

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. M. Sander

**Perioperative blutbasierte Biomarkeranalytik und klinische
Implikationen im Kontext elektiver kardialer *on-pump* By-
passchirurgie**

Kumulative Habilitationsschrift
zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach Anästhesiologie
im Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Dr. med. Thomas Simon Zajonz

Gießen (2025)

Verzeichnis der Anlagen

1. **Does heart surgery change the capacity of α 1-antitrypsin to inhibit the ATP-induced release of monocytic interleukin-1 β ? A preliminary study**
Agné A, Richter K, Tumpara S, Sauer AL, Beckert F, Wrenger S, Zakrzewicz A, Hecker A, Markmann M, Koch C, **Zajonz T**, Sander M, Böning A, Padberg W, Janciauskiene S, Grau V; Int Immunopharmacol. 2020 Apr;81:106297.
2. **Potentials of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Alterations in On-Pump Coronary Artery Bypass Surgery in Postoperative Delirium: An Observational Trial**
Zajonz T, Kunzemann C, Schreiner AL, Beckert F, Schneck E, Boening A, Markmann M, Sander M, Koch C; J Clin Med. 2023 Aug 11;12(16):5245.
3. **Optimization of the cardiac delirium index by including age, decrease in butyrylcholinesterase activity, preoperative HbA1c, and postoperative hemoglobin levels: Results of a secondary analysis of a prospective observational study**
Zajonz T, Edinger F, Markmann M, Graeb K, Sander M, Kunzemann C, Koch C, Schneck E; Front Cardiovasc Med. 2024 Dec 6;11:1459268
4. **Minimized Extracorporeal Circulation Is Associated with Reduced Plasma Levels of Free-Circulating Mitochondrial DNA Compared to Conventional Cardiopulmonary Bypass: A Secondary Analysis of an Exploratory, Prospective, Interventional Study**
Zajonz T*, Koch C*, Schwiddessen J, Markmann M, Hecker M, Edinger F, Schmidt G, Boening A, Sander M, Schneck E; J. Clin. Med. 2022, 11(11), 2994; <https://doi.org/10.3390/jcm11112994>
***Geteilte Erstautorenschaft**
5. **Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) Plasma Concentration Is Reduced Using Minimized Extracorporeal Circulation: Results of a Secondary Analysis of a Prospective Observational Study**
Zajonz T, Edinger F, Götze J, Markmann M, Sander M, Koch C, Schneck E; J. Clin. Med. 2025, 14(14), 5020; <https://doi.org/10.3390/jcm14145020>

6. Soluble DLL1 as an Indicator of acute kidney injury and postoperative delirium following cardiac surgery: a secondary analysis of a prospective study.

Zajonz, TS, Edinger F, Markmann M, Schreiner A-L, Beckert F, Weigand MA, Uhle F, Niemann B, Sander M, Koch C, Schneck E; Perioper Med 14, 85 (2025).
<https://doi.org/10.1186/s13741-025-00570-4>

Anlagen sind in der Reihenfolge aufgeführt, in der sie im Weiteren bearbeitet werden.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	1
1. Einleitung.....	3
1.1 Präambel	3
1.2 CPB-assoziierte Organdysfunktion	6
1.2.1 Renale Dysfunktion.....	6
1.2.2 Neurologische Dysfunktion	7
1.2.3 Arrhythmogene Komplikationen.....	9
1.3 Pathophysiologische Grundlagen der Organdysfunktion im Kontext von Kardiochirurgie unter Anwendung eines CPB	11
1.3.1 Systemische Inflammation	11
1.3.2 Endotheliale und mikrovaskuläre Dysfunktion	12
1.3.3 CPB-induzierte Inflammation und Koagulation	12
1.4 Diagnostik von Organdysfunktionen	14
1.4.1 Diagnose des postoperativen Delirs	14
1.4.2 Diagnose des akuten Nierenversagens	17
1.4.3 Diagnose des postoperativen Vorhofflimmerns	19
1.5 Biomarker	21
1.5.1 Biomarker der initialen Immunantwort nach Eingriffen an der Herz-Lungen- Maschine	21
1.5.2 Potentielle Zielbiomarker für die Identifikation von Komplikationen nach herzchirurgischen Eingriffen unter dem Einsatz der Herz-Lungen-Maschine	25
1.6 Organprotektive Strategien.....	31
1.6.1 <i>Off-Pump</i> Coronary Artery Bypass Grafting.....	31
1.6.2 Minimalisierte extrakorporale Zirkulation (MiECC) vs. konventioneller CPB (cCPB).....	32
2. Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit	34

