin, are administered for longer periods in the perioperative setting and intensive care units (Ruiqiang et al., 2021; Douglas et al., 2023).

Dopamine, a precursor of norepinephrine that lacks one hydroxyl group, has been widely used to maintain adequate mean arterial pressures in different forms of shocks (Suzuki et al., 2022). Dopamine has different effects at different dosages. While there is a large inter-individual variability in the effects observed, low dosages induce vasodilation on visceral and renal vasculature via  $\text{D}_1$  receptors, and intermediate and high dosages act on  $\beta_1$ - and  $\alpha_1$ -adrenergic receptors, leading to positive inotropy and vasoconstriction, respectively (Jozwiak, 2022; Ratnani et al., 2023). Patients who received dopamine after non-cardiac surgery had comparable mortality rates to those who received norepinephrine (Aoki et al., 2023). However, dopamine was associated with longer

intensive care unit stays, and it led to a higher rate of cardiac arrhythmias and mortality in patients with septic shock than norepinephrine (Avni et al., 2015; Ruiqiang et al., 2021; Aoki et al., 2023). Therefore, norepinephrine has emerged as the first-line vasopressor recommended for patients with septic shock (Ruiqiang et al., 2021).

Norepinephrine is an endogenous catecholamine that is not only used in patients with septic shock but also in the perioperative setting when mean arterial pressure remains unstable after bolus injections, such as phenylephrine, ephedrine, or 20:1 cafedrine/theodrenaline (Kim et al., 2023). Norepinephrine primarily acts as an agonist of  $\beta_1$ - and  $\alpha_1$ -adrenergic receptors, leading to increased inotropy and vasoconstriction, while the heart rate is mostly unaffected (Ruiqiang et al., 2021). Norepinephrine is currently the most frequently administered vasopressor to treat hypotensive states in various settings. Nevertheless, in patients with septic shock, adding vasopressin is suggested when inadequate mean arterial pressures persist despite higher norepinephrine doses (Ruiqiang et al., 2021).

Vasopressin is normally synthesized in the pituitary gland and acts on vasopressin receptors as an endogenous peptide hormone (Ruiqiang et al., 2021). While  $V_1$  receptors lead to vasoconstriction, renal  $V_2$  receptors have antidiuretic effects (Ammar et al., 2022). Vasopressin is used as a potent vasopressor in septic shock along with norepinephrine and other vasopressors to reduce the overall catecholamine dosages (Ruiqiang et al., 2021; Ammar et al., 2022). Furthermore, it is suggested to have beneficial effects on hypotensive states in patients with elevated pulmonary vascular resistance because it increases systemic vascular resistance but not pulmonary vascular resistance (Sarkar et al., 2015).

Since the impact of these three commonly used vasopressors on mucociliary clearance has not yet been investigated in detail, our experiments aimed to evaluate their influence on the PTV, which indicates mucociliary clearance in the lower airways, and reveal the specific signaling cascades through which they alter the PTV in the epithelium. Dopamine, norepinephrine, or vasopressin were applied to mouse tracheae, and the PTV was measured. Reverse transcription polymerase chain reactions (RT-PCR) were performed to assess the expression of vasopressin receptors in the murine trachea and isolated tracheal epithelium. Further experiments were conducted to determine the importance of calcium release, its origin, and the value of extracellular calcium entry.

## 2 Materials and methods

### 2.1 Drugs and buffer solutions

All preparations and experiments were performed in 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid (HEPES) solution consisting of 10 mM HEPES, 5.6 mM KCl, 2.2 mM  $\text{CaCl}_2$ , 11 mM glucose, 136 mM NaCl, and 2.2 mM  $\text{MgCl}_2$ . NaOH was used to adjust the pH to 7.4 at 30°C. To enable experiments in  $\text{Ca}^{2+}$ -free solutions,  $\text{CaCl}_2$  was omitted and 1 mM ethylene glycol-bis( $\beta$ -aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid was added. The following drugs were applied during the experiments: 2-aminoethoxydiphenylborane (2-APB; 40  $\mu\text{M}$  diluted in 8  $\mu\text{L}$  of dimethyl sulfoxide [DMSO]; TOCRIS Bioscience,

Bristol, United Kingdom), adenosine triphosphate (ATP; 150  $\mu\text{M}$  in 3  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{O}$ ; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States), caffeine (30 mM in 2 mL of HEPES; Roth, Karlsruhe, Germany), CGP20712A (0.1  $\mu\text{M}$  diluted in 2  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{O}$  or 100  $\mu\text{M}$  diluted in 20  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$ ; TOCRIS Bioscience, Bristol, United Kingdom), conivaptan (1  $\mu\text{M}$  diluted in 2  $\mu\text{L}$  of DMSO; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, United States), dopamine (0.58  $\mu\text{M}$  in 100  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{O}$ ; Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Germany), H-89 (10  $\mu\text{M}$  diluted in 20  $\mu\text{L}$  of DMSO; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States), nelivaptan (10 nM diluted in 2  $\mu\text{L}$  of DMSO; Axon Medchem, Groningen, Netherlands), norepinephrine (1.21  $\mu\text{M}$  in 100  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{O}$ ; CHEPLAPHARM Arzneimittel GmbH, Greifswald, Germany), relcovaptan (10  $\mu\text{M}$  diluted in 4  $\mu\text{L}$  of DMSO; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, United States), SCH23390 (10  $\mu\text{M}$  diluted in 2  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{O}$ ; Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, United States), U-73122 (7.5  $\mu\text{M}$  diluted in 4  $\mu\text{L}$  of DMSO; Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, United States), and vasopressin (0.10  $\mu\text{M}$  in 100  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{O}$ ; US Biological Life Sciences, Swampscott, MA, United States). The reported drug concentrations were achieved during the experiments after applying the stock solution with the given volume to the 2 mL of HEPES buffer solution in the recording chamber.

### 2.2 Tracheal preparation and imaging

Male C57BL6J mice weighing 25–35 g (aged 12–15 weeks) were obtained from Charles River (Sulzfeld, Germany). All procedures involving animals were conducted in compliance with European legislation for the protection of animals used for scientific purposes and the standards for animal experiments according to the German animal welfare law. The experiments were approved by the local committee for animal care of the regional council (permit number: 851\_M, regional council of Giessen, Germany).

After deep isoflurane (Baxter, Unterschleissheim, Germany) anesthesia, mice were sacrificed by intraperitoneal injection of pentobarbital (800  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). The following steps were performed immediately within 30 min after euthanasia, as previously described (Schmidt et al., 2023b). In brief, the trachea was dissected with a parasternal incision of the thorax and a median incision of the throat. It was then gently disconnected by slicing it cranial to its bifurcation and directly caudal to the larynx. The trachea was immediately transferred to a Delta T culture dish (Biopetechs, Butler, PA, United States) containing 2 mL of preheated HEPES buffer at pH 7.4°C and 30°C. The dish was pre-coated with Sylgard polymer (Dow Corning, Wiesbaden, Germany) to allow precise positioning of the trachea with two minutiae (Fiebig Lehrmittel, Berlin, Germany). The trachea was fixed so that the cartilage arches faced the Sylgard polymer and the pars membranacea, including the musculus trachealis, faced upward. During the preparations, connective tissues and surrounding blood vessels were gently resected using spring scissors (Vannas-Tübingen, FST, Heidelberg, Germany). Finally, preparation was completed when the musculus trachealis was cut open in a longitudinal direction, and the respiratory epithelium was directly visualized.

After the HEPES buffer was replaced, the trachea was transferred to the stage holder of an upright transmission light microscope (BX50 WI, Olympus, Hamburg, Germany). A temperature control unit maintained a constant temperature of 30°C in the center of the buffer solution, where the trachea was

placed. According to the previously published methods, the optimal measuring conditions were realized at 30°C, although the PTV might be slightly slower than in real-time (Weiterer et al., 2015; Müller et al., 2021). Next, 3 µL of polymer particles (Dynabeads, Dynal Biotech GmbH, Hamburg, Germany) with a mean diameter of 2.8–4.5 µm were added to the buffer solution. The tracheal epithelium was then visualized between two cartilages in bright-field mode using a 20× water immersion lens (BW50 WI, Olympus, Hamburg, Germany), allowing the PTV to be measured by the controlled motion of the Dynabeads along the tracheal epithelium.

## 2.3 PTV measurement

The 80-min observation period began after a 30-min resting period, where repeated PTV measurements were made under the influence of the different drugs. The PTV was measured every 3 min during the first 72 min of the observation period. Next, ATP was applied to confirm the viability of the tracheal epithelium, leading to a maximal increase in PTV. Then, the PTV was measured every 2 min until the end of the experiment at 80 min. From these measurements, the average PTV was calculated for each timepoint, as previously described (Weiterer et al., 2014; Müller et al., 2021; Schmidt et al., 2023a).

## 2.4 RNA extraction from murine tissues.

The murine tracheae, tracheal epithelium, kidneys, and cerebrum were collected after euthanasia. The tracheal epithelium was isolated by gently scrubbing the epithelial layer from the opened trachea using a hygienic swab. All tissues were stored in an RNA stabilization solution (Invitrogen™ RNAlater™, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, United States) at –20°C until further processing. Next, tissue samples were lysed in 350 µL RNeasy Lysis Buffer (Qiagen, Hilden, Germany) containing 3.5 µL of β-mercaptoethanol and then homogenized in a tissue homogenizer (Precellys Evolution homogenizer, Bertin Technologies, Montigny-Bretonneux, France). RNA was extracted using the RNeasy Micro Kit, and DNA was removed using the RNase-Free DNase set Kit (both from Qiagen, Hilden, Germany).

## 2.5 RT-PCR

cDNA was synthesized using the QuantiTect Reverse Transcription Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's protocol and then stored at –20°C until further use. The expression of the arginine vasopressin receptors V<sub>1</sub> (*Avpr1a*), V<sub>1b</sub> (*Avpr1b*), and V<sub>2</sub> (*Avpr2*) was analyzed in the whole trachea and the respiratory epithelium alone (n = 5 each) using specific primers and temperatures shown in Table 1. The primers were selected using the NCBI Primer designing tool (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>, National Institutes of Health, Bethesda, MD, United States). The kidney served as the positive control for *Avpr1a* and *Avpr2*, while cerebrum was used as positive control for *Avpr1b*. The housekeeping gene RNA polymerase II subunit A (*Polr2a*) served as the control to ensure the quality of the RT-PCR and H<sub>2</sub>O was used as

negative control. The primer concentration was set to 0.2 µM and RT-PCR was performed in a thermocycler (AlphaMetrix Biotech GmbH, Rödermark, Germany). The Taq polymerase (Qiagen, Hilden, Germany) was activated at 95° for 3 min, followed by 40 cycles consisting of a 1-min denaturation at 95°C, a 30-s annealing step at the primer-specific temperature (Table 1), and a 2-min extension at 72°C. PCR products were visualized using GelRed (Biotium, Fremont, CA, United States) with a digital imaging system (Vilber Lourmat, Eberhardzell, Germany) in agarose gel (1% an Tris-acetate-ethylenediaminetetraacetic acid buffer) after electrophoresis at 100 V for 60 min. The 100 bp GeneRuler (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, United States) was used to verify the size of the PCR products.

## 2.6 Statistical analysis

Tracheal preparations and PTV measurements were only included in the statistical analyses when tracheal preparations showed directed particle motion during the whole observation period, and a clear response to the application of ATP was detected at the end of the experiments, immediately resulting in normalized PTV values of more than 150%, or a relative increase of more than +40% of the relative PTV. However, when high concentrations were applied to obtain the concentration-response relationship, maximum PTV was already reached and could not be further accelerated by ATP. In this case, tracheal preparations were still included when directed particle motion was preserved during the whole observation period, and replicate experiments yielded similar results. The absolute PTV value was standardized to 100% after the resting time and before the observation period. The PTV values at distinct time points are presented as the mean and standard error of the mean (SEM). The peak plateau PTV values of each experimental group are presented as median and interquartile range (IQR). Half maximal effective concentrations (EC<sub>50</sub>) were calculated using the Hill equation, which is used to describe non-linear concentration-response relationships (Goutelle et al., 2008). All experimental groups for each analyzed substance were compared using a single two-way repeated measures analysis of variance model for each vasopressor, with inter-group differences over time evaluated using post-hoc Bonferroni tests. The data were statistically analyzed using the R statistical software, version 4.0.4 ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)), and the figures were created using GraphPad PRISM (version 9.5.0, GraphPad Software, La Jolla, CA, United States). Two-tailed *p*-values of < 0.05 were generally considered statistically significant.

## 3 Results

### 3.1 Dopamine, norepinephrine, and vasopressin accelerate the PTV in a dose-dependent manner

When dopamine, norepinephrine, or vasopressin were applied to the murine tracheae, the PTV increased in a concentration-dependent manner. The concentration-response relationships were described using the Hill equation, revealing EC<sub>50</sub> values of 0.58 µM for dopamine (n = 11), 1.21 µM for norepinephrine (n = 12), and

TABLE 1 The RT-PCR primers, annealing temperatures, NCBI reference sequence, and product lengths for the murine vasopressin receptors and housekeeping genes.

Target	Gene	Sequence	NCBI reference sequence	Product length	Annealing temperature (°C)
V <sub>1a</sub> R	<i>Avpr1a</i>	Forward: 5'-TCTTCATCGTCCAGATGTGGTC-3' Reverse: 5'-CCAGTAACGCCGTGATCGT-3'	NM_016847.2	90 bp	58.0
V <sub>1b</sub> R	<i>Avpr1b</i>	Forward: 5'-TCCAGGGCAAAGATCCGAAC-3' Reverse: 5'-CAACAGGTGGCTGTTGAAGC-3'	NM_011924.2	222 bp	56.9
V <sub>2</sub> R	<i>Avpr2</i>	Forward: 5'-CTACCACGTCTGGCATTGCT-3' Reverse: 5'-GCATGAGCAACACAAAGGGG-3'	NM_001276299.1	288 bp	58.0
POLR2a	<i>Polr2a</i>	Forward: 5'-GAGAAGCTGGTCCTCGAATC-3' Reverse: 5'-GCATGTTGGACTCAATGCATC-3'	NM_001291068.1	121 bp	58.0

0.10  $\mu$ M for vasopressin ( $n = 9$ , Figures 1A,C,E). Under control conditions, the PTV remained constant throughout the observation period (101 [97–106] %,  $n = 5$ ). A steep increase in the PTV after administering ATP (150  $\mu$ M) confirmed the vitality of the tissues at the end of each experiment, which is demonstrated by an example for all experiments in Figure 1B. When the calculated EC<sub>50</sub> values were applied, the PTV significantly increased for the entire observation period, with the steepest increase observed with norepinephrine (227 [199–235] %,  $p < 0.001$ ,  $n = 5$ , Figure 1D). The PTV plateaued following an initial flat rise after administering dopamine (179 [167–187] %,  $p < 0.001$ ,  $n = 4$ , Figure 1B) and vasopressin (163 [146–177] %,  $p < 0.001$ ,  $n = 5$ , Figure 1F). Subsequent experiments were conducted with the inhibitory substances to evaluate the value of substance-specific membrane-bound receptors. Since the initial kinetics and periods in the PTV increase differed among the applied substances, the inhibitors were incubated for 21 or 30 min before the application of dopamine/vasopressin or norepinephrine, respectively. Therefore, adequate observation periods after applying the three vasopressors were ensured throughout the experiments.

### 3.2 Dopamine, norepinephrine, and vasopressin increase the PTV via substance-specific receptors

Dopamine was administered to the tracheae in the presence of the  $\beta$ -adrenergic receptor inhibitor CGP20712A (100  $\mu$ M,  $n = 4$ ) and the dopamine D<sub>1</sub>/D<sub>5</sub> receptor inhibitor SCH23390 (10  $\mu$ M,  $n = 4$ ), respectively. Both inhibitors did not alter the PTV compared to the control experiments (CGP20712A: 101 [99–104] %; SCH23390: 99 [94–116] %; Figure 2). The PTV significantly increased when dopamine was applied in the presence of CGP20712A (151 [139–166] %,  $p < 0.001$ , Figures 2A,B). The maximum PTV was significantly lower after dopamine was administered with than without  $\beta$ -adrenergic receptor inhibition ( $p < 0.001$ ). However, no significant increase in the PTV was observed when D<sub>1</sub>-like receptors were inhibited, and the PTV remained comparable to control conditions (101 [94–116] %).

Norepinephrine was applied in the presence of CGP20712A at a selective  $\beta_1$ -adrenergic receptor inhibitory concentration (0.1  $\mu$ M,  $n = 4$ ) and an unselective  $\beta$ -adrenergic receptor inhibitory concentration (100  $\mu$ M,  $n = 4$ , Figure 3). While both CGP20712A concentrations did not alter the PTV compared to the control experiments (0.1  $\mu$ M: 105 [102–107] %; 100  $\mu$ M: 104 [101–106] %), the PTV significantly increased in the presence of norepinephrine (0.1  $\mu$ M: 190 [170–196] %,  $p < 0.001$ ; 100  $\mu$ M: 133 [129–141] %,  $p < 0.001$ ; Figure 3A). However, compared to applying norepinephrine without CGP20712A, the maximum PTV was significantly lower with selective  $\beta_1$ -adrenergic receptor inhibition ( $p < 0.001$ ), and unselective  $\beta$ -adrenergic receptor inhibition (both  $p < 0.001$ , Figure 3B), with the latter showing a more significant decrease.