3. Zusammenfassung der Ergebnisse eigener Arbeiten.....	38
3.1 Auswirkungen elektiver <i>on-pump</i> CABG auf die Fähigkeit von α 1-Antitrypsin, die ATP-induzierte Freisetzung von monozytärem Interleukin-1 β zu hemmen (Anlage 1)	38
3.2 Observationsstudie zum Einfluss der Aktivität von Acetylcholinesterase- und Butyrylcholinesterase im Kontext von <i>on-pump</i> CABG auf das Auftreten eines postoperativen Delirs (Anlage 2)	41
3.3 Optimierung des Cardiac Delirium Index durch Integration von Patientenalter, Abfall der Butyrylcholinesteraseaktivität, präoperativem HbA1c und postoperativer Hämoglobinwerte: Ergebnisse einer Sekundäranalyse einer prospektiven Observationsstudie (Anlage 3)	45
3.4 Untersuchung des Einflusses von minimierter extrakorporaler Zirkulation im Vergleich zum konventionellen kardiopulmonalen Bypass während elektiver <i>on-pump</i> CABG auf die Plasmakonzentration frei zirkulierender mitochondrialer DNA: Eine Sekundäranalyse einer explorativen, prospektiven, Interventionsstudie (Anlage 4)	48
3.5 Untersuchung des Einflusses minimierter extrakorporaler Zirkulation im Vergleich zum konventionellen kardiopulmonalen Bypass während elektiver <i>on-pump</i> CABG auf die Plasmakonzentrationen des <i>Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor</i> : Eine Sekundäranalyse einer explorativen, prospektiven, Interventionsstudie (Anlage 5)	51
3.6 Soluble DLL1 als Indikator für die akute Nierenschädigung und das postoperative Delir nach elektiver <i>on-pump</i> CABG: Eine Sekundäranalyse einer prospektiven Studie (Anlage 6)	55
4. Diskussion	59
4.1 Identifikation des inhibitorischen Effekts von <i>on-pump</i> CABG auf blutbasierte Biomarker	60
4.2 Identifikation cholinergischer Biomarker im Kontext von <i>on-pump</i> CABG und deren Assoziation mit postoperativen Organdysfunktionen	63
4.3 Identifikation des Einflusses von minimierten im Vergleich zu konventionellen CPB-Systemen auf neue Biomarker	66

4.4 Zusammenfassende Diskussion und Ausblick.....	73
5. Zusammenfassung.....	79
6. Danksagung	81
7. Literaturverzeichnis	82
8. Anlagen	110
Anlage 1	110
Anlage 2	117
Anlage 3	132
Anlage 4	143
Anlage 5	155
Anlage 6	169

Abkürzungsverzeichnis

AAT	α 1-Antitrypsin
Abb.	Abbildung
AChE	Acetylcholinesterase
AKI	<i>Acute Kidney Injury</i>
AKIN	<i>Acute Kidney Injury Network-Criteria</i>
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	<i>Area Under the Curve</i>
AUCROC	<i>Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve</i>
AW	Ausgangswert
BChE	Butyrylcholinesterase
CABG	<i>Coronary Artery Bypass Graft</i>
CAM-ICU	<i>Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit</i>
CARDEL	<i>CARDiac DELirium</i>
CARS	<i>Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome</i>
CPB	Cardiopulmonary Bypass
CCPB	<i>Conventional Cardio-Pulmonary Bypass</i>
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
ChE	Cholinesterase
CK	Creatinkinase
CK-MB	Creatinkinase-MB (<i>Muscle-Brain Type</i>)
CRP	C-reaktives Protein
CRR	<i>Creatinine Reduction Rate</i>
CS-AKI	<i>Cardiac Surgery (associated) Acute Kidney Injury</i>
DAMP	<i>Damage Associated Molecular Pattern</i>
DSM-5	<i>Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders, 5th Edition</i>
ECC	<i>Extracorporeal Circulation</i>
EGFR	<i>Estimated Glomerular Filtration Rate</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
ICDSC	<i>Intensive Care Delirium Screening Checklist</i>
IMESO	Innovative medizinische Software
IL	Interleukin

INF	Interferon
KDIGO	<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
KIM-1	<i>Kidney Injury Molecule-1</i>
L	Liter
LPS	Lipopolysaccharid
MiECC	<i>Minimal Invasive Extracorporeal Circulation</i>
MtDNA	Mitochondriale Desoxyribonukleinsäure
NACHR	Nikotinerger Acetylcholin-Rezeptor
NET	Nierenersatztherapie
NETs	<i>Neutrophile Extracellular Traps</i>
NGAL	Neutrophilen-Gelatinase-assoziiertes Lipocalin
NLRP3	<i>NLR Family Pyrin Domain Containing 3</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
PCT	Procalcitonin
PNR	<i>Platelet-to-Neutrophil Ratio</i>
POAF	<i>Postoperative Atrial Fibrillation</i>
POC	<i>Point-of-Care</i>
POD	Postoperatives Delir
PWR	<i>Platelet-to-White-Blood-Cell Ratio</i>
QPCR	<i>Quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
RASS	<i>Richmond Agitation Sedation Scale</i>
RIFLE	<i>Risk Injury Failure Sustained Loss End-Stage Kidney Disease</i>
SDLL1	<i>Soluble Delta-Like Protein 1</i>
SIRS	<i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>
SCR	<i>Serum Creatinine</i>
T	<i>Timepoint</i>
Tab.	Tabelle
TNF	Tumornekrosefaktor
U	<i>Unit</i>

1. Einleitung

1.1 Präambel

Im Kontext der Medizin wird der Begriff „Biomarker“ als Merkmal verwendet, welches objektiv gemessen und als Indikator für physiologisch-biologische und pathogene Prozesse oder pharmakologische Reaktionen auf eine therapeutische Intervention genutzt werden kann. Initial publizierte Studienergebnisse im Bereich medizinisch angewendeter und identifizierter Biomarker erfolgten bereits 1947 durch Burnet und Anderson¹.

Der Terminus Biomarker entstammt der Kombinationsform des griechischen βιο-, von βίος mit der Bedeutung „Leben“, und altenglischen Formen von Wörtern, die „ein Zeichen“ bedeuten, wie *mearc*².