The experiments conducted on vasopressin receptors are shown in Figure 4. The value of the vasopressin receptors was initially evaluated in the presence of conivaptan (1  $\mu$ M,  $n = 4$ ), a selective V<sub>1a</sub> and V<sub>2</sub> receptor antagonist (Figure 4A). Conivaptan alone did not alter the basal PTV (101 [96–114] %). Moreover, the PTV did not significantly increase after vasopressin was applied (109 [96–114] %). Subsequent experiments using the selective V<sub>1a</sub> receptor antagonist relcovaptan (10  $\mu$ M,  $n = 4$ ) showed that the lack of increase in the PTV was entirely due to V<sub>1a</sub> receptor inhibition. While relcovaptan alone did not change the PTV (102 [100–108] %), the PTV did not increase after applying vasopressin (103 [99–106] %; Figure 4B). Consequently, nelivaptan (10 nM,  $n = 4$ ), a selective V<sub>1b</sub> receptor antagonist, could not prevent the vasopressin-induced increase in the PTV (185 [169–189] %,  $p < 0.001$ ), while the baseline PTV remained comparable in the presence of nelivaptan alone (101 [99–106] %, Figure 4C). The maximum PTV after applying vasopressin was comparable with and without V<sub>1b</sub> receptor inhibition (Figure 4D). RT-PCR indicated the expression of *Avpr1a*, but not *Avpr1b* and *Avpr2* in both the whole trachea and the tracheal epithelium (Table 2). Native bands are shown in Figure 5.

The value of pivotal intracellular signal transduction enzymes was evaluated in the following experiments.

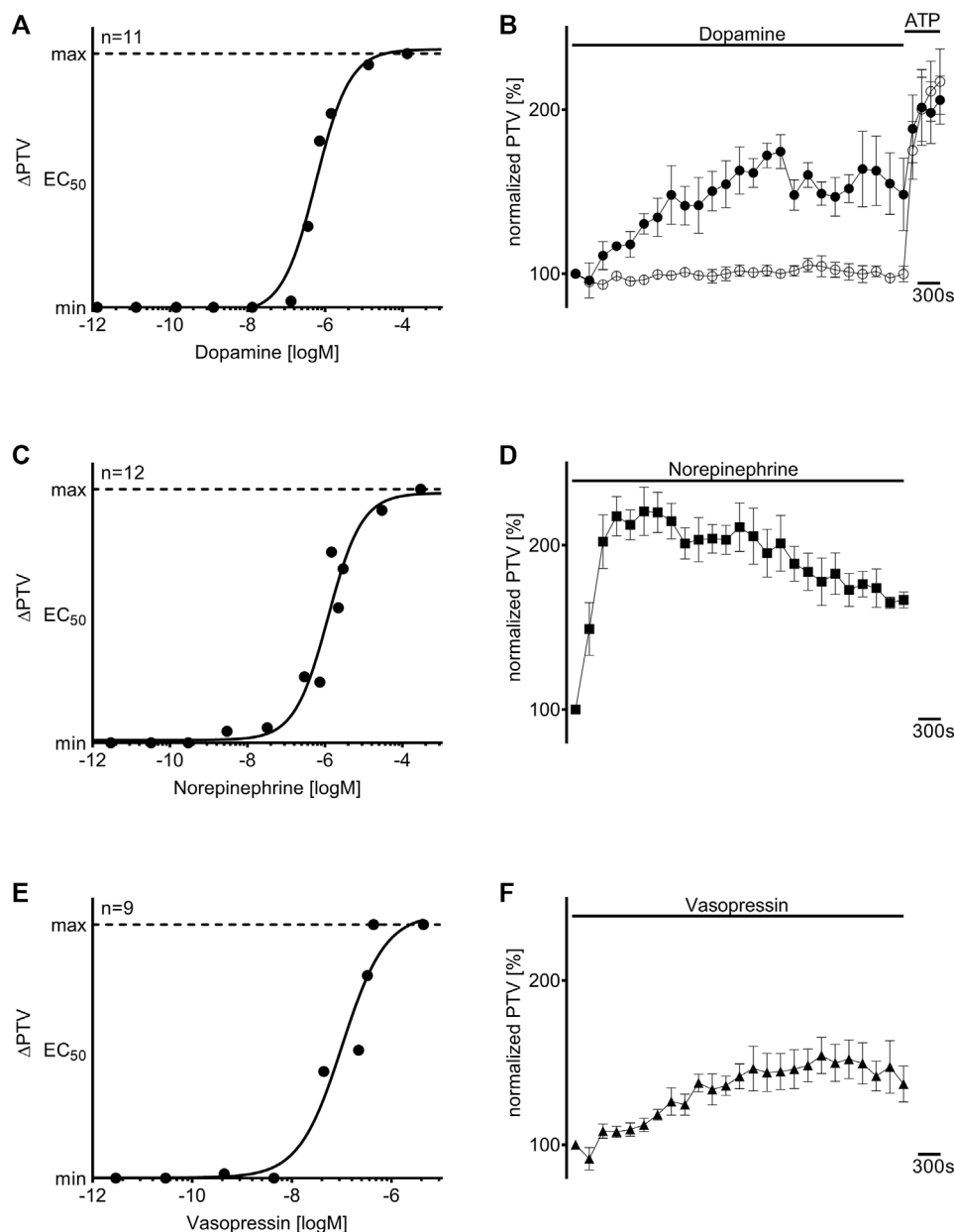


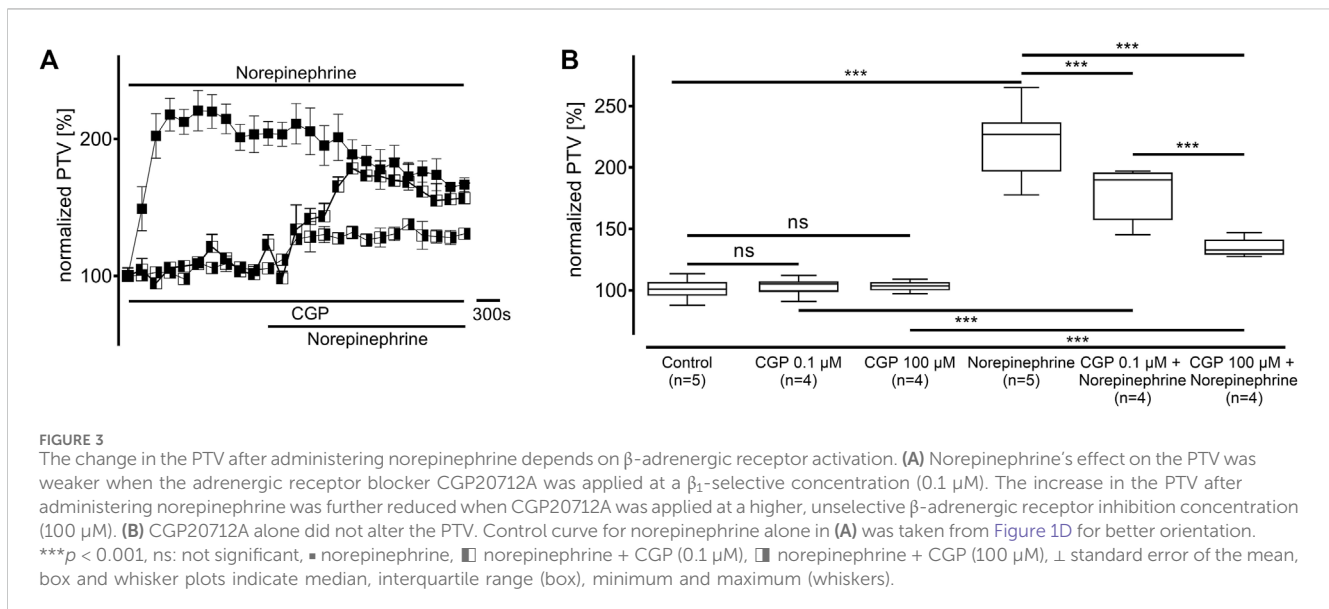
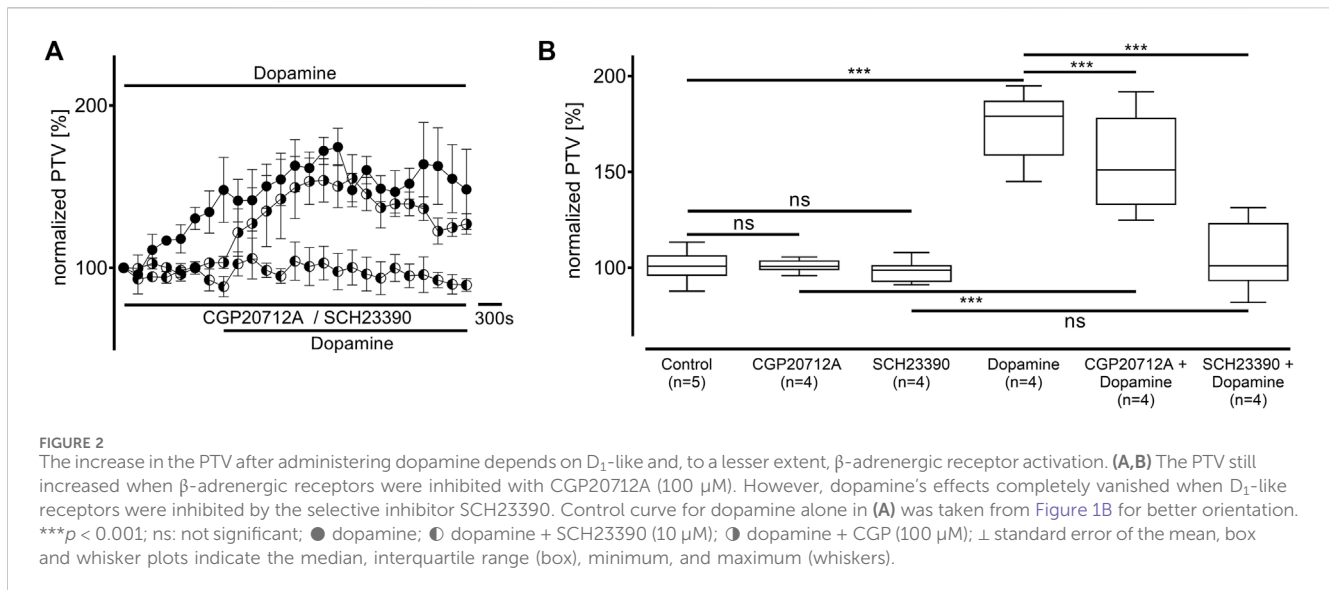
FIGURE 1

Dopamine, norepinephrine, and vasopressin increased the particle transport velocity (PTV) in a concentration-dependent manner. The Hill equation describes the concentration-response relationships for (A) dopamine, (C) norepinephrine, and (E) vasopressin. The "n" in (A,C,E) indicates the number of individual data points used for the calculation of the Hill equation, and each point (●) represents one tracheal preparation. Application of the calculated half maximal effective concentrations for (B) dopamine (●, 0.58  $\mu$ M, n = 4), (D) norepinephrine (■, 1.21  $\mu$ M, n = 5), and (F) vasopressin (▲, 0.10  $\mu$ M, n = 5) induced a long-lasting increase in the murine PTV; the PTV remained constant around its baseline value in control experiments (O, n = 5).  $\perp$  standard error of the mean (SEM).

### 3.3 Influence of intracellular signal transduction enzymes

Protein kinase A (PKA) was inhibited using H-89 (10  $\mu$ M), which generally significantly reduced the baseline PTV (dopamine: 79 [70–88] %, n = 5; norepinephrine: 70 [61–78] %, n = 4; vasopressin: 64 [58–70] %, n = 5; all  $p < 0.001$ , Figure 6). While the PTV did not significantly increase after applying dopamine (87 [81–99] %, Figures 6A,B), the PTV did significantly increase after applying norepinephrine and vasopressin despite the presence

of H-89 (norepinephrine: 233 [180–270] %,  $p < 0.001$ , vasopressin: 158 [143–179] %,  $p < 0.001$ , Figures 6C–F). Subsequent experiments examined phospholipase C (PLC, each n = 4) inhibition using the selective inhibitor U-73122 (7.5  $\mu$ M). U-73122 alone did not alter the PTV (dopamine: 100 [98–102] %; norepinephrine: 108 [103–110] %; vasopressin: 102 [95–109] %, Figure 7). However, the PTV significantly increased after applying dopamine, norepinephrine, and vasopressin (dopamine: 182 [162–194] %,  $p < 0.001$ , norepinephrine: 207 [201–226] %,  $p < 0.001$ , vasopressin: 146 [132–160] %,  $p < 0.001$ ). After applying



dopamine and norepinephrine, the maximum PTV was comparable with and without PLC inhibition (Figures 7A–D). However, after applying vasopressin, the maximum PTV was significantly lower with than without PLC inhibition ( $p < 0.001$ , Figures 7E,F). The following experiments evaluated the importance of extracellular and intracellular Ca<sup>2+</sup> release for the increase in PTV.

### 3.4 Influence of intracellular and extracellular Ca<sup>2+</sup> stores

Ca<sup>2+</sup>-free buffer solution was used to prevent extracellular Ca<sup>2+</sup> entry after administering dopamine, norepinephrine, or vasopressin (Figure 8, each  $n = 4$ ). The baseline PTV did not differ significantly between the Ca<sup>2+</sup>-free buffer solution and the Ca<sup>2+</sup>-containing buffer solutions (93 [90–98] %). Dopamine,

norepinephrine, or vasopressin all induced a significant increase in the PTV in the Ca<sup>2+</sup>-free buffer solution, which followed comparable kinetics to the increases in Ca<sup>2+</sup>-containing buffer solutions (dopamine: 158 [136–182] %,  $p < 0.001$ , norepinephrine: 158 [146–177] %,  $p < 0.001$ , vasopressin: 135 [128–156] %,  $p < 0.001$ , Figures 8A,C,E). However, the maximum PTV was significantly lower in Ca<sup>2+</sup>-free than in Ca<sup>2+</sup>-containing buffer solutions after applying dopamine, norepinephrine, or vasopressin (all  $p < 0.001$ , Figures 8B,D,F).

Since the increase in the PTV was not entirely abolished by preventing extracellular Ca<sup>2+</sup> entry, the next experiments aimed to examine the origin of intracellular Ca<sup>2+</sup>. Therefore, caffeine-sensitive Ca<sup>2+</sup> stores, which are foremost the endoplasmic reticulum (ER), were depleted by caffeine (30 mM, each  $n = 4$ ) in a Ca<sup>2+</sup>-free buffer solution at the beginning of the resting period. A transient increase in PTV through Ca<sup>2+</sup> release following store depletion returned to a

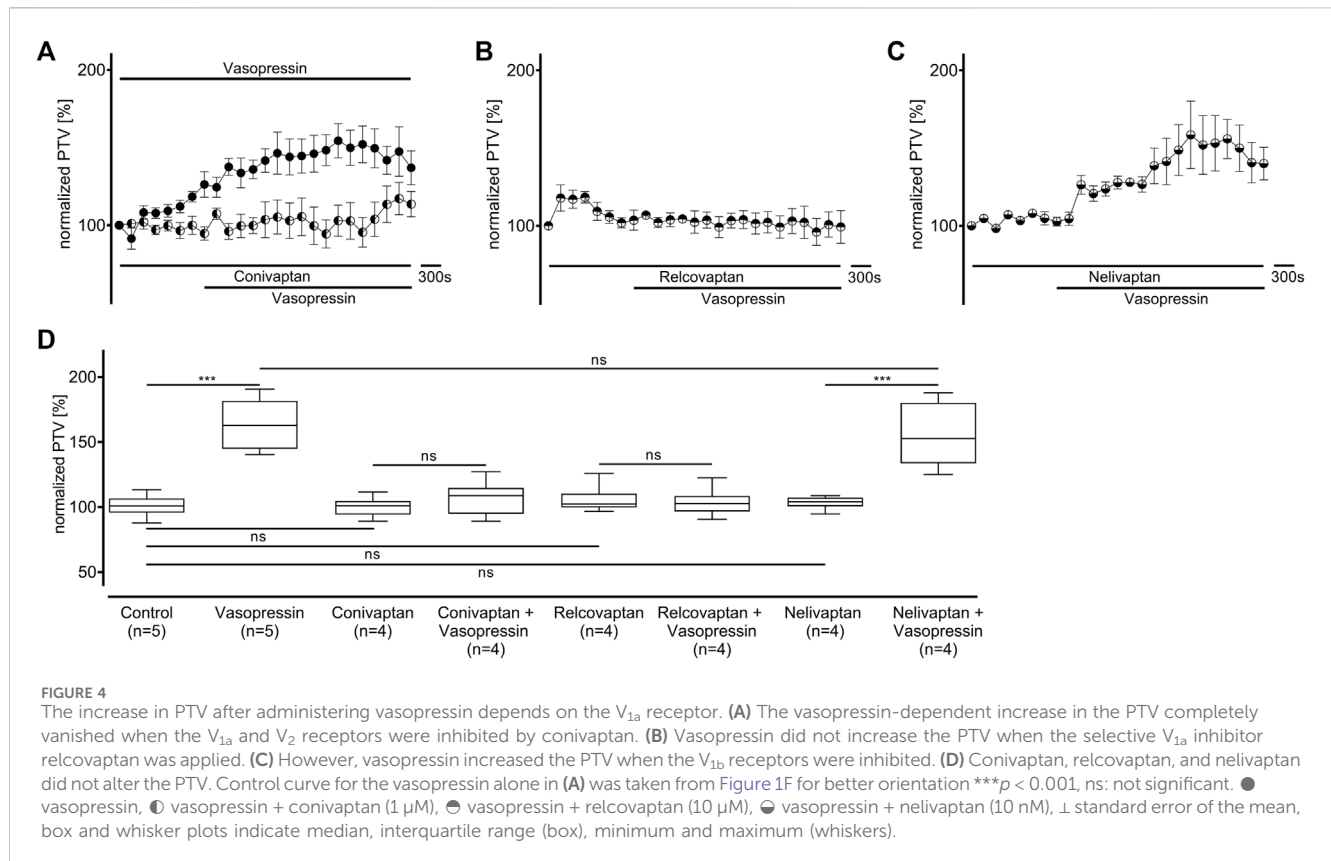


TABLE 2 Vasopressin receptor mRNA expression.