Die zunehmende Implementierung von Biomarkern resultierte in einer inhomogenen Nomenklatur, so dass der Begriff analog verwendet wurde zu „*biological markers*“, „*surrogate markers*“, „*surrogate endpoints*“, „*surrogate response variables*“, „*intermediate endpoints*“, „*intermediate markers*“, „*biomarker endpoints*“ und „*intermediate marker endpoints*“. Robin Ferner und Jeffrey Aronson³ unternahmen daher den Versuch, das Konzept des Biomarkers im medizinischen Kontext zu vereinfachen und zu vereinheitlichen:

„A biological observation that substitutes for and ideally predicts a clinically relevant endpoint or intermediate outcome that is more difficult to observe.“

Die Anwendung von Biomarkern konnte im Verlauf des wissenschaftlichen Fortschritts aus dem Bereich der Grundlagenforschung in klinische Studien und anschließend in die klinische Breitenanwendung unterschiedlicher Fachdisziplinen implementiert und validiert werden. Das wissenschaftliche Interesse an medizinischen Biomarkern wies durch die Entwicklung von neuen Analyseverfahren seit Mitte des vergangenen Jahrhunderts ein nahezu exponentielles Wachstum auf (Abb. 1).

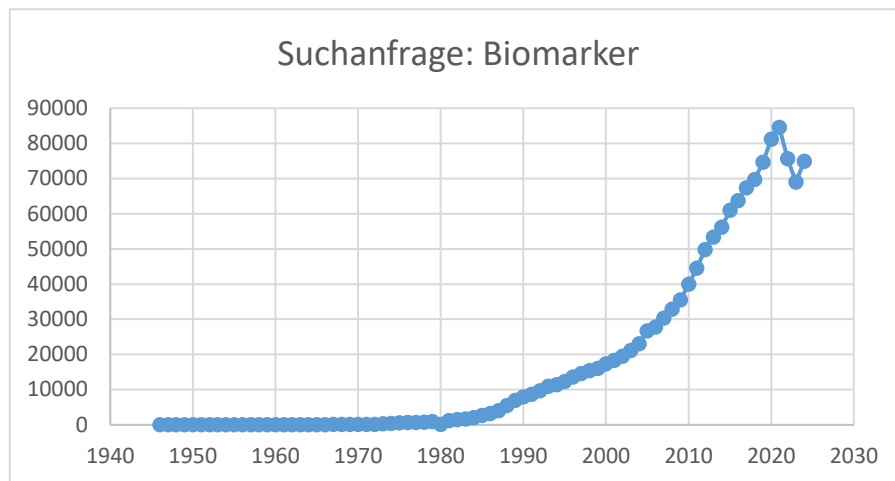


Abb.1: Verlauf der Treffer zur Suchanfrage „Biomarker“ in Pubmed
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=biomarker>, abgerufen am 02.09.2025)

Global werden jährlich ca. 200 Millionen komplexe kardiochirurgische Interventionen durchgeführt⁴. Bezogen auf die Bundesrepublik Deutschland erfolgten im aktuellen Bericht der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie im Jahr 2023 28.996 koronare Bypassoperationen (*Coronary Artery Bypass Graft*, CABG), von diesen wurden 21.398 (74 %) unter Anwendung eines kardiopulmonalen Bypasses (*Cardiopulmonary Bypass*, CPB) durchgeführt (Daten zu 2024 zum Datum der Einreichung der Habilitationsschrift nicht veröffentlicht bzw. zitierbar).

Dies resultiert, trotz kontinuierlicher Forschung und Weiterentwicklung von Operations- und Perfusionstechniken, in einer relevanten Beeinflussung von Morbidität, Mortalität und assoziierten Kosten in Bezug auf das Gesundheitssystem^{5–9}.

Die Kombination aus chirurgischem Trauma, Fremdoberflächenkontakt in der extrakorporalen Zirkulation, non-pulsatilem Fluss, Ischämie-Reperfusion-Reaktion und Komplementsystemaktivierung^{10–12} resultiert in einer generalisierten inflammatorischen Immunantwort des Patienten[†], welche unterschiedliche Organsysteme signifikant affizieren kann. Zu diesen zählen das *Acute Respiratory Distress Syndrome*¹³, die postoperative renale Dysfunktion und akute Niereninsuffizienz (*Acute Kidney Injury*, AKI)^{14,15}, der Hirninfarkt, das postoperative Delir^{16,17} und das Vorhofflimmern^{18,19}.

[†] Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird in dieser kumulative Habilitationsschrift die Sprachform des generischen Maskulinums verwendet. Es wird an dieser Stelle ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die Verwendung der männlichen Form geschlechtsneutral verstanden werden soll.

Zur Früherkennung von Hochrisikopatienten sind daher validierte Biomarker mit hoher organspezifischer Diskriminationsfähigkeit essenziell, die eine differenzierte Beurteilung distinkter organsystemischer Alterationen und deren frühzeitige Therapie ermöglichen.

Diese kumulative Habilitationsschrift fasst sechs Studien zu diesem Themenkomplex zusammen, in welchen perioperative Alterationen von blutbasierten Biomarkern und deren Assoziation mit postoperativen Organdysfunktionen, im Kontext von neurokognitiven, renalen und rhythmogenen Alterationen, nach elektiver kardialer *on-pump* Bypass-Chirurgie untersucht werden.

1.2 CPB-assoziierte Organdysfunktion

Die Anwendung eines CPB resultiert in einer systemischen inflammatorischen Aktivierung, welche eine Akute-Phase-Reaktion darstellt. Diese Antwort des Patienten auf den Stimulus der kardiochirurgischen Operation und des CPB kann einen subklinischen Verlauf aufweisen oder sich klinisch in einer apparenten Organdysfunktion, auch auf Multiorganebene, manifestieren.