	<i>Avpr1a</i>	<i>Avpr1b</i>	<i>Avpr2</i>
Positive control <sup>a</sup>	+	+	+
Whole trachea	+	-	-
Tracheal epithelium	+	-	-
Negative control (H <sub>2</sub> O)	-	-	-

<sup>a</sup>Tissue used as positive control: kidney (*Avpr1a* and *Avpr2*) and cerebrum (*Avpr1b*).

stable plateau prior to normalization at the beginning of the observation period. Dopamine, norepinephrine, and vasopressin did not induce any increase in the PTV compared to caffeine alone (caffeine alone: 88 [85–94] %, dopamine: 92 [89–96] %; norepinephrine: 90 [87–93] %; vasopressin: 94 [90–98] %, Figure 9).

Next, the inositol trisphosphate (IP<sub>3</sub>) receptors were inhibited with 2-APB (40  $\mu$ M, each  $n = 4$ ) to determine the value of IP<sub>3</sub> receptor-associated Ca<sup>2+</sup> release from the ER. Their inhibition significantly reduced the baseline PTV (dopamine: 79 [78–81] %,  $p < 0.001$ , norepinephrine: 68 [63–80] %,  $p < 0.001$ , vasopressin: 70 [63–74] %,  $p < 0.001$ , Figure 10). The PTV did not increase after applying dopamine (70 [61–71] %, Figures 10A,B). However, the PTV did significantly increase after applying norepinephrine (155 [140–165] %,  $p < 0.001$ ), although the maximum plateau was significantly lower with than without IP<sub>3</sub> receptor inhibition ( $p < 0.001$ , Figures 10C,D). Notably, the increase in the PTV was completely preserved when vasopressin was applied (81 [78–85] %; Figures 10E,F).

## 4 Discussion

Our study revealed that dopamine, norepinephrine, and vasopressin accelerate the murine PTV, suggesting changes in mucociliary clearance of the respiratory epithelium. All three analyzed substances showed concentration-response relationships, which can be described with the Hill equation, indicating specific receptor-mediated effects. Each substance ultimately leads to intracellular Ca<sup>2+</sup> release, mediating the increase in the PTV, intensified by additional extracellular Ca<sup>2+</sup> entry. However, dopamine, norepinephrine, and vasopressin use different, substance specific membrane-bound receptors to induce these effects.

Our experiments revealed that dopamine increases the murine PTV via the D<sub>1</sub>/D<sub>5</sub> receptors, which are frequently referred to D<sub>1</sub>-like receptors (Montalant et al., 2023). These G protein-coupled receptors induce the formation of cAMP, which ultimately activates the PKA (Bozzi and Borrelli, 2013). Our experiments suggested that PKA is the pivotal enzyme in the signal transduction cascade that increases the PTV after dopamine administration. Therefore, our results are consistent with the known signal transduction cascade after D<sub>1</sub>-like receptor activation (Montalant et al., 2023). Ca<sup>2+</sup> release was ultimately triggered by IP<sub>3</sub> receptor activation, which was shown by the complete inhibition of any increase in the PTV after IP<sub>3</sub> receptor inhibition. IP<sub>3</sub> receptors are generally regulated by both cAMP- and PKA-dependent pathways (Taylor, 2017). PKA phosphorylates IP<sub>3</sub> receptors after increasing cAMP concentrations, causing rapid, transient, and reversible changes in IP<sub>3</sub> receptor channel function (Betzenhauser and Yule, 2010). While

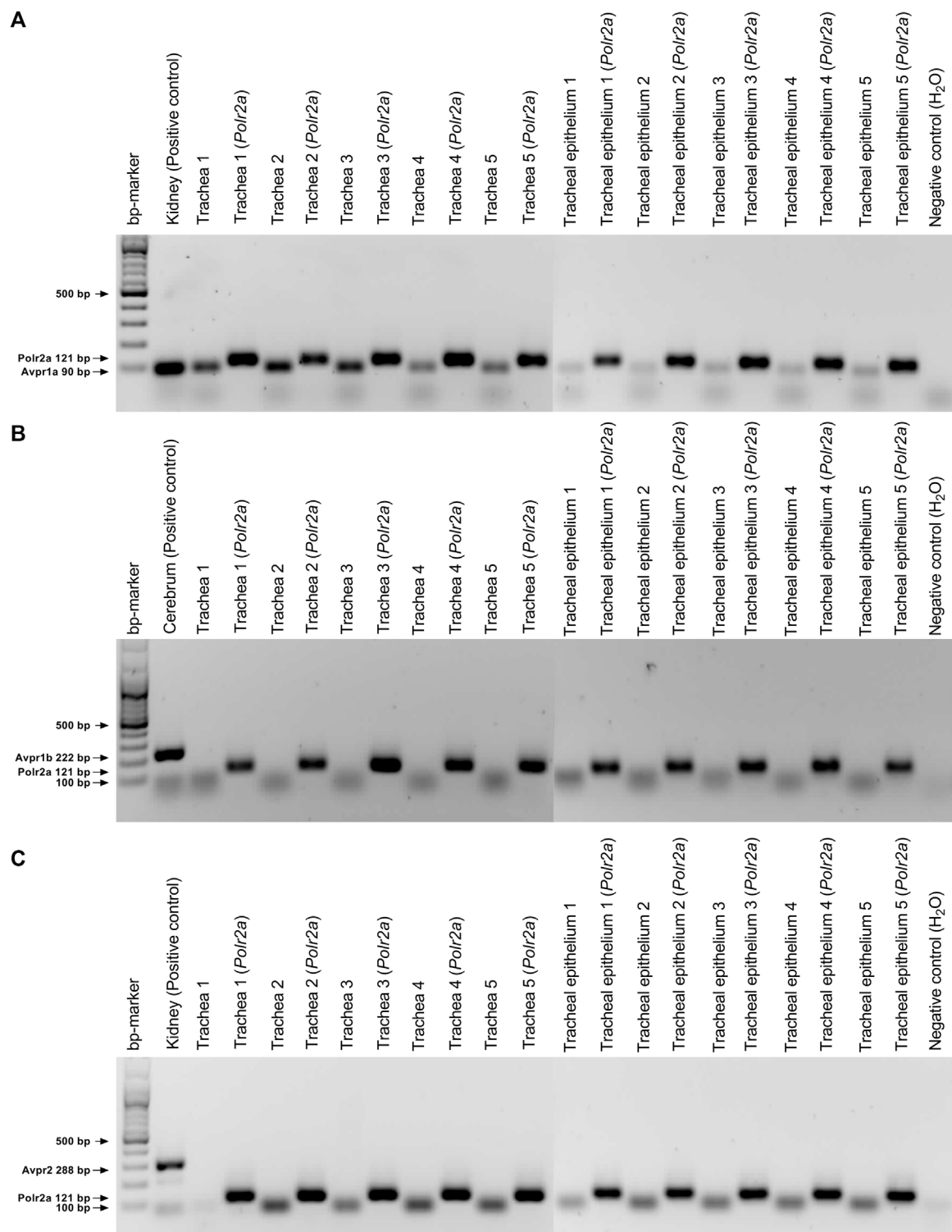


FIGURE 5

Expression analysis in mouse tissues using reverse transcriptase (RT)-PCR. (A) Vasopressin V<sub>1a</sub> receptor (*Avpr1a*, 90 bp) was detected in murine trachea and tracheal epithelium, whereas transcripts encoding (B) V<sub>1b</sub> (*Avpr1b*, 222 bp) and (C) V<sub>2</sub> (*Avpr2*, 288 bp) were not detected. Kidney (*Avpr1a* and *Avpr2*) and cerebrum (*Avpr1b*) served as positive control for the vasopressin receptor primers. The housekeeping gene RNA polymerase II subunit A (*Polr2a*, 121 bp) and H<sub>2</sub>O were used as the control to ensure the quality of the RT-PCR and as negative control, respectively.

phosphorylation does not directly open IP<sub>3</sub> receptors, phosphorylated IP<sub>3</sub> receptors showed an increased open probability when activated by IP<sub>3</sub>, and closed receptor states were

destabilized (Taylor, 2017). Therefore, PKA-induced phosphorylation can approximately double IP<sub>3</sub> receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> release (Nakade et al., 1994). While closely related, each

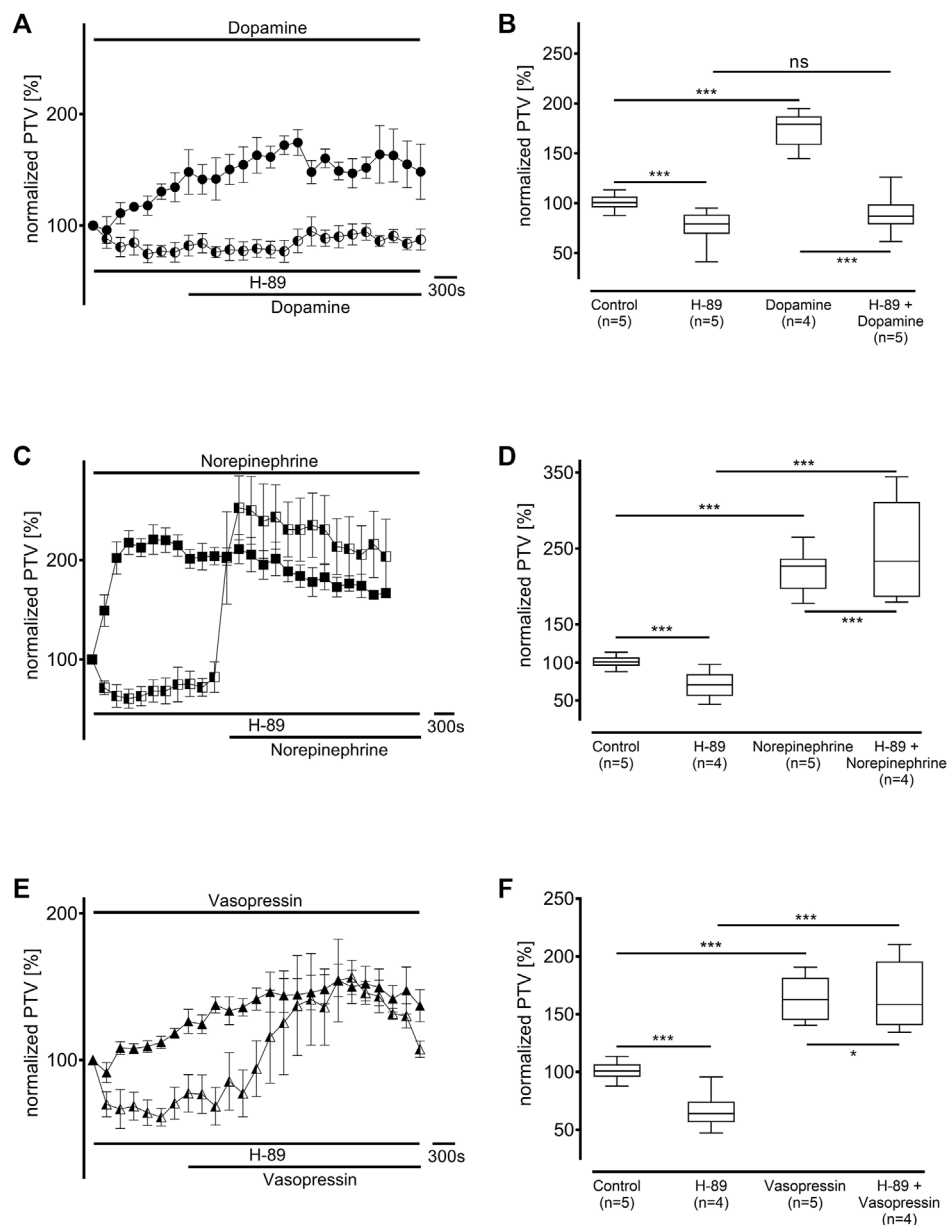


FIGURE 6

Protein kinase A (PKA) was inhibited by H-89 (10  $\mu$ M). The baseline PTV decreased when the selective inhibitor was applied. (A,B) The PTV did not increase when dopamine was applied in the presence of H-89. However, (C,D) norepinephrine and (E,F) vasopressin significantly increased the PTV. Control curves for the agonists alone in (A), (C), and (E) were taken from Figures 1B,D,F, respectively, for better orientation. \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ , ns: not significant. ● dopamine, ○ dopamine + H-89 (10  $\mu$ M), ■ norepinephrine, □ norepinephrine + H-89 10  $\mu$ M, ▲ vasopressin, △ vasopressin + H-89 10  $\mu$ M,  $\pm$  standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

subtype has different phosphorylation sites, resulting in only the activity of subtypes 1 and 2 but not subtype 3 being enhanced by PKA-induced phosphorylation (Nakade et al., 1994; Taylor, 2017). Moreover, cAMP has also been shown to directly affect IP<sub>3</sub> receptors without the concomitant activation of PKA (Taylor, 2017). However, these effects were primarily described in combination with parathyroid hormone, and it remains unclear whether they might also apply to other substances and especially to respiratory tissues (Tovey et al., 2008; Tovey et al., 2010).

Our experiments also suggested that dopamine affects  $\beta$ -adrenergic receptors to a lesser extent, proven by the PKA not

being the pivotal receptor enzyme with norepinephrine in our experiments, and other  $\beta$ -adrenergic agonists in recent studies (Schmidt et al., 2023a). However, it must be noted that signal transduction after dopamine administration was only examined with one concentration reflecting the calculated EC<sub>50</sub>. Because dopamine generally showed concentration-response kinetics according to the Hill equation, it appears that D<sub>1</sub>-like receptors remain the pivotal receptor triggering increase in the PTV, with other adrenergic receptors barely affected. Therefore, only  $\beta$ -adrenergic receptors appear relevant, because no PTV-altering effect was found after  $\alpha$ -receptor activation, and RT-PCR only

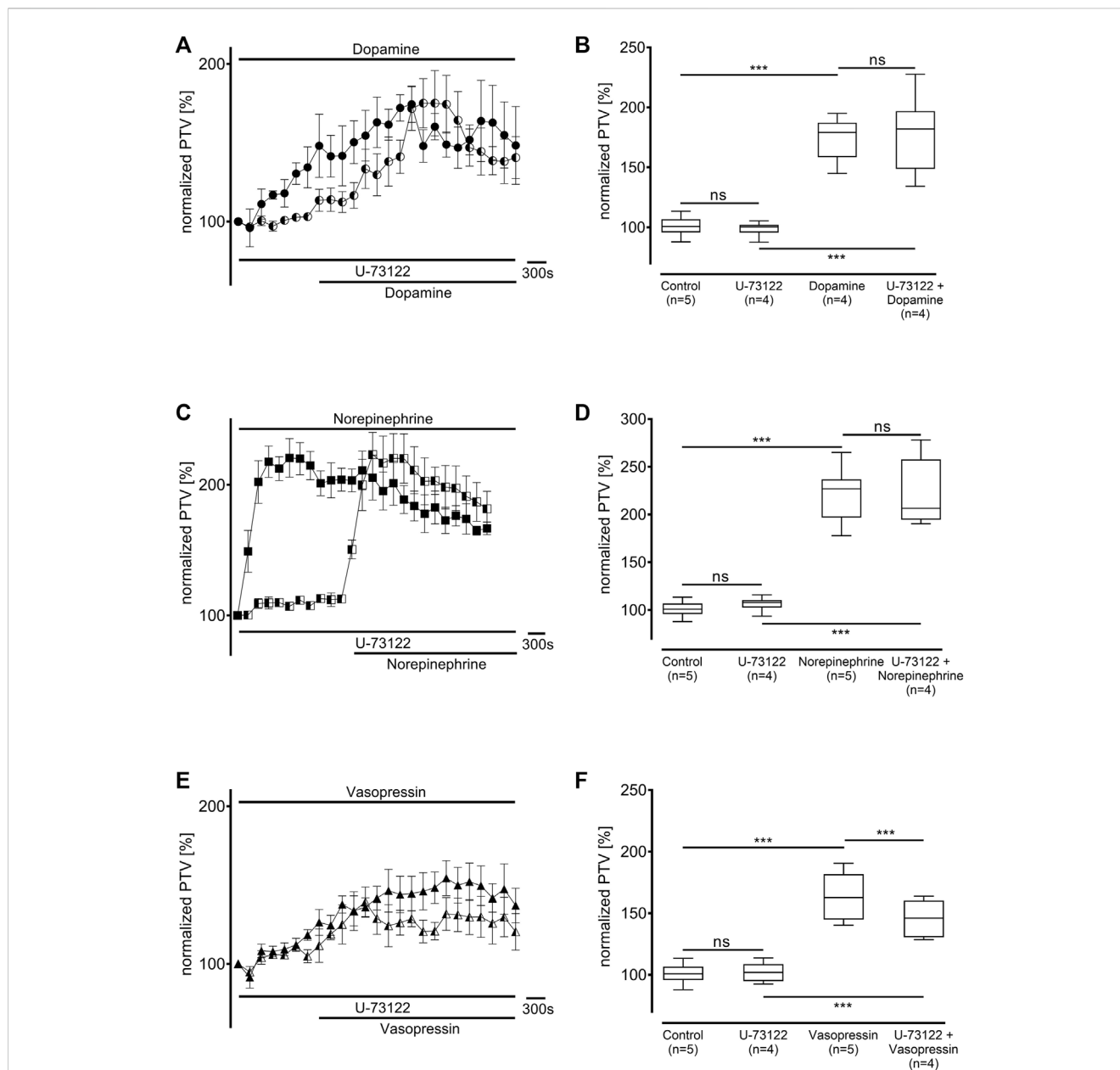


FIGURE 7

The increase in PTV with dopamine and norepinephrine but not vasopressin was independent of phospholipase C (PLC). The selective PLC inhibitor U-73122 did not alter the baseline PTV. (A,B) Dopamine and (C,D) norepinephrine still induced an equivalent increase in the PTV. (E,F) The PTV plateau was significantly reduced after the administration of vasopressin. Control curves for the agonists alone in (A), (C), and (E) were taken from Figures 1B,D,F, respectively, for better orientation. \*\*\* $p < 0.001$ , ns: not significant. ● dopamine, ○ dopamine + U-73122 (7.5 μM), ■ norepinephrine, □ norepinephrine + U-73122 (7.5 μM), ▲ vasopressin, △ vasopressin + U-73122 (7.5 μM), ⊥ standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

detected the expression of the  $\alpha_1D$  subunit in murine respiratory epithelium in other studies (Weiterer et al., 2015).