Faktoren, die die Inzidenz der Organdysfunktion beeinflussen, sind der Grad der inflammatorischen Reaktion und die „funktionale Reserve“ der Patienten^{20–23}. Seit der Einführung des CPB im Jahr 1953 wurden zunehmend CPB-assoziierte Organdysfunktionen in Bezug auf das Gerinnungssystem, die Leber, die Lunge, das Herz und das Gehirn sowie die Nieren beschrieben^{24,25}. Modifikationen des operativen Prozederes, des CPB und seiner Komponenten konnten, bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt, die Inzidenz von Organdysfunktionen reduzieren, deren Auftreten aber nicht verhindern^{26–31}. Patienten mit bereits präoperativ reduzierter Organfunktion stellen eine besondere Risikogruppe für die Entwicklung einer ausgeprägten Beeinträchtigung nach CPB dar^{32,33}.

1.2.1 Renale Dysfunktion

Die Inzidenz einer AKI nach kardiochirurgischen Eingriffen (*Cardiac Surgery-Associated* AKI, CS-AKI) beträgt bis zu 43 %³⁴, wobei sie abhängig von der durchgeführten Operation, der Anwendung eines CPB, präoperativ bestehender chronischer Nierenschädigung und der angewendeten AKI-Definition divergiert^{35–39}. Die CS-AKI stellt eine schwerwiegende Komplikation dar, welche nicht nur unmittelbar postoperative, sondern auch gravierende Langzeitfolgen aufweisen kann. Eine CS-AKI konnte mit einer Zunahme der Mortalität, des Dialysebedarfs und einer prolongierten Reduktion der Nierenfunktion assoziiert werden⁴⁰. Pathophysiologisch wurde ein direkter Einfluss des CPB auf Nierenschädigungen beschrieben und stellt einen unabhängigen, mit der Inzidenz einer AKI assoziierten, Faktor dar^{36,41–43}. Additive CPB-assoziierte Faktoren, die zu einer renalen Schädigung beitragen können, sind renale Hypoperfusion und Hypoxie, Inflammation, non-pulsatiler Fluss unter CPB, oxidativer Stress, Koagulationsstörungen, Hämolyse, ein gesteigerter zentral-venöser Druck, Endothel- und Glykoka-

lyxdestruktion, sowie die Liberation und systemische Verteilung von Gas- und Lipid-mikroemboli^{44–53}. Die Diagnose einer AKI basiert primär auf der Analytik von Serum-Kreatinin (sCR) und Urinausscheidung/Zeit. SCR stellt jedoch einen verzögerten und schwachen Indikator für renale Dysfunktion dar^{39,54}, während die Urinausscheidung durch Diuretika und additive Faktoren beeinflusst werden kann. Diese Faktoren tragen zur Verzögerung der Diagnose einer renalen Schädigung und Limitierung der therapeutischen Effektivität bei. Daher stand die Suche nach sensitiven und spezifischen Biomarkern zur CSA-AKI-Prädiktion immer im Fokus der Forschung. Studien identifizierten Biomarker, welche eine renale Schädigung im Kontext von kardiochirurgischen Eingriffen zu einem früheren Zeitpunkt und spezifischer erlauben, als es durch sCR und Diuresealterationen möglich war^{55–57}.

Die Identifikation von CSA-AKI-Biomarkern erfordert die Entwicklung von Parametern mit hoher diagnostischer Sensitivität und Spezifität bei gleichzeitiger Robustheit gegenüber den systemischen Auswirkungen der extrakorporalen Zirkulation und des chirurgischen Traumas. Dieses induzierte „Grundrauschen“ im Kontext der *on-pump* Kardiochirurgie erschwert eine Identifikation potenzieller Biomarker.

1.2.2 Neurologische Dysfunktion

Neurologische und neuro-psychologische Dysfunktionen nach kardiochirurgischen Eingriffen unter CPB manifestieren sich in einem Spektrum von Erkrankungen, wie Hirninfarkten, Krampfanfällen, Enzephalopathien, Delir, Koma-Zuständen und langfristigen kognitiven Beeinträchtigungen. Sie stellen häufige Komplikationen dar, die Mortalität, Morbidität und Gesundheitssystemkosten relevant beeinflussen können^{58–63}. Klassifikationen beschreiben temporäre oder persistierende neurologische und neuro-psychologische Alterationen. Während als schwere direkte Organschädigung die Inzidenz des Apoplex 1 – 3 % beträgt, stellt der pathologische Formenkreis der kognitiven Dysfunktionen die häufigste neurologische Komplikation im Kontext kardiochirurgischer Interventionen dar. Im Intervall bis zu einem Monat postoperativ beträgt die Inzidenz 30 – 65 %, im Intervall bis zu fünf Monaten postoperativ 20 – 40 %^{61,64–66}. Insbesondere ist das postoperative Delir (POD) bei kardiochirurgischen Patienten von besonderer Relevanz. Ein Delir stellt eine akute und fluktuierende Störung zerebraler Funktionen dar, welche mit Veränderungen des Bewusstseins und der Aufmerksamkeit einhergeht. Die Klassifikation erfolgt über immanente Merkmale, wie die prädominante motorische Aktivität (hypoaktiv, hyperaktiv oder Mischform) oder die Ätiologie

(hypoxisch induziert, Sepsis-assoziiert, Sedativa-assoziiert, metabolische Dysfunktion oder Mischform)⁶⁷, der gegenwärtige Goldstandard der Diagnose basiert auf dem DSM-5 (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*⁶⁸). Delirpatienten weisen eine erhöhte Morbidität, Mortalität und signifikant erhöhte Behandlungskosten auf^{69,70}. Das POD nach kardiochirurgischen Operationen ist häufig, Inzidenzen reichen bis zu 40 % und steigen altersabhängig zunehmend an^{69,71}.

Die POD-Diagnostik erfolgt gegenwärtig weiterhin mit klinischen Testsystemen, basierend auf validierten und prädefinierten Fragenkatalogen, ohne prädiktives Potenzial^{72,73}. Die angewendeten klinischen Testsysteme in diesem Kontext sind auf die Kooperation des Patienten, eine geringe Sedierungstiefe und sprachliches Verständnis angewiesen. Die Varianz in der Inzidenz reflektiert inhomogene Untersuchungsgruppen, Diagnosekriterien und -testsysteme sowie unterschiedliche operative Interventionen mit und ohne Einsatz eines CPB.

Klinische Risikofaktoren für neurologische und neuro-psychologische Komplikationen wurden in multiplen Studien untersucht und identifiziert, weisen jedoch aufgrund der Heterogenität der Studien in Bezug auf Intervention, Patientenkollektiv und additiven Faktoren Limitationen auf^{23,59,74,75}. Fortschrittlichere kognitive Beurteilungstestsysteme, längere Nachbeobachtungszeiten, apparative (Elektroenzephalogramm) und neue bildgebende Verfahren unterstützen die Überwachung dieser affizierten Patientengruppe. Zu den Ursachen neurologischer und neuro-psychologischer Komplikationen nach kardiochirurgischen Eingriffen unter CPB zählen Makroembolisationen von Luft und Partikeln (atheromatöse Plaques, Debris, lipogenes Material), Mikroembolisationen des Oxygenators und aus dem Blutreservoir (Luft, Fremdpartikel, Antischaumagentien, Mikroaggregate aus Thrombozyten und Fibrin), Hypotension, ausgeprägte intraoperative Blutdruckvariabilität, inadäquate zerebrale Perfusion, prolongierte CPB-Phasen, zerebrale vaskuläre Vorerkrankungen und non-pulsatiler Fluss des CPB^{75–79}. Die Suche und Identifikation von Faktoren, welche eine frühzeitige Diagnose von Risikopatienten ermöglichen ist weiterhin von zentraler Relevanz. Studienergebnisse konnten genetische Polymorphismen mit dem Auftreten perioperativer Hirninfarkte und neurokognitiver Dysfunktion in Verbindung bringen^{80,81}, was möglicherweise in einer frühen Identifikation von Risikopatienten und adaptierten Behandlungsalgorithmen resultieren kann. Neben genetischen Faktoren stellt die Evaluation von Biomarkern einen Schwerpunkt in der Forschung zu neurologischen und neuro-psychologischen Dysfunktionen im kardiochirurgischen Bereich dar. Analog zu CS-AKI

sind Ansprüche an diese Biomarker Sensitivität, Spezifität und Robustheit gegenüber patientenbezogenen und prozessbezogenen Variablen, sowie die bereits beschriebene systemische Akute-Phase-Reaktion des Patienten nach *on-pump* Operationen.

1.2.3 Arrhythmogene Komplikationen

Arrhythmogene Komplikationen nach kardiochirurgischen Eingriffen stellen ein häufiges Problem nach herzchirurgischen Eingriffen dar. Die führende arrhythmogene Entität stellt das postoperative Vorhofflimmern (*Postoperative Atrial Fibrillation*, POAF) dar. Die Inzidenz ist abhängig von der durchgeführten chirurgischen Intervention und reicht bei Klappeneingriffen von 38 – 63 % und bei CABG von 10 – 33 %^{82,83}. Der Großteil der de-novo betroffenen Patienten (> 95 %) weist einen selbst-limitierenden Verlauf der POAF in einen Sinusrhythmus innerhalb der ersten zwei postoperativen Monate auf^{82,84,85}. Trotz chirurgischem Fortschritt und Modifikationen der chirurgischen Versorgung zeigt sich bis zum heutigen Zeitpunkt keine relevante Reduktion der POAF-Inzidenz⁸⁵. Das Auftreten einer POAF ist klinisch und ökonomisch relevant. Direkte Auswirkungen bestehen in prolongierten Intensiv- und Krankenhausaufenthalten, damit assoziierten gesteigerten Gesundheitssystemkosten und einem gesteigerten Risiko für Apoplexe, Herzinsuffizienz, Rehospitalisationen und kurz- und langfristige Mortalität^{84–89}.