Norepinephrine induced a steeper increase in the PTV than dopamine and vasopressin. Its observed kinetics were comparable with other  $\beta$ -adrenergic receptor agonists, such as theodrenaline, which has been recently examined (Schmidt et al., 2023b). We observed that norepinephrine alters the PTV via unselective  $\beta$ -adrenergic receptor stimulation because the PTV was further reduced when the concentration of CGP20712A was increased from selective  $\beta_1$ -adrenergic inhibition to unselective  $\beta$ -adrenergic

receptor inhibition. However, even the high concentration could not entirely prevent the increase in the PTV, although PTV was considerably reduced.

Therefore, we conclude that norepinephrine might increase the PTV via unselective  $\beta$ -adrenergic receptor activation since it is already known that PTV increases are independent of  $\alpha$ -adrenergic receptor activation (Weiterer et al., 2015). Furthermore, our experiments showed independence from PLC, strengthening this finding because PLC is the main effector enzyme of the  $\alpha_1$ -adrenergic receptor. Nevertheless, since the slope of the

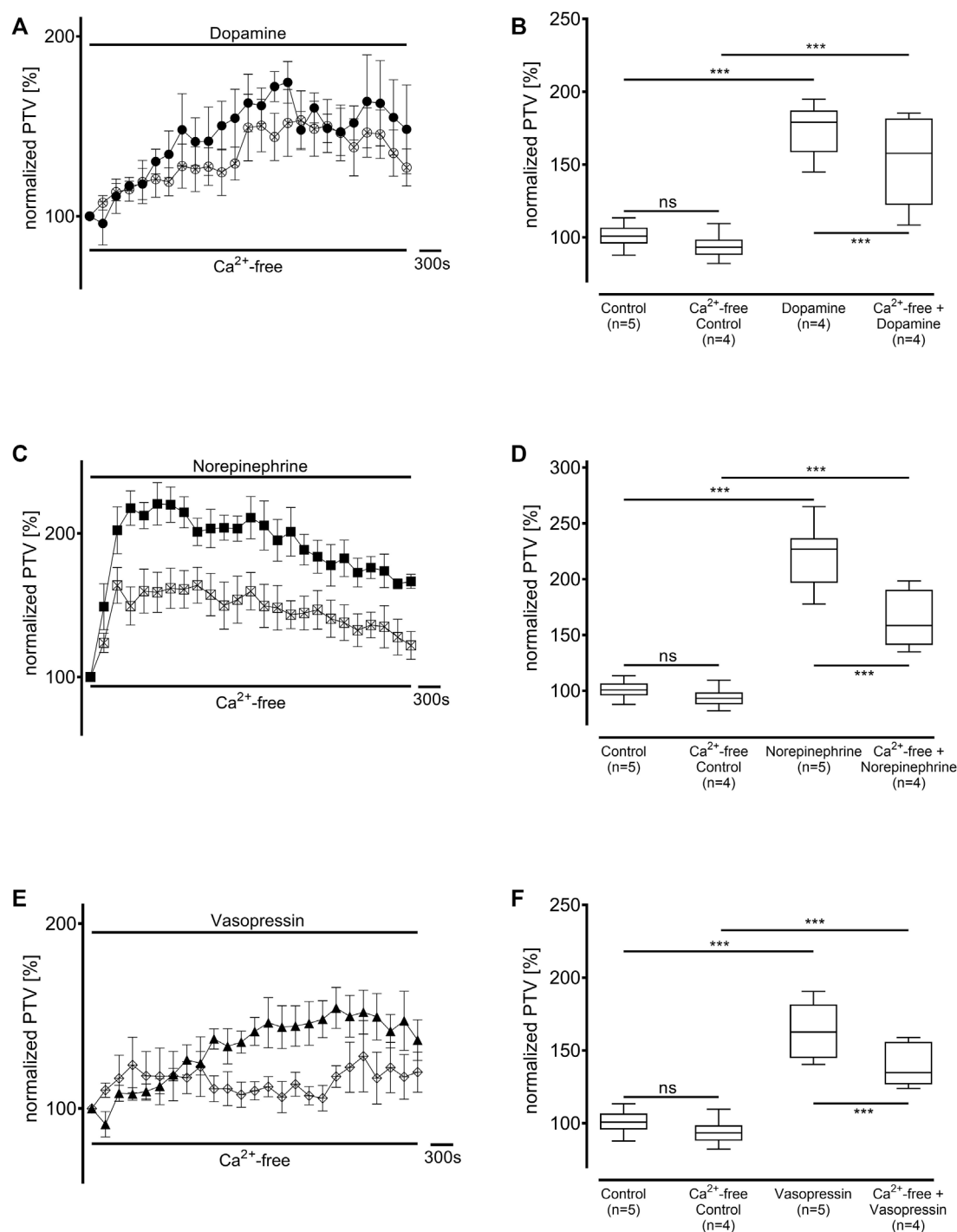


FIGURE 8

The full PTV increase is only realized with extracellular Ca<sup>2+</sup> entry. The PTV was measured in a Ca<sup>2+</sup>-free buffer solution after applying (A,B) dopamine, (B,C) norepinephrine, and (E,F) vasopressin. Control curves for the agonists alone in (A), (C), and (E) were taken from Figures 1B,D,F, respectively, for better orientation. \**p* < 0.05, \*\*\**p* < 0.001, ns: not significant. ● dopamine, ○ dopamine in Ca<sup>2+</sup>-free buffer, ■ norepinephrine, □ norepinephrine in Ca<sup>2+</sup>-free buffer, ▲ vasopressin, ◇ vasopressin in Ca<sup>2+</sup>-free buffer, ⊥ standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

concentration-response curve for norepinephrine was very steep, it seems possible that the calculated EC<sub>50</sub> represents a slightly right-shifted position on the actual concentration-response curve. Therefore, the inhibitory concentration used in our experimental setup may not be sufficient to block a potentially higher

norepinephrine concentration. Interestingly, PKA was not the pivotal signal transduction enzyme in the increase in the PTV after β-adrenergic receptor stimulation. This finding has also been observed after applying cafedrine and theodrenaline, which are both regarded as selective β<sub>1</sub> receptor agonists (Schmidt et al.,

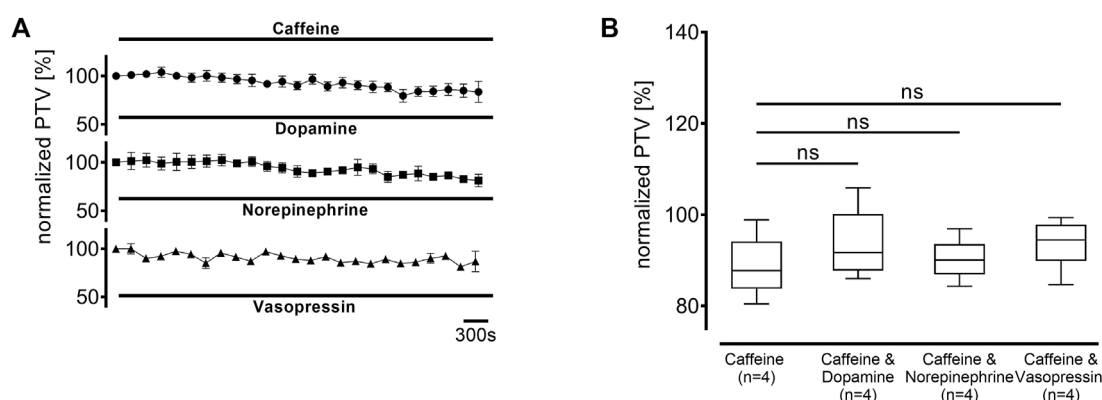


FIGURE 9

The PTV increase depends entirely on the depletion of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  stores. Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  stores were depleted using caffeine 30 min prior to the observation period. When (A) dopamine, norepinephrine, or vasopressin were applied, (B) no increase was observed. ns: not significant. ○ caffeine 30 mM, ● dopamine + caffeine 30 mM, ■ norepinephrine + caffeine 30 mM, ▲ vasopressin + caffeine 30 mM, ± standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

2023b). Notably, the effects of these  $\beta_1$  receptor agonists were ultimately mediated via  $\text{IP}_3$  receptors which was not observed in our experiments with norepinephrine. Therefore,  $\text{IP}_3$  receptors might contribute to  $\text{Ca}^{2+}$  release because the maximum PTV was slower with than without  $\text{IP}_3$  receptor inhibition. Different signal transduction mechanisms and receptor involvement could also be hypothesized. The linkage between  $\beta$ -adrenergic receptors and ryanodine receptor activation releasing  $\text{Ca}^{2+}$  from the ER or sarcoplasmic reticulum in cardiomyocytes is generally well known (Zhou et al., 2009; Berisha et al., 2021). Ryanodine receptors 2 and 3 were found in the murine respiratory epithelium (Schmidt et al., 2023b). However, allosteric modulation of ryanodine receptors by cAMP, which could lead to  $\text{Ca}^{2+}$  release and the subsequent increase in the PTV despite its independence from PKA, has only been described for ryanodine receptor 1 (Cholak et al., 2023). Therefore, further studies should be performed with other  $\beta$ -agonists, which might confirm our findings, and inhibitory substances, which could elucidate the distinct signal transduction cascades.

Our experiments suggested that vasopressin accelerated the murine PTV via  $\text{IP}_3$  receptor triggered  $\text{Ca}^{2+}$  release from the ER. The relevance of extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  entry after vasopressin administration was underscored by the markedly reduced PTV in the experiments using a  $\text{Ca}^{2+}$ -free buffer solution. While the experiments with H-89 showed that PKA does not influence the change in PTV after vasopressin administration, the experiments with U-73122 suggested that PLC significantly influenced the change. These results are consistent with the typical  $V_1$  receptor signal transduction cascade because these G-coupled receptors activate PLC and ultimately release  $\text{Ca}^{2+}$  from the ER via  $\text{IP}_3$  receptor activation (Birnbaumer, 2000). In contrast, PKA is the main effector enzyme of  $V_2$  receptors, whose relevance would have been suggested if the PTV had been modulated by PKA inhibition (Birnbaumer, 2000). Our experiment with the nonspecific  $V_{1a}$  and  $V_2$  receptor inhibitor conivaptan initially suggested the relevance of one of these receptors. However, the increase in the PTV entirely disappearing when the  $V_{1a}$  receptors were selectively inhibited precluded further experiments with selective  $V_2$  inhibitors.

Furthermore,  $V_{1b}$  receptor inhibition did not prevent the increase in the PTV after vasopressin administration, and subsequent RT-PCR only detected the expression of  $V_{1a}$  in the murine trachea and tracheal epithelium. Further experiments including immunohistochemistry could focus on the detailed characterization and localization of vasopressin receptors in the murine trachea and tracheal epithelium. While the presence of vasopressin receptors in mammalian lung tissues is generally accepted, their physiological function has not been widely examined (Tahara et al., 1998; Bernard et al., 2005). Vasopressin has been shown to regulate chloride secretion in human bronchial epithelial cells, suggesting that it can complexly regulate mucociliary clearance function not only by increasing the active outward transportation processes but also mucus formation (Bernard et al., 2005). Consistent with our results,  $V_1$  receptors also stimulated mucus production. Furthermore, even  $V_2$  receptors were highly relevant depending on the chloride concentration gradients between the mucosal and serosal sides of the epithelial cells (Bernard et al., 2005). Tamaoki et al. found that vasopressin increased the CBF of rabbit tracheal epithelium via  $\text{Ca}^{2+}$  release by thapsiargin-sensitive stores (Tamaoki et al., 1998). Since this study only measured CBF, its authors speculated that the observed effect of vasopressin might be translated into enhanced mucociliary transport, which our experiments have now confirmed (Tamaoki et al., 1998).

Our experiments have increased the knowledge about the roles of PLC and  $\text{IP}_3$  receptors in releasing intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  after vasopressin receptor stimulation in murine tracheal tissues. Interestingly, some of our findings show important differences from those of Tamaoki et al. and must be discussed (Tamaoki et al., 1998). Firstly, Tamaoki et al. found no significant difference in the rabbit CBF increase when extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  was depleted. In contrast, our experiments showed an impressive reduction in the murine PTV following the application of vasopressin in a  $\text{Ca}^{2+}$ -free buffer solution. Secondly, while the relevance of the  $V_1$  receptor pathway is unquestionable in both studies, their results differ regarding whether the  $V_{1a}$  or  $V_{1b}$  receptor is the main receptor responsible for the observed effects.

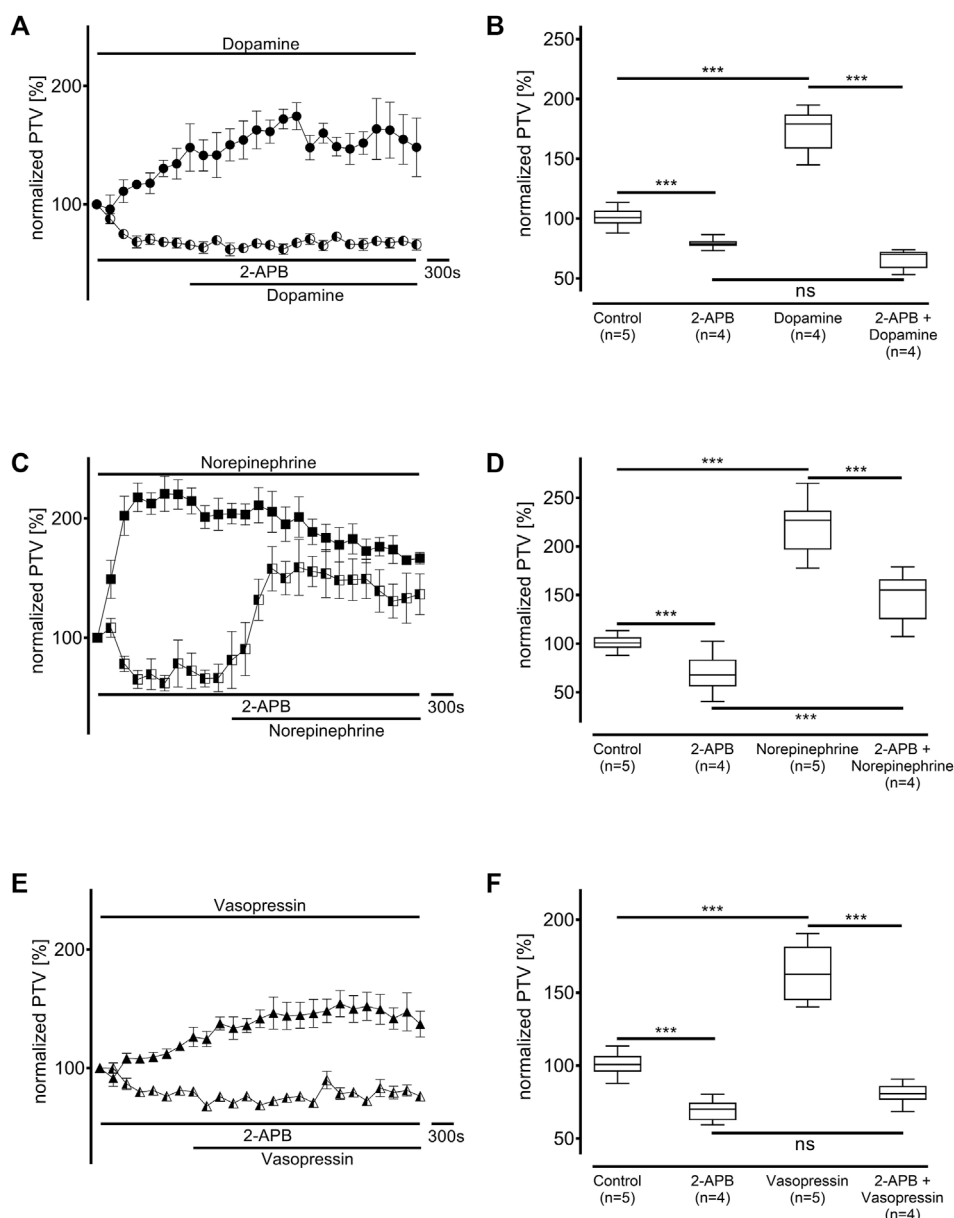


FIGURE 10

Inositol trisphosphate ( $IP_3$ ) receptor activation was pivotal to the increase in the PTV after administering dopamine and vasopressin. The  $IP_3$  receptors were selectively inhibited by 2-aminoethoxydiphenylborane (2-APB). When (A,B) dopamine or (E,F) vasopressin were applied, no increase in the PTV was observed compared to the controls. (C,D) However, the PTV significantly increased after applying norepinephrine. Control curves for the agonists alone in (A), (C), and (E) were taken from Figures 1B,D,F, respectively, for better orientation. \*\*\* $p < 0.001$ , ns: not significant. ● dopamine, ◐ dopamine + 2-APB (40  $\mu$ M), ■ norepinephrine, ◑ norepinephrine + 2-APB (40  $\mu$ M), ▲ vasopressin, △ vasopressin + 2-APB (40  $\mu$ M), ⊥ standard error of the mean, box and whisker plots indicate median, interquartile range (box), minimum and maximum (whiskers).