Genaue Mechanismen und Signaltransduktionswege, welche im Auftreten einer POAF resultieren, sind nicht vollständig geklärt, was präventive Strategien und zielgerichtete Therapien erschwert und damit die Inzidenz bisher nicht signifikant reduzieren konnte^{85,90,91}. Differenziert werden können akute (Trauma, Inflammation, sympathische Aktivierung und oxidativer Stress^{86,91–93}) und chronische (abnormale atriale Substrate, kardiale Fibrosierung^{94–97}) Einflussfaktoren, welche in der Beginn- und Erhaltungsphase der POAF von Relevanz sind. Die Möglichkeit, festzustellen, welche Patienten ein vorbestehendes Risiko für ein POAF aufweisen, ist für eine verbesserte Auswahl prophylaktischer Maßnahmen, eine engmaschigere Überwachung auf postoperative Komplikationen und die Ermittlung des Risikos eines langfristigen Vorhofflimmerns wichtig⁹⁸. Die frühzeitige und valide Identifikation von Risikopatienten, ideal zu einem frühen präoperativen Zeitpunkt, ist aufgrund der demografischen Entwicklung und damit einhergehenden Zunahme kardiovaskulärer Erkrankungen unumgänglich. Wie in den beiden vorherigen Abschnitten zu postoperativen pathologischen Organmanifestationen

nach herzchirurgischen Operationen unter CPB beschrieben, ist die Identifikation sensibler, spezifischer und robuster Biomarker auch im Zusammenhang mit arrhythmogenen Komplikationen, insbesondere der POAF, von zentraler Relevanz. Evaluierte Ansätze analysierten non-invasive bildgebende Marker im echokardiografischen^{99–101} und magnetresonanztomografischen Bereich^{84,102}, sowie Serum-Biomarker mit unterschiedlichen Zielmolekülen und Komplexen, wie microRNA^{103,104}, Zelltod-Markern (*Preoperative Serum Apoptosis Stimulating Fragment Ligand*)¹⁰⁵, Peroxynitrit und Superoxid¹⁰⁶, Marker myokardialer Dehnung (*Brain Natriuretic Peptide*)¹⁰⁷ und inflammatorische Liganden¹⁰⁸.

1.3 Pathophysiologische Grundlagen der Organdysfunktion im Kontext von Kardiochirurgie unter Anwendung eines CPB

1.3.1 Systemische Inflammation

Kardiochirurgische Operationen unter Anwendung des CPB induzieren eine variable systemische inflammatorische Antwort des Patienten. Diese aseptische inflammatorische Antwort divergiert gegenüber jener, die durch infektiologische oder isoliert traumatische Stimuli induziert wird¹⁰⁹. Der Begriff des *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS) kann im Kontext der Inflammation nach CPB nicht unreflektiert verwendet werden. Korrekter ist die Anwendung des Terminus der Akute-Phase-Reaktion oder des „Post-Perfusions-Syndroms“. Das SIRS wurde bis heute nicht aus der kardio- oder thoraxchirurgischen Sicht definiert, sondern ist der Intensivmedizin entnommen¹¹⁰. Die Definition entspringt der intensivmedizinischen Beobachtung, dass der Einfluss einer proinflammatorischen Reaktion über Auswirkungen der proinflammatorischen Kaskade unterschiedliche Organfunktionen affektiert. Im Jahr 1992 definierten das *American College of Chest Physicians* und die *Society of Critical Care Medicine* den Begriff *Systemic Inflammatory Response Syndrome*¹¹¹ (Tab.1). Diese Definitionskonferenz wurde für die Diagnose und Behandlung der Sepsis einberufen, während das SIRS nicht-infektiösen Ursprungs lediglich unter „Sonstiges“ erwähnt wurde¹¹⁰.

Klinische Diagnose des <i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>
Die SIRS-Diagnose erfolgt, insofern zwei oder mehr der folgenden Parameter identifiziert werden:
1. Fieber > 38°C oder < 36°C
2. Herzfrequenz > 90 bpm (nicht nutzbar bei pädiatrischen Patienten)
3. Atemfrequenz > 20 Atemzüge pro Minute oder $\text{aPtPaCO}_2 < 4,3 \text{ kPa}$ (32 mmHg)
4. Leukozytenzahl < 4×10^9 Zellen/L oder > 12×10^9 Zellen/L oder > 10 % unreife Leukozyten

Tab.1: Darstellung der *Systemic Inflammatory Response Syndrome* Kriterien¹¹¹

Die Akute-Phase-Reaktion ist im Kontext der Kardiochirurgie mit CPB primär auf zellulärer und humoraler Ebene zu lokalisieren. Zu den ätiologischen Faktoren dieser Reaktion gehören der Kontakt des Patientenbluts mit den artifiziellen Oberflächen der extrakorporalen Zirkulation, die Endotoxintranslokation, das operative Trauma, Ischämie-Reperfusionsschäden, allogene Transfusionen und induzierte Temperaturfluktuationen^{112–115}. Die resultierende inflammatorische Kaskade manifestiert sich durch multiple interagierende Mechanismen. Involvierte pathophysiologische Systeme umfas-

sen die Komplementaktivierung, die zelluläre Immunantwort, proinflammatorische Zytokinfreisetzung, Endotoxintranslokation aus dem Gastrointestinaltrakt, dysregulierte Stickstoffmonoxid (NO)-Produktion, Modulation intrazellulärer Signaltransduktionswege sowie die Aktivierung des Koagulations-Fibrinolyse-Systems und der endothelialen Dysfunktion^{116,117}.

1.3.2 Endotheliale und mikrovaskuläre Dysfunktion

Die Anwendung eines CPB induziert eine signifikante endotheliale Dysfunktion mit konsekutiver Störung der mikrovaskulären Homöostase. Diese pathophysiologischen Alterationen manifestieren sich primär durch eine kompromittierte Glykokalyx sowie eine gestörte Basalmembranintegrität, wodurch die endotheliale Barrierefunktion substantiell beeinträchtigt wird.

Multiple Faktoren, darunter der non-pulsatile Fluss, die Freisetzung inflammatorischer Mediatoren, Heparinisierung, die therapiebedingte Hämodilution sowie die induzierte Hypothermie, triggern eine systemische Akute-Phase-Reaktion^{118,119}. Diese pathologische Kaskade führt zu einer Augmentation der Kapillarpermeabilität mit nachfolgender extravaskulärer Flüssigkeitsakkumulation. Die resultierende Kombination aus interstieller Ödembildung, Hypervolämie und verlängerten Diffusionsstrecken kulminiert in einer potenziellen Affektion und resultierender Dysfunktion unterschiedlicher Organsysteme⁹⁶.

1.3.3 CPB-induzierte Inflammation und Koagulation

Im Kontext kardiochirurgischer Interventionen unter Einsatz eines CPB und in Assoziation mit Faktoren, welche im vorherigen Abschnitt (1.3.2 Endotheliale und mikrovaskuläre Dysfunktion) diskutiert wurden, erscheint eine Alteration der Koagulation nach CPB einen signifikanten Faktor in der Entwicklung von Organdysfunktionen darzustellen.

Inflammatorische und koagulative Kaskaden sind auf molekularer Ebene eng miteinander vernetzt. Inflammatorische Prozesse, wie durch *on-pump* Kardiochirurgie ausgelöst, induzieren eine signifikante Steigerung der mikrovaskulären Expression des *Tissue Factors*, welcher die Gerinnungsaktivierung initiiert, sowie des Plasminogenaktivator-Inhibitors, der die Fibrinolyse supprimiert. Simultan erfolgt eine Downregulation

endogener Antikoagulantien, insbesondere Protein C, Protein S, Thrombomodulins und Antithrombins, die vorwiegend auf mikrovaskulärer Ebene antikoagulatorische Wirkung aufweisen^{120,121}. Mikrovaskuläre Thrombogenese scheint einen essentiellen pathophysiologischen Mechanismus darzustellen, durch den inflammatorische Prozesse zu Organschädigungen führen. In inflammatorischen Konditionen – einschließlich der Sepsis, des Polytraumas, der schweren Hypoxie nach Kreislaufstillstand sowie des hämolytisch-urämischen Syndroms – korrelierten sowohl erhöhte Gerinnungsaktivierung als auch histologische Nachweise mikrovaskulärer Thrombosen mit der Entwicklung von Organschädigungen¹²².

1.4 Diagnostik von Organdysfunktionen

Die Validierung klinischer Parameter zur Beurteilung von Organdysfunktionen erfordert die Erfüllung mehrerer essentieller Kriterien. Fundamentale Bedeutung kommt dabei der Konstrukt- und Inhalts- und Kriteriumsvalidität zu, welche die präzise Abbildung der physiologischen Dysfunktion spezifischer Organsysteme gewährleistet.

Die Konstruktvalidität evaluiert, inwieweit ein Biomarker das zugrundeliegende pathophysiologische Konstrukt adäquat reflektiert und spezifisch mit der Zielerkrankung assoziiert ist. Die Inhaltsvalidität bewertet die repräsentative Abdeckung aller relevanten biologischen Prozesse und klinischen Manifestationen des Krankheitsbildes durch den Biomarker. Die Kriteriumsvalidität manifestiert sich in der Korrelation mit klinisch relevanten Endpunkten.

Ein valider Parameter sollte zudem eine ausreichende Differenzierungsfähigkeit zwischen verschiedenen Schweregraden der Organfunktionsstörung aufweisen. Ein weiteres wesentliches Qualitätsmerkmal ist die Resistenz gegenüber konfundierenden Variablen, die die Validität der Messung beeinflussen könnten.

Die longitudinale Sensitivität ermöglicht die Erfassung temporaler Fluktuationen im Krankheitsverlauf, sowohl bei Progression als auch bei Regression der Organdysfunktion.

Die praktische Implementierung setzt voraus, dass die Erhebung der Parameter auf objektiv messbaren Routinewerten basiert, wodurch zusätzliche diagnostische Maßnahmen minimiert werden. Von zentraler Bedeutung ist die Generalisierbarkeit der Parameter, die sich in ihrer Anwendbarkeit über verschiedene Patientenpopulationen und klinische Settings hinweg manifestiert.

Im Folgenden sollen etablierte Evaluationskriterien und -parameter im Kontext der Organdysfunktionsdiagnostik und deren Limitationen diskutiert werden.

1.4.1 Diagnose des postoperativen Delirs

Der Goldstandard in der Diagnose eines (postoperativen) Delirs basiert aktuell auf dem *Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders, Fifth edition (DSM-5)*⁶⁸ (s. Tab. 2).

Kriterium	Beschreibung
A	Störung der Aufmerksamkeit (d.h. reduzierte Fähigkeit, Aufmerksamkeit zu lenken, zu fokussieren, zu halten oder zu wechseln) und des Bewusstseins (reduzierte Orientierung zur Umgebung)
B	Die Störung entwickelt sich über einen kurzen Zeitraum (normalerweise Stunden bis wenige Tage), stellt eine Veränderung gegenüber der gewöhnlichen Aufmerksamkeit und dem Bewusstsein dar und fluktuiert in ihrer Schwere während des Tages
C	Eine zusätzliche Störung der Kognition (z.B. Gedächtnisdefizit, Desorientierung, Sprache, visuell-räumliche Fähigkeiten oder Wahrnehmung)
D	Die Störungen in den Kriterien A und C werden nicht durch eine bereits bestehende, etablierte oder sich entwickelnde neurokognitive Störung besser erklärt und treten nicht im Kontext eines schwer reduzierten Erregungsniveaus, wie einem Koma, auf
E	Es gibt Hinweise aus der Anamnese, körperlichen Untersuchung oder Laborergebnissen, dass die Störung eine direkte physiologische Konsequenz einer medizinischen Krankheit, Substanzintoxikation oder -entzug, Exposition gegenüber einem Toxin oder multiplen Ätiologien ist