When the chloride secretion ability of vasopressin receptors was examined in human bronchial epithelial cell lines, vasopressin's effects were completely inhibited when both receptor subtypes were separately inhibited by highly specific inhibitors, suggesting the involvement of a  $V_1$ -like receptor (Bernard et al., 2005). However, both  $V_{1a}$  and  $V_{1b}$  receptors were detected in subsequent RT-PCR (Bernard et al., 2005). Consistent with our experiments, Tamaoki et al. demonstrated  $V_1$  receptor involvement in the rabbit CBF by its increase disappearing after applying OPC-21268, an unselective  $V_1$  receptor inhibitor (Tamaoki et al., 1998).

However, when they measured intracellular  $Ca^{2+}$  concentrations after administering selective  $V_{1a}$  or  $V_{1b}$  agonists, they increased more with the  $V_{1b}$  agonist and were not significantly reduced by the selective  $V_{1a}$  inhibitor CTM-vasopressin (Bernard et al., 2005). Whether these inconsistent results reflect differences between mammals or different tissues, such as tracheae and bronchial epithelium, should be carefully evaluated in further studies where respiratory tissues from the same location should be compared with the same inhibitory substances under comparable experimental settings.

It must also be noted that in clinical practice, vasopressin is mainly administered with norepinephrine to treat vasodilatory shocks. Our experiments examined both substances separately to elucidate their substance-specific signal transduction pathways. However, when co-administered, their additive effects on the PTV appear conclusive at the respiratory epithelium because norepinephrine and vasopressin both target highly specific receptors and ultimately lead to  $\text{Ca}^{2+}$  release from the ER via different, substance-specific mechanisms.

All three vasopressors examined in our experiments showed a significantly reduced maximum PTV when administered in a  $\text{Ca}^{2+}$ -free buffer solution. The maximum PTV was also significantly reduced with dopamine in a  $\text{Ca}^{2+}$ -free buffer solution, but the numerical decline was low, questioning the clinical relevance of that finding. The PTV amplitude markedly declined with norepinephrine and vasopressin, suggesting greater relevance. Furthermore, no increase in the PTV was observed after administering the three substances when intracellular caffeine sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  stores were depleted. Therefore, we conclude that norepinephrine, vasopressin, and, to a lesser extent, dopamine use extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  influx to ultimately affect the PTV.

Extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  influx occurs via store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry (SOCE), which is triggered by the release of  $\text{Ca}^{2+}$  from intracellular stores (Spinelli and Trebak, 2016). SOCE is modulated by different receptors and channels, such as the ORAI calcium release-activated calcium channels (Nguyen et al., 2018). The ORAI channels are activated by stromal interacting molecules located in the transmembrane area of the ER that sense decreased  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in the ER (Umemura et al., 2023). Future studies should conduct further experiments evaluating the value of SOCE in tracheal epithelial cells, which could use isolated tracheal epithelial cells with calcium fluorescence measurements. While specific inhibitory substances of SOCE should be used, specific inhibition of distinct channels is difficult in the face of multiple potential targets and complex interactions (Spinelli and Trebak, 2016). Therefore, we decided to prevent overall extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  entry using a  $\text{Ca}^{2+}$ -free buffer solution, and these results should be considered hypothesis-generating.

Our study had the following limitations that must be acknowledged. Firstly, our experiments used murine tissues. Therefore, their results should be generalized cautiously to human tissues and patients. Using murine tissues in our experiments is a generally valid approach to evaluate hypotheses that can later be proven in experiments with human tissues. However, some differences might be significant even between different mammals. For example, while the  $V_{1b}$  receptor seems to provoke the increase in the CBF in rabbit tissues, the  $V_{1a}$  receptor seems to cause these effects in murine tissues. Secondly, isolated tracheae were used in all experiments where subsequent intravenous drug administration was impossible, with the drugs administered directly into the buffer solution in which the tracheae were placed. However, the physiological integrity of the tracheae was preserved, and the epithelial barrier might have prevented drug entry from the apical side. Therefore, the concentration-response relationship might vary considerably in other tissues and clinical practice. Thirdly, the clearance function of tracheae might differ from the lower respiratory tracts, which primarily contribute to mucociliary clearance. Fourthly, the intravenous concentrations of the examined vasopressors are unknown in clinical practice and

might even have significant interindividual differences, limiting the transferability of the concentrations evaluated in our experiments. Concentrations might also vary considerably between different tissues at different time points. For example, the examined vasopressors are mainly administered intravenously via central venous lines, although norepinephrine might also be delivered by inhalation. Therefore, regional concentrations might differ appreciably, especially in the pulmonary arteries and capillaries directly after central venous infusion. Finally, the sample size of our experimental groups was limited due to animal welfare regulations, which required us to use the smallest possible sample size.

In conclusion, our experiments showed that dopamine, norepinephrine, and vasopressin induce significant changes in the murine PTV. Our results suggest that they potentially modulate mucociliary clearance when applied in patients to obtain sufficient mean arterial blood pressure. Dopamine, norepinephrine, and vasopressin all initially act via substance-specific transmembrane receptors. However, they all ultimately lead to the release of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  from the ER, which is attenuated by additional extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  influx. Further studies are needed to evaluate the clinical relevance of these findings and determine whether changes in mucociliary clearance could be proven in human tissues and patients during general anesthesia or critical illness when these vasopressors are used.

## Data availability statement

The original contributions presented in the study are publicly available. This data can be found here: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.26720041.v1>

## Ethics statement

The animal study was approved by the regional council (permit number: 851\_M, regional council of Giessen, Germany). The study was conducted in accordance with the local legislation and institutional requirements.

## Author contributions

GS: Conceptualization, Data curation, Formal Analysis, Investigation, Methodology, Project administration, Supervision, Validation, Visualization, Writing—original draft, Writing—review and editing. IG: Conceptualization, Data curation, Formal Analysis, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Visualization, Writing—review and editing. SM: Conceptualization, Data curation, Investigation, Methodology, Supervision, Writing—review and editing. MM: Data curation, Methodology, Supervision, Validation, Writing—review and editing. FE: Methodology, Investigation, Supervision, Validation, Writing—review and editing. MS: Funding acquisition, Investigation, Project administration, Resources, Supervision, Validation, Writing—review and editing. CK: Writing—review and editing, Supervision, Conceptualization, Data curation, Formal Analysis,

Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Validation. MH: Conceptualization, Data curation, Formal Analysis, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Validation, Writing–review and editing.

## Funding

The author(s) declare that no financial support was received for the research, authorship, and/or publication of this article.

## Acknowledgments

We thank Ebru Erdogan for her excellent technical assistance.

## References

- Adams, P. S., Corcoran, T. E., Lin, J. H., Weiner, D. J., Sanchez-de-Toledo, J., and Lo, C. W. (2021). Mucociliary clearance scans show infants undergoing congenital cardiac surgery have poor airway clearance function. *Front. Cardiovasc. Med.* 8, 652158. doi:10.3389/fcvm.2021.652158
- Ammar, M. A., Ammar, A. A., Wieruszewski, P. M., Bissell, B. D., Long, M., Albert, L., et al. (2022). Timing of vasoactive agents and corticosteroid initiation in septic shock. *Ann. Intensive Care* 12, 47. doi:10.1186/s13613-022-01021-9
- Aoki, Y., Nakajima, M., Sugimura, S., Suzuki, Y., Makino, H., Obata, Y., et al. (2023). Postoperative norepinephrine versus dopamine in patients undergoing noncardiac surgery: a propensity-matched analysis using a nationwide intensive care database. *Korean J. Anesthesiol.* 76 (5), 481–489. doi:10.4097/KJA.22805
- Avni, T., Lador, A., Lev, S., Leibovici, L., Paul, M., and Grossman, A. (2015). Vasopressors for the treatment of septic shock: systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 10 (8), e0129305. doi:10.1371/journal.pone.0129305
- Bassi, G. L., Zanella, A., Cressoni, M., Stylianou, M., and Kolobow, T. (2008). Following tracheal intubation, mucus flow is reversed in the semirecumbent position: possible role in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *Crit. Care Med.* 36 (2), 518–525. doi:10.1097/01.CCM.0000299741.32078.E9
- Berisha, F., Götz, K. R., Wegener, J. W., Brandenburg, S., Subramanian, H., Molina, C. E., et al. (2021). CAMP imaging at ryanodine receptors reveals  $\beta_2$ -adrenoceptor driven arrhythmias. *Circulation Res.* 129 (1), 81–94. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.318234
- Bernard, K., Bogliolo, S., and Ehrenfeld, J. (2005). Vasotocin and vasopressin stimulation of the chloride secretion in the human bronchial epithelial cell line, 16HBE14o-. *Br. J. Pharmacol.* 144 (8), 1037–1050. doi:10.1038/sj.bjp.0706103
- Betzenhauser, M. J., and Yule, D. I. (2010). “Regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors by phosphorylation and adenine nucleotides,” in *Current topics in membranes* (Academic Press), 273–298. doi:10.1016/S1063-5823(10)66012-7
- Birnbaumer, M. (2000). Vasopressin receptors. *Trends Endocrinol. Metabolism* 11 (10), 406–410. doi:10.1016/S1043-2760(00)00304-0
- Bozzi, Y., and Borrelli, E. (2013). The role of dopamine signaling in epileptogenesis. *Front. Cell. Neurosci.* 7, 157. doi:10.3389/fncel.2013.00157
- Burman, W. J., and Martin, W. J. (1986). Oxidant-mediated ciliary dysfunction. Possible role in airway disease. *Chest* 89 (3), 410–413. doi:10.1378/chest.89.3.410
- Cholak, S., Saville, J. W., Zhu, X., Berezuk, A. M., Tuttle, K. S., Haji-Ghassemi, O., et al. (2023). Allosteric modulation of ryanodine receptor RyR1 by nucleotide derivatives. *Structure* 31 (7), 790–800.e4. doi:10.1016/j.str.2023.04.009
- Delmotte, P., and Sanderson, M. J. (2006). Ciliary beat frequency is maintained at a maximal rate in the small airways of mouse lung slices. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 35 (1), 110–117. doi:10.1165/rcmb.2005-0417OC
- Deng, C., Xu, T., Wang, X.-K., and Gu, D.-F. (2023). Pressure-controlled ventilation-volume guaranteed mode improves bronchial mucus transport velocity in patients during laparoscopic surgery for gynecological oncology: a randomized controlled study. *BMC Anesthesiol.* 23 (1), 379. doi:10.1186/s12871-023-02343-2
- Douglas, N., Leslie, K., and Darvall, J. N. (2023). Vasopressors to treat postoperative hypotension after adult noncardiac, non-obstetric surgery: a systematic review. *Br. J. Anaesth.* 131 (5), 813–822. doi:10.1016/j.bja.2023.08.022
- Forbes, A. R., and Gamsu, G. (1979). Mucociliary clearance in the canine lung during and after general anesthesia. *Anesthesiology* 50 (1), 26–29. doi:10.1097/0000542-197901000-00006
- Frohock, J. I., Wijkstrom-Frei, C., and Salathe, M. (2002). Effects of albuterol enantiomers on ciliary beat frequency in ovine tracheal epithelial cells. *J. Appl. Physiology* 92 (6), 2396–2402. doi:10.1152/jappphysiol.00755.2001
- Goutelle, S., Maurin, M., Rougier, F., Barbaut, X., Bourguignon, L., Ducher, M., et al. (2008). The Hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 22, 633–648. doi:10.1111/j.1472-8206.2008.00633.x
- Hollenhorst, M. I., and Krasteva-Christ, G. (2021). Nicotinic acetylcholine receptors in the respiratory tract. *Molecules* 26 (20), 6097. doi:10.3390/molecules26206097
- Jozwiak, M. (2022). Alternatives to norepinephrine in septic shock: which agents and when? *J. Intensive Med.* 2, 223–232. doi:10.1016/j.jointm.2022.05.001
- Kamiya, Y., Fujisawa, T., Katsumata, M., Yasui, H., Suzuki, Y., Karayama, M., et al. (2020). Influenza A virus enhances ciliary activity and mucociliary clearance via TLR3 in airway epithelium. *Respir. Res.* 21 (1), 282. doi:10.1186/s12931-020-01555-1
- Kesimci, E., Bercin, S., Kutluhan, A., Ural, A., Yamanturk, B., and Kanbak, O. (2008). Volatile anesthetics and mucociliary clearance. *Minerva Anestesiol.* 74 (4), 107–111. Available at: <https://europepmc.org/article/med/18354365> (Accessed December 8, 2022).
- Kilgour, E., Rankin, N., Ryan, S., and Pack, R. (2004). Mucociliary function deteriorates in the clinical range of inspired air temperature and humidity. *Intensive Care Med.* 30 (7), 1491–1494. doi:10.1007/s00134-004-2235-3
- Kim, H., Lee, S., Koh, W. U., Cho, J., Park, S. W., Kim, K. S., et al. (2023). Norepinephrine prevents hypotension in older patients under spinal anesthesia with intravenous propofol sedation: a randomized controlled trial. *Sci. Rep.* 13 (1), 21009. doi:10.1038/s41598-023-48178-2
- Lee, R. J., and Foskett, J. K. (2014).  $Ca^{2+}$  signaling and fluid secretion by secretory cells of the airway epithelium. *Cell Calcium* 55, 325–336. doi:10.1016/j.jccca.2014.02.001
- Legendre, M., Zaragosi, L. E., and Mitchison, H. M. (2021). Motile cilia and airway disease. *Seminars Cell Dev. Biol.* 110, 19–33. doi:10.1016/j.semcdb.2020.11.007
- Montalant, A., Kieh, O., and Perrier, J. (2023). Dopamine and noradrenaline activate spinal astrocyte endfeet via D1-like receptors. *Eur. J. Neurosci.* 59, 1278–1295. doi:10.1111/ejn.16205
- Müller, S., Droll, M. C., Koch, C., Weiterer, S., Weigand, M. A., Sander, M., et al. (2021). Echinocandins accelerate particle transport velocity in the murine tracheal epithelium: dependency on intracellular  $Ca^{2+}$  stores. *Antimicrob. Agents Chemother.* 65 (11), e0066921. doi:10.1128/AAC.00669-21
- Nakade, S., Rhee, S. K., Hamanaka, H., and Mikoshiba, K. (1994). Cyclic AMP-dependent phosphorylation of an immunoprecipitated homotetrameric inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (type I) increases  $Ca^{2+}$  flux in reconstituted lipid vesicles. *J. Biol. Chem.* 269 (9), 6735–6742. doi:10.1016/s0021-9258(17)37437-9
- Nakagawa, N. K., Franchini, M. L., Driusso, P., De Oliveira, L. R., Saldiva, P. H. N., and Lorenzi-Filho, G. (2005). Mucociliary clearance is impaired in acutely ill patients. *Chest* 128 (4), 2772–2777. doi:10.1378/chest.128.4.2772
- Nguyen, N. T., Han, W., Cao, W. M., Wang, Y., Wen, S., Huang, Y., et al. (2018). Store-operated calcium entry mediated by ORAI and STIM. *Compr. Physiol.* 8 (3), 981–1002. doi:10.1002/cphy.c170031
- Oziftci, S., Sahiner, Y., and Sahiner, I. T. (2022). Effects of sugammadex and neostigmine on mucociliary clearance in general anesthesia. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 26 (12), 4289–4294. doi:10.26355/eurrev\_202206\_29067
- Perniss, A., Liu, S., Boonen, B., Keshavarz, M., Ruppert, A. L., Timm, T., et al. (2020). Chemosensory cell-derived acetylcholine drives tracheal mucociliary clearance in

## Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

- response to virulence-associated formyl peptides. *Immunity* 52 (4), 683–699. doi:10.1016/j.immuni.2020.03.005
- Ratnani, I., Ochani, R. K., Shaikh, A., and Jatoti, H. N. (2023). Vasoplegia: a review. *Methodist DeBakey Cardiovasc. J.* 19 (4), 38–47. doi:10.14797/mdcvj.1245
- Ren, Z., Mao, X., Wang, S., and Wang, X. (2023). Cilia-related diseases. *J. Cell Mol. Med.* 27, 3974–3979. doi:10.1111/jcmm.17990
- Ruiqiang, Z., Yifen, Z., Ziqi, R., Wei, H., and Xiaoyun, F. (2021). Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021, interpretation and expectation. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. doi:10.3760/cma.j.cn121430-20211009-01442
- Salathe, M. (2007). Regulation of mammalian ciliary beating. *Annu. Rev. Physiology* 69, 401–422. doi:10.1146/annurev.physiol.69.040705.141253
- Sanderson, M. J., and Dirksen, E. R. (1986). Mechanosensitivity of cultured ciliated cells from the mammalian respiratory tract: implications for the regulation of mucociliary transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83 (19), 7302–7306. doi:10.1073/pnas.83.19.7302
- Sarkar, J., Golden, P. J., Kajiura, L. N., Murata, L. A. M., and Uyehara, C. F. T. (2015). Vasopressin decreases pulmonary-to-systemic vascular resistance ratio in a porcine model of severe hemorrhagic shock. *Shock* 43 (5), 475–482. doi:10.1097/SHK.0000000000000325
- Schmidt, G., Rienas, G., Müller, S., Edinger, F., Sander, M., Koch, C., et al. (2023a). A 20:1 synergetic mixture of cafedrine/theodrenaline accelerates particle transport velocity in murine tracheal epithelium via IP3 receptor-associated calcium release. *Front. Pharmacol.* 14, 1155930. doi:10.3389/fphar.2023.1155930
- Schmidt, G., Rienas, G., Müller, S., Richter, K., Sander, M., Koch, C., et al. (2023b). A fixed 20:1 combination of cafedrine/theodrenaline increases cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration in human tracheal epithelial cells via ryanodine receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> release. *Sci. Rep.* 13 (1), 16216. doi:10.1038/s41598-023-43342-0
- Spinelli, A. M., and Trebak, M. (2016). Orai channel-mediated Ca<sup>2+</sup> signals in vascular and airway smooth muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 310 (6), C402–C413. doi:10.1152/ajpcell.00355.2015
- Sutto, Z., Conner, G. E., and Salathe, M. (2004). Regulation of human airway ciliary beat frequency by intracellular pH. *J. Physiol.* 560 (2), 519–532. doi:10.1113/jphysiol.2004.068171
- Suzuki, R., Uchino, S., Sasabuchi, Y., Kawarai Lefor, A., and Sanui, M. (2022). Dopamine use and its consequences in the intensive care unit: a cohort study utilizing the Japanese Intensive care Patient Database. *Crit. Care* 26 (1), 90. doi:10.1186/s13054-022-03960-y
- Tahara, A., Tomura, Y., Wada, K., Kusayama, T., Tsukada, J., Ishii, N., et al. (1998). Characterization of vasopressin receptor in rat lung. *Neuropeptides* 32 (3), 281–286. doi:10.1016/S0143-4179(98)90049-X
- Tamaoki, J., Kondo, M., Takeuchi, S., Takemura, H., and Nagai, A. (1998). Vasopressin stimulates ciliary motility of rabbit tracheal epithelium: role of V1b receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> mobilization. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 19 (2), 293–299. doi:10.1165/ajrcmb.19.2.3134
- Taylor, C. W. (2017). Regulation of IP3 receptors by cyclic AMP. *Cell Calcium* 63, 48–52. doi:10.1016/j.ceca.2016.10.005
- Tovey, S. C., Dedos, S. G., Rahman, T., Taylor, E. J. A., Pantazaka, E., and Taylor, C. W. (2010). Regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors by cAMP independent of cAMP-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* 285 (17), 12979–12989. doi:10.1074/jbc.M109.096016
- Tovey, S. C., Dedos, S. G., Taylor, E. J. A., Church, J. E., and Taylor, C. W. (2008). Selective coupling of type 6 adenylyl cyclase with type 2 IP3 receptors mediates direct sensitization of IP3 receptors by cAMP. *J. Cell Biol.* 183 (2), 297–311. doi:10.1083/jcb.200803172
- Umamura, M., Nakakaji, R., and Ishikawa, Y. (2023). Physiological functions of calcium signaling via Orai1 in cancer. *J. Physiol. Sci.* 73 (1), 21. doi:10.1186/s12576-023-00878-0
- Weiterer, S., Kohlen, T., Veit, F., Sachs, L., Uhle, F., Lichtenstern, C., et al. (2015). Galactomannan and zymosan block the epinephrine-induced particle transport in tracheal epithelium. *PLoS One* 10 (11), e0143163. doi:10.1371/journal.pone.0143163
- Weiterer, S., Schulte, D., Müller, S., Kohlen, T., Uhle, F., Weigand, M. A., et al. (2014). Tumor necrosis factor alpha induces a serotonin dependent early increase in ciliary beat frequency and epithelial transport velocity in murine tracheae. *PLoS One* 9 (3), e91705–e91710. doi:10.1371/journal.pone.0091705
- Whitsett, J. A. (2018). Airway epithelial differentiation and mucociliary clearance. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 15, S143–S148. doi:10.1513/AnnalsATS.201802-128AW
- Wyatt, T. A. (2015). Cyclic GMP and cilia motility. *Cells* 4, 315–330. doi:10.3390/cells4030315
- Zhou, P., Zhao, Y. T., Guo, Y. B., Xu, S. M., Bai, S. H., Lakatta, E. G., et al. (2009). Beta-adrenergic signaling accelerates and synchronizes cardiac ryanodine receptor response to a single L-type Ca<sup>2+</sup> channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106 (42), 18028–18033. doi:10.1073/pnas.0906560106

## 7. Literaturverzeichnis

1. Statistisches Bundesamt. Vollstationär behandelte Patientinnen und Patienten in Krankenhäusern 2023. (Destatis). 2024
2. Halvorsen S, Mehilli J, Cassese S, Hall TS, Abdelhamid M, Barbato E, et al. 2022 ESC Guidelines on cardiovascular assessment and management of patients undergoing non-cardiac surgery. *Eur Heart J*. 2022; doi:10.1093/eurheartj/ehac270
3. Pearse RM, Moreno RP, Bauer P, Pelosi P, Metnitz P, Spies C, et al. Mortality after surgery in Europe: a 7 day cohort study. *Lancet*. 2012;380:1059–65. doi:10.1016/S0140-6736(12)61148-9
4. Sazgary L, Puelacher C, Lurati Buse G, Glarner N, Lampart A, Bolliger D, et al. Incidence of major adverse cardiac events following non-cardiac surgery. *Eur Hear J Acute Cardiovasc Care*. 2021;10:550–8. doi:10.1093/ehjacc/zuaa008
5. Chughtai M, Gwam CU, Mohamed N, Khlopas A, Newman JM, Khan R, et al. The Epidemiology and Risk Factors for Postoperative Pneumonia. *J Clin Med Res*. 2017;9:466–75. doi:10.14740/jocmr3002w
6. De Hert S, Staender S, Fritsch G, Hinkelbein J, Afshari A, Bettelli G, et al. Pre-operative evaluation of adults undergoing elective noncardiac surgery: Updated guideline from the European Society of Anaesthesiology. *Eur J Anaesthesiol*. 2018;35:407–65. doi:10.1097/EJA.0000000000000817
7. Zöllner C, Böhmer A, Geldner G, Karst J, Obertacke U, Pauschinger M, et al. Präoperative Evaluation erwachsener Patientinnen und Patienten vor elektiven, nicht herz-thorax-chirurgischen Eingriffen. Eine gemeinsame Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Chirurg. *Anästh Intensivmed*. 2024. p. 240–70. doi:10.19224/ai2024.240
8. Devereaux PJ, Biccari BM, Sigamani A, Xavier D, Chan MTV, Srinathan SK, et al. Association of postoperative high-sensitivity troponin levels with myocardial injury and 30-day mortality among patients undergoing noncardiac surgery. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2017;317:1642–51. doi:10.1001/jama.2017.4360
9. Andersson C, Gislason GH, Hlatky MA, Søndergaard KB, Pallisgaard J, Smith JG, et al. A risk score for predicting 30-day mortality in heart failure patients undergoing non-cardiac surgery. *Eur J Heart Fail*. 2014;16:1310–6. doi:10.1002/ejhf.182
10. Dakik HA, Chehab O, Eldirani M, Sbeity E, Karam C, Abou Hassan O, et al. A New Index for Pre-Operative Cardiovascular Evaluation. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73:3067–78. doi:10.1016/J.JACC.2019.04.023
11. Lee TH, Marcantonio ER, Mangione CM, Thomas EJ, Polanczyk CA, Cook EF, et al. Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery. *Circulation*. 1999;100:1043–9. doi:10.1161/01.CIR.100.10.1043

12. Bilimoria KY, Liu Y, Paruch JL, Zhou L, Kmieciak TE, Ko CY, et al. Development and evaluation of the universal ACS NSQIP surgical risk calculator: A decision aid and informed consent tool for patients and surgeons. *J Am Coll Surg.* 2013;217. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2013.07.385
13. Dakik HA, Chehab O, Eldirani M, Sbeity E, Karam C, Abou Hassan O, et al. Aub-has2 cardiovascular risk index: Performance in surgical subpopulations and comparison to the revised cardiac risk index. *J Am Coll Cardiol.* 2019;73:3067–78. doi:10.1161/JAHA.119.016228
14. Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ, Barbato E, Berry C, Chieffo A, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2023;44:3720–826. doi:10.1093/eurheartj/ehad191
15. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2021;42:3599–726. doi:10.1093/eurheartj/ehab368
16. Chatterjee S, Kim J, Dahhan A, Choudhary G, Sharma S, Wu WC. Use of high-sensitivity troponin assays predicts mortality in patients with normal conventional troponin assays on admission - Insights from a meta-analysis. *Clin Cardiol.* 2013;36:649–53. doi:10.1002/clc.22196
17. Mueller C, McDonald K, de Boer RA, Maisel A, Cleland JGF, Kozhuharov N, et al. Heart Failure Association of the European Society of Cardiology practical guidance on the use of natriuretic peptide concentrations. *Eur J Heart Fail.* 2019;21:715–31. doi:10.1002/ejhf.1494
18. Neumann JT, Twerenbold R, Weimann J, Ballantyne CM, Benjamin EJ, Costanzo S, et al. Prognostic Value of Cardiovascular Biomarkers in the Population. *Jama.* 2024;1–12. doi:10.1001/jama.2024.5596
19. Vernooij LM, van Klei WA, Moons KGM, Takada T, van Waes J, Damen JAAG. The comparative and added prognostic value of biomarkers to the Revised Cardiac Risk Index for preoperative prediction of major adverse cardiac events and all-cause mortality in patients who undergo noncardiac surgery. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2021. doi:10.1002/14651858.CD013139.pub2
20. Weber M, Luchner A, Manfred S, Mueller C, Liebetrau C, Schlitt A, et al. Incremental value of high-sensitive troponin T in addition to the revised cardiac index for peri-operative risk stratification in non-cardiac surgery. *Eur Heart J.* 2013;34:853–62. doi:10.1093/eurheartj/ehs445
21. Botto F, Alonso-Coello P, Chan MTV, Villar JC, Xavier D, Srinathan SK, et al. Myocardial Injury after Noncardiac Surgery A Large, International, Prospective Cohort Study Establishing Diagnostic Criteria, Characteristics, Predictors, and 30-day Outcomes. *Anesthesiology.* 2014;120:564–78. doi:10.1097/ALN.000000000000113

22. Gualandro DM, Puelacher C, Lurati Buse G, Glarner N, Cardozo FA, Vogt R, et al. Incidence and outcomes of perioperative myocardial infarction/injury diagnosed by high-sensitivity cardiac troponin I. *Clin Res Cardiol*. 2021;110:1450–63. doi:10.1007/s00392-021-01827-w
23. Puelacher C, Buse GL, Seeberger D, Szgary L, Marbot S, Lampart A, et al. Perioperative myocardial injury after noncardiac surgery incidence, mortality, and characterization. *Circulation*. 2018;137:1221–32. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030114
24. Puelacher C, Gualandro DM, Glarner N, Lurati Buse G, Lampart A, Bolliger D, et al. Long-Term outcomes of perioperative myocardial infarction/injury after non-cardiac surgery. *Eur Heart J*. 2023;44:1690–701. doi:10.1093/eurheartj/ehac798
25. Devereaux PJ, Ducepe E, Guyatt G, Tandon V, Rodseth R, Biccard BM, et al. Dabigatran in patients with myocardial injury after non-cardiac surgery (MANAGE): an international, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2018;391:2325–34. doi:10.1016/S0140-6736(18)30832-8
26. Lurati Buse G, Bollen Pinto B, Abelha F, Abbott TEF, Ackland G, Afshari A, et al. ESAIC focused guideline for the use of cardiac biomarkers in perioperative risk evaluation. *Eur. J. Anaesthesiol*. 2023. doi:10.1097/EJA.0000000000001865
27. Hammill BG, Curtis LH, Bennett-Guerrero E, O'Connor CM, Jollis JG, Schulman KA, et al. Impact of heart failure on patients undergoing major noncardiac surgery. *Anesthesiology*. 2008;108:559–67. doi:10.1097/ALN.0b013e31816725ef
28. Van Diepen S, Bakal JA, McAlister FA, Ezekowitz JA. Mortality and readmission of patients with heart failure, atrial fibrillation, or coronary artery disease undergoing noncardiac surgery: An analysis of 38 047 patients. *Circulation*. 2011;124:289–96. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.011130
29. Daniels LB, Maisel AS. Natriuretic Peptides. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2007. p. 2357–68. doi:10.1016/j.jacc.2007.09.021
30. Ducepe E, Patel A, Chan MTV, Berwanger O, Ackland G, Kavsak PA, et al. Preoperative n-terminal pro-b-type natriuretic peptide and cardiovascular events after noncardiac surgery: A cohort study. *Ann Intern Med*. 2020;172:96–104. doi:10.7326/M19-2501
31. Zhao B, Lei S, Zhuang P, Yang X, Feng W, Qiu S, et al. Preoperative N -Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide and High-Sensitivity Cardiac Troponin T and Outcomes After Major Noncardiac Surgery: A Prospective Cohort Study. *Anesthesiology*. 2024; doi:10.1097/aln.0000000000005073
32. Gualandro DM, Puelacher C, Chew MS, Andersson H, Lurati Buse G, Glarner N, et al. Acute heart failure after non-cardiac surgery: incidence, phenotypes, determinants and

outcomes. *Eur J Heart Fail.* 2023;25:347–57. doi:10.1002/ejhf.2773

33. Heidenreich PA, Bozkurt B, Aguilar D, Allen LA, Byun JJ, Colvin MM, et al. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2022;79:e263–421. doi:10.1016/j.jacc.2021.12.012

34. Wijeyesundera DN, Beattie WS, Karkouti K, Neuman MD, Austin PC, Laupacis A. Association of echocardiography before major elective non-cardiac surgery with postoperative survival and length of hospital stay: Population based cohort study. *BMJ.* 2011;343. doi:10.1136/bmj.d3695

35. Wijeyesundera DN, Beattie WS, Karkouti K, Neuman MD, Austin PC, Laupacis A. Association of echocardiography before major elective non-cardiac surgery with postoperative survival and length of hospital stay: Population based cohort study. *BMJ.* 2011;343. doi:10.1136/bmj.d3695

36. Kouz K, Brockmann L, Timmermann LM, Bergholz A, Flick M, Maheshwari K, et al. Endotypes of intraoperative hypotension during major abdominal surgery: a retrospective machine learning analysis of an observational cohort study. *Br J Anaesth.* 2023;130:253–61. doi:10.1016/j.bja.2022.07.056

37. Kouz K, Thiele R, Michard F, Saugel B. Haemodynamic monitoring during noncardiac surgery: past, present, and future. *J Clin Monit Comput.* 2024;38:565–80. doi:10.1007/s10877-024-01161-2

38. DGAI. Mindestanforderungen an den anästhesiologischen Arbeitsplatz. *Anästh Intensivmed.* 2013;54:39–42.

39. Salmasi V, Maheshwari K, Yang D, Mascha EJ, Singh A, Sessler DI, et al. Relationship between Intraoperative Hypotension, Defined by Either Reduction from Baseline or Absolute Thresholds, and Acute Kidney and Myocardial Injury after Noncardiac Surgery. *Anesthesiology.* 2017;126:47–65. doi:10.1097/ALN.0000000000001432

40. Wachtendorf LJ, Azimaraghi O, Santer P, Linhardt FC, Blank M, Suleiman A, et al. Association Between Intraoperative Arterial Hypotension and Postoperative Delirium After Noncardiac Surgery: A Retrospective Multicenter Cohort Study. *Anesth Analg.* 2022;134:822–33. doi:10.1213/ANE.0000000000005739

41. Saugel B, Annecke T, Bein B, Flick M, Goepfert M, Gruenewald M, et al. Intraoperative haemodynamic monitoring and management of adults having non-cardiac surgery: Guidelines of the German Society of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine in collaboration with the German Association of the Scientific Medical Societies. *J. Clin. Monit. Comput.* 2024. doi:10.1007/s10877-024-01132-7

42. Pinsky MR, Cecconi M, Chew MS, De Backer D, Douglas I, Edwards M, et al. Effective hemodynamic monitoring. *Crit. Care.* 2022. doi:10.1186/s13054-022-04173-z

43. Saugel B, Hoppe P, Nicklas JY, Kouz K, Körner A, Hempel JC, et al. Continuous noninvasive pulse wave analysis using finger cuff technologies for arterial blood pressure and cardiac output monitoring in perioperative and intensive care medicine: a systematic review and meta-analysis. *Br. J. Anaesth.* 2020. p. 25–37. doi:10.1016/j.bja.2020.03.013
44. Alvarado Sánchez JI, Caicedo Ruiz JD, Diaztagle Fernández JJ, Amaya Zuñiga WF, Ospina-Tascón GA, Cruz Martínez LE. Predictors of fluid responsiveness in critically ill patients mechanically ventilated at low tidal volumes: systematic review and meta-analysis. *Ann. Intensive Care.* 2021. doi:10.1186/s13613-021-00817-5
45. Voldby AW, Aaen AA, Loprete R, Eskandarani HA, Boolsen AW, Jønck S, et al. Perioperative fluid administration and complications in emergency gastrointestinal surgery—an observational study. *Perioper Med.* 2022;11. doi:10.1186/s13741-021-00235-y
46. Messmer AS, Zingg C, Müller M, Gerber JL, Schefold JC, Pfortmueller CA. Fluid Overload and Mortality in Adult Critical Care Patients-A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Crit Care Med.* 2020;48:1862–70. doi:10.1097/CCM.0000000000004617
47. Buchholz V, Hazard R, Yin Z, Tran N, Yip SWS, Le P, et al. The impact of intraoperative and postoperative fluid balance on complications for transthoracic esophagectomy: a retrospective analysis. *BMC Res Notes.* 2023;16. doi:10.1186/s13104-023-06574-x
48. Odor PM, Bampoe S, Gilhooly D, Creagh-Brown B, Ramani Moonesinghe S. Perioperative interventions for prevention of postoperative pulmonary complications: Systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2020. doi:10.1136/bmj.m540
49. Jessen MK, Vallentin MF, Holmberg MJ, Bolther M, Hansen FB, Holst JM, et al. Goal-directed haemodynamic therapy during general anaesthesia for noncardiac surgery: a systematic review and meta-analysis. *Br. J. Anaesth.* 2022. p. 416–33. doi:10.1016/j.bja.2021.10.046
50. Calvo-Vecino JM, Ripollés-Melchor J, Mythen MG, Casans-Francés R, Balik A, Artacho JP, et al. Effect of goal-directed haemodynamic therapy on postoperative complications in low–moderate risk surgical patients: a multicentre randomised controlled trial (FEDORA trial). *Br J Anaesth.* 2018;120:734–44. doi:10.1016/j.bja.2017.12.018
51. Fujishima S, Tsujimoto H, Nagata K, Sugasawa H, Nomura S, Ito N, et al. Postoperative pneumonia causes the loss of skeletal muscle volume and poor prognosis in patients undergoing esophagectomy for esophageal cancer. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2021;69:84–90. doi:10.1007/s11748-020-01482-4
52. Chughtai M, Gwam CU, Mohamed N, Khlopas A, Newman JM, Khan R, et al. The Epidemiology and Risk Factors for Postoperative Pneumonia. *J Clin Med Res.* 2017;9:466–75. doi:10.14740/jocmr3002w
53. Pearse R, Ranieri M, Abbott T, Pakats ML, Piervincenzi E, Patel A, et al. Postoperative

- continuous positive airway pressure to prevent pneumonia, re-intubation, and death after major abdominal surgery (PRISM): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2021;9:1221–30. doi:10.1016/S2213-2600(21)00089-8
54. Munkholm M, Mortensen J. Mucociliary clearance: Pathophysiological aspects. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2014;34:171–7. doi:10.1111/cpf.12085
55. Delmotte P, Sanderson MJ. Ciliary beat frequency is maintained at a maximal rate in the small airways of mouse lung slices. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006;35:110–7. doi:10.1165/rcmb.2005-0417OC
56. Legendre M, Zaragosi LE, Mitchison HM. Motile cilia and airway disease. *Semin Cell Dev Biol.* 2021;110:19–33. doi:10.1016/j.semcdb.2020.11.007
57. Zagoory O, Braiman A, Priel Z. The mechanism of ciliary stimulation by acetylcholine: Roles of calcium, PKA, and PKG. *J Gen Physiol.* 2002;119:329–39. doi:10.1085/jgp.20028519
58. Wyatt TA. Cyclic GMP and cilia motility. *Cells.* 2015. p. 315–30. doi:10.3390/cells4030315
59. Salathe M. Regulation of mammalian ciliary beating. *Annu Rev Physiol.* 2007;69:401–22. doi:10.1146/annurev.physiol.69.040705.141253
60. Kilgour E, Rankin N, Ryan S, Pack R. Mucociliary function deteriorates in the clinical range of inspired air temperature and humidity. *Intensive Care Med.* 2004;30:1491–4. doi:10.1007/s00134-004-2235-3
61. Sanderson MJ, Dirksen ER. Mechanosensitivity of cultured ciliated cells from the mammalian respiratory tract: Implications for the regulation of mucociliary transport. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83:7302–6. doi:10.1073/pnas.83.19.7302
62. König P, Krain B, Krasteva G, Kummer W. Serotonin Increases Cilia-Driven Particle Transport via an Acetylcholine-Independent Pathway in the Mouse Trachea. *PLoS One.* 2009;4. doi:10.1371/journal.pone.0004938
63. Sakamoto O, Iwama A, Amitani R, Takehara T, Yamaguchi N, Yamamoto T, et al. Role of macrophage-stimulating protein and its receptor, RON tyrosine kinase, in ciliary motility. *J Clin Invest.* 1997;99:701–9. doi:10.1172/JCI119214
64. Horani A, Ferkol TW. Understanding Primary Ciliary Dyskinesia and Other Ciliopathies. *J Pediatr.* 2021;230:15-22.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2020.11.040
65. Nakagawa NK, Franchini ML, Driusso P, De Oliveira LR, Saldiva PHN, Lorenzi-Filho G. Mucociliary clearance is impaired in acutely ill patients. *Chest.* 2005;128:2772–7. doi:10.1378/chest.128.4.2772
66. Bassi GL, Zanella A, Cressoni M, Stylianou M, Kolobow T. Following tracheal intubation, mucus flow is reversed in the semirecumbent position: Possible role in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med.* 2008;36:518–25.

doi:10.1097/01.CCM.0000299741.32078.E9

67. Burman WJ, Martin WJ. Oxidant-mediated ciliary dysfunction. Possible role in airway disease. *Chest*. 1986;89:410–3. doi:10.1378/chest.89.3.410
68. Weiterer S, Kohlen T, Veit F, Sachs L, Uhle F, Lichtenstern C, et al. Galactomannan and zymosan block the epinephrine-induced particle transport in tracheal epithelium. *PLoS One*. 2015;10:e0143163. doi:10.1371/journal.pone.0143163
69. Forbes AR, Gamsu G. Mucociliary clearance in the canine lung during and after general anesthesia. *Anesthesiology*. 1979;50:26–9. doi:10.1097/00000542-197901000-00006
70. Ozciftci S, Sahiner Y, Sahiner IT. Effects of sugammadex and neostigmine on mucociliary clearance in general anesthesia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2022;26:4289–94. doi:10.26355/eurev\_202206\_29067
71. Kesimci E, Bercin S, Kutluhan A, Ural A, Yamanturk B, Kanbak O. Volatile anesthetics and mucociliary clearance. *Minerva Anesthesiol*. 2008;74:107–11.
72. Weiterer S, Schulte D, Müller S, Kohlen T, Uhle F, Weigand MA, et al. Tumor necrosis factor alpha induces a serotonin dependent early increase in ciliary beat frequency and epithelial transport velocity in murine tracheae. *PLoS One*. 2014;9:1–10. doi:10.1371/journal.pone.0091705
73. Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron - Clin. Pract*. 2012. doi:10.1159/000339789
74. Jammer I, Wickboldt N, Sander M, Smith A, Schultz MJ, Pelosi P, et al. Standards for definitions and use of outcome measures for clinical effectiveness research in perioperative medicine: European Perioperative Clinical Outcome (EPCO) definitions: A statement from the ESA-ESICM joint taskforce on perioperative outcome measur. *Eur. J. Anaesthesiol*. 2015. p. 88–105. doi:10.1097/EJA.000000000000118
75. Hernandez AF, Whellan DJ, Stroud S, Sun JL, O'Connor CM, Jollis JG. Outcomes in heart failure patients after major noncardiac surgery. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:1446–53. doi:10.1016/j.jacc.2004.06.059
76. Hariharaputhiran S, Peng Y, Ngo L, Ali A, Hossain S, Visvanathan R, et al. Long-term survival and life expectancy following an acute heart failure hospitalization in Australia and New Zealand. *Eur J Heart Fail*. 2022;24:1519–28. doi:10.1002/ejhf.2595
77. Gameiro J, Fonseca JA, Neves M, Jorge S, Lopes JA. Acute kidney injury in major abdominal surgery: Incidence, risk factors, pathogenesis and outcomes. *Ann. Intensive Care*. 2018. p. 1–10. doi:10.1186/s13613-018-0369-7
78. Hobson C, Ozrazgat-Baslanti T, Kuxhausen A, Thottakkara P, Efron PA, Moore FA, et al. Cost and mortality associated with postoperative acute kidney injury. *Ann Surg*. 2015;261:1207–14. doi:10.1097/SLA.0000000000000732
79. Bihorac A, Yavas S, Subbiah S, Hobson CE, Schold JD, Gabrielli A, et al. Long-term risk

- of mortality and acute kidney injury during hospitalization after major surgery. *Ann Surg.* 2009;249:851–8. doi:10.1097/SLA.0b013e3181a40a0b
80. Wan YI, Patel A, Abbott TEF, Achary C, MacDonald N, Duceppe E, et al. Prospective observational study of postoperative infection and outcomes after noncardiac surgery: analysis of prospective data from the VISION cohort. *Br J Anaesth.* 2020;125:87–97. doi:10.1016/j.bja.2020.03.027
81. Wan YI, Patel A, Achary C, Hewson R, Phull M, Pearse RM. Postoperative infection and mortality following elective surgery in the International Surgical Outcomes Study (ISOS). *Br J Surg.* 2021;108:220–7. doi:10.1093/bjs/znaa075
82. Kondo T, Campbell R, Jhund PS, Anand IS, Carson PE, Lam CSP, et al. Low Natriuretic Peptide Levels and Outcomes in Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction. *JACC Hear Fail.* 2024;12:1442–55. doi:10.1016/j.jchf.2024.04.027
83. Verbrugge FH, Omote K, Reddy YNV, Sorimachi H, Obokata M, Borlaug BA. Heart failure with preserved ejection fraction in patients with normal natriuretic peptide levels is associated with increased morbidity and mortality. *Eur Heart J.* 2022;43:1941–51. doi:10.1093/eurheartj/ehab911
84. Mancini D, Gibson GT. Impact of Pneumonia in Heart Failure Patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2021. p. 1974–6. doi:10.1016/j.jacc.2021.03.010
85. Jackson ML, Neuzil KM, Thompson WW, Shay DK, Yu O, Hanson CA, et al. The burden of community-acquired pneumonia in seniors: Results of a population-based study. *Clin Infect Dis.* 2004;39:1642–50. doi:10.1086/425615
86. Nassiry AM, Hogan CJ, Ward KR, Hess M. 23: Microcirculation is Significantly Altered in Heart Failure Patients Who Later Develop Decompensated Disease. *Ann Emerg Med.* 2008;52:S48–9. doi:10.1016/j.annemergmed.2008.06.088
87. Mathis MR, Naik BI, Freundlich RE, Shanks AM, Heung M, Kim M, et al. Preoperative Risk and the Association between Hypotension and Postoperative Acute Kidney Injury. *Anesthesiology.* 2020;132:461–75. doi:10.1097/ALN.0000000000003063
88. Rangaswami J, Bhalla V, Blair JEA, Chang TI, Costa S, Lentine KL, et al. Cardiorenal Syndrome: Classification, Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment Strategies: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2019;139:E840–78. doi:10.1161/CIR.0000000000000664
89. Banerjee D, Ali MA, Wang AY-M, Jha V. Acute kidney injury in acute heart failure—when to worry and when not to worry? *Nephrol Dial Transplant.* 2024; doi:10.1093/ndt/gfae146
90. Saugel B, Sander M, Katzer C, Hahn C, Koch C, Leicht D, et al. Association of intraoperative hypotension and cumulative norepinephrine dose with postoperative acute kidney injury in patients having noncardiac surgery: a retrospective cohort analysis. *Br J Anaesth.* 2024;0. doi:10.1016/j.bja.2024.11.005

91. Kopec M, Duma A, Helwani MA, Brown J, Brown F, Gage BF, et al. Improving prediction of postoperative myocardial infarction with high-sensitivity cardiac troponin T and NT-proBNP. *Anesth Analg*. 2017. p. 398–405. doi:10.1213/ANE.0000000000001736
92. Andersson C, Gislason GH, Hlatky MA, Søndergaard KB, Pallisgaard J, Smith JG, et al. A risk score for predicting 30-day mortality in heart failure patients undergoing non-cardiac surgery. *Eur J Heart Fail*. 2014;16:1310–6. doi:10.1002/ejhf.182
93. Msheik A, Kaspar C, Mailhac A, Hoballah JJ, Tamim H, Dakik HA. Performance of the AUB-HAS2 Cardiovascular Risk Index in vascular surgery patients. *Vasc Med (United Kingdom)*. 2021;26:535–41. doi:10.1177/1358863X21996806
94. Katayama HT, Gomes BC, Lobo SMA, Chaves RC de F, Corrêa TD, Assunção MSC, et al. The effects of acute kidney injury in a multicenter cohort of high-risk surgical patients. *Ren Fail*. 2021;43:1338–48. doi:10.1080/0886022X.2021.1977318
95. Rodseth RN, Lurati Buse GA, Bolliger D, Burkhart CS, Cuthbertson BH, Gibson SC, et al. The predictive ability of pre-operative B-type natriuretic peptide in vascular patients for major adverse cardiac events: An individual patient data meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58:522–9. doi:10.1016/j.jacc.2011.04.018
96. Goei D, Hoeks SE, Boersma E, Winkel TA, Dunkelgrun M, Flu WJ, et al. Incremental value of high-sensitivity C-reactive protein and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide for the prediction of postoperative cardiac events in noncardiac vascular surgery patients. *Coron Artery Dis*. 2009;20:219–24. doi:10.1097/MCA.0b013e3283219e47
97. Malbrain MLNG, Langer T, Annane D, Gattinoni L, Elbers P, Hahn RG, et al. Intravenous fluid therapy in the perioperative and critical care setting: Executive summary of the International Fluid Academy (IFA). *Ann Intensive Care*. 2020;10:64. doi:10.1186/s13613-020-00679-3
98. Messina A, Pelaia C, Bruni A, Garofalo E, Bonicolini E, Longhini F, et al. Fluid challenge during anesthesia: A systematic review and meta-analysis. *Anesth Analg*. 2018;127:1353–64. doi:10.1213/ANE.0000000000003834
99. Schneck E, Schulte D, Habig L, Ruhrmann S, Edinger F, Markmann M, et al. Hypotension Prediction Index based protocolized haemodynamic management reduces the incidence and duration of intraoperative hypotension in primary total hip arthroplasty: a single centre feasibility randomised blinded prospective interventional trial. *J Clin Monit Comput*. 2019; doi:10.1007/s10877-019-00433-6
100. Funcke S, Saugel B, Koch C, Schulte D, Zajonz T, Sander M, et al. Individualized, perioperative, hemodynamic goal-directed therapy in major abdominal surgery (iPEGASUS trial): Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2018;19. doi:10.1186/s13063-018-2620-9
101. Scheeren TWL, Wiesenack C, Gerlach H, Marx G. Goal-directed intraoperative fluid

therapy guided by stroke volume and its variation in high-risk surgical patients: A prospective randomized multicentre study. *J Clin Monit Comput.* 2013;27:225–33. doi:10.1007/s10877-013-9461-6

102. Cecconi M, Parsons AK, Rhodes A. What is a fluid challenge? *Curr Opin Crit Care.* 2011;17:290–5. doi:10.1097/MCC.0b013e32834699cd

103. Prather JW, Taylor AE, Guyton AC. Effect of blood volume, mean circulatory pressure, and stress relaxation on cardiac output. *Am J Physiol.* 1969;216:467–72. doi:10.1152/ajplegacy.1969.216.3.467

104. Aya HD, Ster IC, Fletcher N, Grounds RM, Rhodes A, Cecconi M. Pharmacodynamic analysis of a fluid challenge. *Crit Care Med.* 2016;44:880–91. doi:10.1097/CCM.0000000000001517

105. Jacob M, Chappell D, Hofmann-Kiefer K, Helfen T, Schuelke A, Jacob B, et al. The intravascular volume effect of Ringer’s lactate is below 20%: A prospective study in humans. *Crit Care.* 2012;16. doi:10.1186/cc11344

106. Messina A, Robba C, Calabrò L, Zambelli D, Iannuzzi F, Molinari E, et al. Perioperative liberal versus restrictive fluid strategies and postoperative outcomes: a systematic review and meta-analysis on randomised-controlled trials in major abdominal elective surgery. *Crit Care.* 2021;25. doi:10.1186/s13054-021-03629-y

107. Thacker JKM, Mountford WK, Ernst FR, Krukas MR, Mythen MG. Perioperative fluid utilization variability and association with outcomes: Considerations for enhanced recovery efforts in sample US surgical populations. *Ann Surg.* 2016;263:502–10. doi:10.1097/SLA.0000000000001402

108. Trof RJ, Sukul SP, Twisk JWR, Girbes ARJ, Groeneveld ABJ. Greater cardiac response of colloid than saline fluid loading in septic and non-septic critically ill patients with clinical hypovolaemia. *Intensive Care Med.* 2010;36:697–701. doi:10.1007/s00134-010-1776-x

109. Schneck E, Sander M, Saugel B, Reuter DA, Habicher M. Comments on the updated German S3 guidelines on intravascular volume therapy in adults. *Anaesthesist.* 2021. p. 413–9. doi:10.1007/s00101-021-00929-4

110. Noonpradej S, Akaraborworn O. Intravenous Fluid of Choice in Major Abdominal Surgery: A Systematic Review. *Crit. Care Res. Pract.* 2020. doi:10.1155/2020/2170828

111. Boer C, Bossers SM, Koning NJ. Choice of fluid type: physiological concepts and perioperative indications. *Br J Anaesth.* 2018;120:384–96. doi:10.1016/j.bja.2017.10.022

112. Ertmer C, Rehberg S, Van Aken H, Westphal M. Relevance of non-albumin colloids in intensive care medicine. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 2009. p. 193–212. doi:10.1016/j.bpa.2008.11.001

113. Annane D, Siami S, Jaber S, Martin C, Elatrous S, Declère AD, et al. Effects of fluid resuscitation with colloids vs crystalloids on mortality in critically ill patients presenting with

- hypovolemic shock - The CRISTAL randomized trial. *JAMA*. 2013;310:1809–17. doi:10.1001/jama.2013.280502
114. Lewis SR, Pritchard MW, Evans DJW, Butler AR, Alderson P, Smith AF, et al. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill people. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2018. doi:10.1002/14651858.CD000567.pub7
115. Malbrain MLNG, Langer T, Annane D, Gattinoni L, Elbers P, Hahn RG, et al. Intravenous fluid therapy in the perioperative and critical care setting: Executive summary of the International Fluid Academy (IFA). *Ann. Intensive Care*. 2020. p. 64. doi:10.1186/s13613-020-00679-3
116. Som A, Maitra S, Bhattacharjee S, Baidya DK. Goal directed fluid therapy decreases postoperative morbidity but not mortality in major non-cardiac surgery: a meta-analysis and trial sequential analysis of randomized controlled trials. *J Anesth*. 2017;31:66–81. doi:10.1007/s00540-016-2261-7
117. Chong MA, Wang Y, Berbenetz NM, McConachie I. Does goal-directed haemodynamic and fluid therapy improve peri-operative outcomes? *Eur. J. Anaesthesiol*. 2018. p. 469–83. doi:10.1097/EJA.0000000000000778
118. Giglio M, Dalfino L, Puntillo F, Brienza N. Hemodynamic goal-directed therapy and postoperative kidney injury: An updated meta-analysis with trial sequential analysis. *Crit Care*. 2019;23. doi:10.1186/s13054-019-2516-4
119. Waxman K. Hemodynamic and Metabolic Changes During and Following Operation. *Crit Care Clin*. 1987;3:241–50. doi:10.1016/S0749-0704(18)30544-X
120. Guyton AC. Regulation of cardiac output. *Anesthesiology*. 1968;29:314–26. doi:10.1097/00000542-196803000-00016
121. Saugel B, Bebert EJ, Briesenick L, Hoppe P, Greiwe G, Yang D, et al. Mechanisms contributing to hypotension after anesthetic induction with sufentanil, propofol, and rocuronium: a prospective observational study. *J Clin Monit Comput*. 2022;36:341–7. doi:10.1007/s10877-021-00653-9
122. Van Klei WA, Van Waes JAR, Pasma W, Kappen TH, Van Wolfswinkel L, Peelen LM, et al. Relationship between preoperative evaluation blood pressure and preinduction blood pressure: A cohort study in patients undergoing general anesthesia. *Anesth Analg*. 2017. p. 431–7. doi:10.1213/ANE.0000000000001665
123. Nicklas JY, Diener O, Leistenschneider M, Sellhorn C, Schön G, Winkler M, et al. Personalised haemodynamic management targeting baseline cardiac index in high-risk patients undergoing major abdominal surgery: a randomised single-centre clinical trial. *Br J Anaesth*. 2020;125:122–32. doi:10.1016/j.bja.2020.04.094
124. de Waal EEC, Frank M, Scheeren TWL, Kaufmann T, de Korte DJD, Cox B, et al. Perioperative goal-directed therapy in high-risk abdominal surgery. A multicenter randomized

- controlled superiority trial. *J Clin Anesth.* 2021;75. doi:10.1016/j.jclinane.2021.110506
125. Bergholz A, Meidert AS, Flick M, Krause L, Vettorazzi E, Zapf A, et al. Effect of personalized perioperative blood pressure management on postoperative complications and mortality in high-risk patients having major abdominal surgery: protocol for a multicenter randomized trial (IMPROVE-multi). *Trials.* 2022;23. doi:10.1186/s13063-022-06854-0
126. Edwards MR, Forbes G, MacDonald N, Berdunov V, Mihaylova B, Dias P, et al. Optimisation of Perioperative Cardiovascular Management to Improve Surgical Outcome II (OPTIMISE II) trial: Study protocol for a multicentre international trial of cardiac output-guided fluid therapy with low-dose inotrope infusion compared with usual care. *BMJ Open.* 2019;9. doi:10.1136/bmjopen-2018-023455
127. OPTIMISE II Trial Group. Cardiac output-guided haemodynamic therapy for patients undergoing major gastrointestinal surgery: OPTIMISE II randomised clinical trial. *BMJ.* 2024;387:e080439. doi:10.1136/bmj-2024-080439
128. Jian Z, Liu X, Kouz K, Settels JJ, Davies S, Scheeren TWL, et al. Deep learning model to identify and validate hypotension endotypes in surgical and critically ill patients. *Br J Anaesth.* 2025; doi:10.1016/j.bja.2024.10.048
129. Trimble A, Zeman K, Wu J, Ceppe A, Bennett W, Donaldson S. Effect of airway clearance therapies on mucociliary clearance in adults with cystic fibrosis: A randomized controlled trial. *PLoS One.* 2022;17. doi:10.1371/journal.pone.0268622
130. Koch C, Jersch J, Schneck E, Edinger F, Maxeiner H, Uhle F, et al. Caspofungin modulates ryanodine receptor-mediated calcium release in human cardiac myocytes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62. doi:10.1128/AAC.01114-18
131. Müller S, Droll MC, Koch C, Weiterer S, Weigand MA, Sander M, et al. Echinocandins Accelerate Particle Transport Velocity in the Murine Tracheal Epithelium: Dependency on Intracellular Ca<sup>2+</sup> Stores. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65:e0066921. doi:10.1128/AAC.00669-21
132. Eberhart L, Geldner G, Kowark A, Zucker TP, Kreuer S, Przemec M, et al. Treatment of intraoperative hypotension with cafedrine/theodrenaline versus ephedrine: A prospective, national, multicenter, non-interventional study—the HYPOTENS trial. *Anaesthesist.* 2021;70:298–307. doi:10.1007/s00101-020-00877-5
133. Ruiqiang Z, Yifen Z, Ziqi R, Wei H, Xiaoyun F. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021, interpretation and expectation. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2021. doi:10.3760/cma.j.cn121430-20211009-01442
134. Koch T, Wenzel V. Alte medikamente und neue zulassungsverfahren: Akrinor® bleibt verkehrsfähig und ein nachzulassungsantrag für arginin vasopressin ist gestellt. *Anaesthesist.* 2006;55:708–10. doi:10.1007/s00101-006-1011-x

135. Bein B, Christ T, Eberhart LHJ. Cafedrine/theodrenaline (20:1) is an established alternative for the management of arterial hypotension in germany-a review based on a systematic literature search. *Front Pharmacol.* 2017;8:68. doi:10.3389/fphar.2017.00068
136. Koch T, Knoth H. Akrinor® - A clinically relevant drug remains on the market - Pharmacological aspects and clinical applications. *Anesthesiol und Intensivmed.* 2006;47:356–61.
137. Sternitzke N, Schieffer H, Rettig G, Bette L. Die Beeinflussung der Herz-Kreislauf-Dynamik durch die Theophyllin-Verbindung Cafedrin und Theodrenalin sowie durch ihre Kombination. *Herz Kreislauf.* 1984;8:401–412.
138. Kloth B, Pecha S, Moritz E, Schneeberger Y, Söhren KD, Schwedhelm E, et al. Akrinor™, a cafedrine/theodrenaline mixture (20:1), increases force of contraction of human atrial myocardium but does not constrict internal mammary artery in vitro. *Front Pharmacol.* 2017;8. doi:10.3389/fphar.2017.00272
139. Usichenko TI, Foellner S, Gruending M, Feyerherd F, Lehmann C, Wendt M, et al. Akrinor-induced relaxation of pig coronary artery in vitro is transformed into  $\alpha$ 1-adrenoreceptor-mediated contraction by pretreatment with propranolol. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2006;47:450–5. doi:10.1097/01.fjc.0000211710.87863.89
140. Bozzi Y, Borrelli E. The role of dopamine signaling in epileptogenesis. *Front. Cell. Neurosci.* 2013. p. 56922. doi:10.3389/fncel.2013.00157
141. Taylor CW. Regulation of IP3 receptors by cyclic AMP. *Cell Calcium.* 2017. p. 48–52. doi:10.1016/j.ceca.2016.10.005
142. Jozwiak M. Alternatives to norepinephrine in septic shock: Which agents and when? *J. Intensive Med.* 2022. p. 223–32. doi:10.1016/j.jointm.2022.05.001
143. Ratnani I, Ochani RK, Shaikh A, Jatoi HN. Vasoplegia: A Review. *Methodist Debaquey Cardiovasc J.* 2023;19:38–47. doi:10.14797/mdcvj.1245
144. Ippolito M, Benovic JL. Biased agonism at  $\beta$ -adrenergic receptors. *Cell Signal.* 2021;80:109905. doi:10.1016/j.cellsig.2020.109905
145. Zhou P, Zhao YT, Guo YB, Xu SM, Bai SH, Lakatta EG, et al.  $\beta$ -Adrenergic signaling accelerates and synchronizes cardiac ryanodine receptor response to a single L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:18028–33. doi:10.1073/pnas.0906560106
146. Berisha F, Götz KR, Wegener JW, Brandenburg S, Subramanian H, Molina CE, et al. CAMP Imaging at Ryanodine Receptors Reveals  $\beta$ 2-Adrenoceptor Driven Arrhythmias. *Circ Res.* 2021;129:81–94. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.318234
147. Schmidt G, Rienas G, Müller S, Richter K, Sander M, Koch C, et al. A fixed 20:1 combination of cafedrine/theodrenaline increases cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in human tracheal epithelial cells via ryanodine receptor-mediated  $\text{Ca}^{2+}$  release. *Sci Rep.* 2023;13:16216. doi:10.1038/s41598-023-43342-0

148. Cholak S, Saville JW, Zhu X, Berezuk AM, Tuttle KS, Haji-Ghassemi O, et al. Allosteric modulation of ryanodine receptor RyR1 by nucleotide derivatives. *Structure*. 2023;31:790-800.e4. doi:10.1016/j.str.2023.04.009
149. Bernard K, Bogliolo S, Ehrenfeld J. Vasotocin and vasopressin stimulation of the chloride secretion in the human bronchial epithelial cell line, 16HBE14o-. *Br J Pharmacol*. 2005;144:1037–50. doi:10.1038/sj.bjp.0706103
150. Tamaoki J, Kondo M, Takeuchi S, Takemura H, Nagai A. Vasopressin stimulates ciliary motility of rabbit tracheal epithelium: Role of V1b receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> mobilization. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1998;19:293–9. doi:10.1165/ajrcmb.19.2.3134
151. Yao J, Li Q, Chen J, Muallem S. Subpopulation of Store-operated Ca<sup>2+</sup> Channels Regulate Ca<sup>2+</sup>-induced Ca<sup>2+</sup> Release in Non-excitabile Cells. *J Biol Chem*. 2004;279:21511–9. doi:10.1074/jbc.M314028200
152. Nguyen NT, Han W, Cao WM, Wang Y, Wen S, Huang Y, et al. Store-operated calcium entry mediated by ORAI and STIM. *Compr Physiol*. 2018;8:981–1002. doi:10.1002/cphy.c170031
153. Spinelli AM, Trebak M. Orai channel-mediated Ca<sup>2+</sup> signals in vascular and airway smooth muscle. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2016;310:C402–13. doi:10.1152/ajpcell.00355.2015
154. Reiterer C, Kabon B, Taschner A, Falkner von Sonnenburg M, Graf A, Adamowitsch N, et al. Perioperative supplemental oxygen and NT-proBNP concentrations after major abdominal surgery – A prospective randomized clinical trial. *J Clin Anesth*. 2021;73:110379. doi:10.1016/j.jclinane.2021.110379
155. Young EL, Karthikesalingam A, Huddart S, Pearse RM, Hinchliffe RJ, Loftus IM, et al. A systematic review of the role of cardiopulmonary exercise testing in vascular surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2012;44:64–71. doi:10.1016/j.ejvs.2012.03.022
156. Chen A, An E, Yan E, Saripella A, Khullar A, Misati G, et al. Prevalence of preoperative depression and adverse outcomes in older patients undergoing elective surgery: A systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Anesth*. 2024. doi:10.1016/j.jclinane.2024.111532
157. Yan E, Veitch M, Saripella A, Alhamdah Y, Butris N, Tang-Wai DF, et al. Association between postoperative delirium and adverse outcomes in older surgical patients: A systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Anesth*. 2023. doi:10.1016/j.jclinane.2023.111221
158. Mathis MR, Ghadimi K, Benner A, Jewell ES, Janda AM, Joo H, et al. Heart failure diagnostic accuracy, intraoperative fluid management, and postoperative acute kidney injury: a single-centre prospective observational study. *Br J Anaesth*. 2024;134:32–44. doi:10.1016/j.bja.2024.08.020

159. Kouz K, Wegge M, Flick M, Bergholz A, Moll-Khosrawi P, Nitzschke R, et al. Continuous intra-arterial versus intermittent oscillometric arterial pressure monitoring and hypotension during induction of anaesthesia: the AWAKE randomised trial. *Br J Anaesth*. 2022;129:478–86. doi:10.1016/j.bja.2022.06.027
160. Kouz K, Weidemann F, Naebian A, Lohr A, Bergholz A, Thomsen KK, et al. Continuous Finger-cuff versus Intermittent Oscillometric Arterial Pressure Monitoring and Hypotension during Induction of Anesthesia and Noncardiac Surgery: The DETECT Randomized Trial. *Anesthesiology*. 2023;139:298–308. doi:10.1097/ALN.0000000000004629
161. Herrmann EJ, Raghavan B, Tekeste M, Mantzsch K, Meybohm P, Assmus B. Randomized Pilot Trial of Pre- and Postoperative Heart Failure Nurse-Supported Care in Heart Failure Patients Requiring Noncardiac Surgery—Feasibility and Results. *Clin Cardiol*. 2024;47. doi:10.1002/clc.24304
162. Blue L, Lang E, McMurray JJV, Davie AP, McDonagh TA, Murdoch DR, et al. Randomised controlled trial of specialist nurse intervention in heart failure. *Br Med J*. 2001;323:715–8. doi:10.1136/bmj.323.7315.715

## **8. Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit bzw. die mir zuzuordnenden Teile im Rahmen einer kumulativen Habilitationsschrift, selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Ich versichere, dass ich für die nach §2 (3) der Habilitationsordnung angeführten bereits veröffentlichten Originalarbeiten als Erst- oder Seniorautor fungiere, da ich den größten Teil der Daten selbst erhoben habe, für das Design der Arbeiten verantwortlich bin und die Manuskripte maßgeblich gestaltet habe. Für alle von mir erwähnten Untersuchungen habe ich die in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegten Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass alle an der Finanzierung der Arbeiten beteiligten Geldgeber in den jeweiligen Publikationen genannt worden sind. Ich versichere außerdem, dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Weise einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt wurde oder Gegenstand eines anderen Prüfungsverfahrens war. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.

Gießen, den 25.01.2025

---

Dr. med. Götz Friedrich Schmidt

## **9. Danksagung**

Zuerst gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Michael Sander für seine fortwährende klinische und wissenschaftliche Förderung sowie die kontinuierliche Unterstützung bei der Erstellung dieser Habilitationsschrift.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Prof. Dr. Christian Koch, der mich bereits zu Beginn meiner fachärztlichen Ausbildung in die anästhesiologische Forschung und unsere Arbeitsgruppen integrierte und mir bei allen wissenschaftlichen Fragestellungen und Projekten mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ebenso möchte ich Herrn PD Dr. Emmanuel Schneck danken, dessen fortwährende klinische und wissenschaftliche Unterstützung ich als äußerst wertvoll schätze.

Herrn Dr. Fabian Edinger danke ich für die Einführung in die tierexperimentelle Forschung sowie für seinen stets pragmatischen wissenschaftlichen und klinischen Rat.

Darüber hinaus gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Michael Henrich für die engagierte Unterstützung und Begleitung unserer Experimente am respiratorischen Flimmerepithel.

Ich danke dem Team des Labors für experimentelle Anästhesie, insbesondere unseren MTA Frau Ilona Magel und Frau Ebru Erdogan, für die allzeit optimale Labororganisation und die Unterstützung bei unterschiedlichsten Anliegen und Projekten.

Mein Dank gilt ebenso unseren motivierten wie fleißigen Doktoranden, die viele Projekte tatkräftig unterstützten und damit auch entscheidend zu deren Gelingen beitrugen.

Ich danke ebenfalls unserer Studienkoordinatorin Frau Dr. Melanie Markmann sowie unserer Sektion Medizinische Informatik, durch deren Unterstützung das Überwinden so mancher organisatorischer Hürden und einige Datenauswertungen erst möglich wurden.

Zuallerletzt danke ich meinen Eltern und meiner lieben Annika, ohne deren unumstößliche Unterstützung und Geduld die Erstellung dieser Habilitationsschrift ebenso nicht möglich gewesen wäre.