Tab. 2: Diagnostische Kriterien Delir: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-5, *modifiziert nach: American Psychiatric Association*⁶⁸

Die Routineanwendung des DSM-5 ist im intensivmedizinischen Alltag jedoch nicht praktikabel, da es komplex ist und profunde psychiatrische Expertise voraussetzt. Entsprechend wurden klinisch implementierbare Testinstrumente entwickelt und für verschiedene Berufsgruppen des medizinischen Personals validiert. Gegenwärtig bestehen sieben validierte und klinisch etablierte *Assessment*-Instrumente zur Diagnose eines Delirs^{123–125}, von denen die *Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit* (CAM-ICU)¹²⁶ und die *Intensive Care Delirium Screening Checklist* (ICDSC)¹²⁷ die höchste psychometrische Validität aufweisen. Beide Screening-Instrumente werden aufgrund der Einschätzung psychometrischer Eigenschaften von der *Society of Critical Care Medicine's Pain, Agitation, and Delirium Guidelines for Monitoring Delirium in ICU Patients* empfohlen¹²⁸. Eine essentielle Voraussetzung für die valide Delirdiagnostik ist die partielle Vigilanz des Patienten. Daher muss ein Sedierungs-Assessment wie die *Richmond Agitation-Sedation Scale* (RASS)¹²⁹ mit einem Delir-Testinstrument gekoppelt werden¹²⁹.

Dies verdeutlicht die zentrale Limitation der genannten Delir-Assessment-Instrumente, welche in der erforderlichen Responsivität des Patienten liegt. Postoperative Patienten mit einer intensivmedizinischen Überwachungsindikation sind häufig intermittierend sedativen und analgetischen Pharmaka exponiert, welche Vigilanzalterationen induzieren und somit zu Verzerrungen der Testergebnisse können. Neben iatrogener Sedierung/Analgesie können neurologische Defizite die Validität der Assessment-Ergebnisse kompromittieren. Kritisch zu evaluieren sind die Sensitivität und Spezifität der klinisch favorisierten Testsysteme, deren moderate Sensitivität einer hohen Spezifität gegenübersteht^{130,131}.

Abschließend ist der fluktuierende Charakter des Delirs im Kontext dieser Assessment-Instrumente zu berücksichtigen, welcher in einer zeit- und ressourcenlimitierten klinischen Praxis zu falsch-negativen Diagnosestellungen prädisponieren kann¹³². Davon unabhängige Biomarker-basierte Testverfahren könnten die Limitationen der etablierten klinischen Testsysteme reduzieren. Die Kombination routinemäßig präoperativ erhobener Laborparameter konnte in einem Model bereits mit einer moderaten Prädiktionsleistung für ein postoperatives Delir nach CABG assoziiert werden¹³³. Die präoperative Parametererhebung erlaubte eine frühzeitige Risikostratifikation, bei gleichzeitiger objektiver Messbarkeit, welche subjektive Bewertungen, wie sie in klinischen Testsystemen bestehen, ausschloss.

1.4.2 Diagnose des akuten Nierenversagens

Der gegenwärtige Goldstandard in der Diagnose einer akuten Nierenschädigung basiert seit 2012 auf den *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) Kriterien¹³⁴, welche die diagnostischen Algorithmen der RIFLE- (*Risk, Injury, Failure, Loss, and End-Stage Renal Failure*) und AKIN- (*Acute Kidney Injury Network*) Kriterien integrierten. Das Auftreten einer AKI ist definiert durch Veränderungen der Nierenfunktion, einschließlich Veränderungen des sCr und der Urinausscheidung innerhalb von 48 Stunden oder sieben Tagen (s. Tab. 3).

Klasse	RIFLE	Urinausschuss-Kriterien	Stadium	AKIN	Urinausschusskriterien	Stadium	KDIGO
Risk	sCR $\geq$ 1,5-fach des AW oder GFR Abfall $\geq$ 25%	$< 0,5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ für $\geq 6 \text{ h}$	Stadium 1	sCR $\geq$ 1,5-fach des AW oder Anstieg um 0,3 mg/dl	$< 0,5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ für $\geq 6 \text{ h}$	Stadium 1	sCR -Anstieg um 0,3 mg/dl innerhalb von 48 h oder KR $\geq 1,5$ –1,9-fach des AW innerhalb von 7 Tagen
Injury	sCR $\geq$ 2-fach des AW oder GFR Abfall $\geq$ 50%	$< 0,5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ für $\geq 12 \text{ h}$	Stadium 2	sCR $\geq$ 2-fach des AW	$< 0,5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ für $\geq 12 \text{ h}$	Stadium 2	sCR 2,0–2,9-fach des AW innerhalb von 7 Tagen
Failure	sCR $\geq$ 3-fach des AW oder Anstieg um 0,5 mg/dl auf $\geq 4 \text{ mg/dl}$ oder GFR Abfall $\geq 75\%$ oder NET-Beginn	$< 0,3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ für 24 h oder Anurie für 12 h	Stadium 3	sCR $\geq$ 3-fach des AW oder Anstieg um 0,5 mg/dl auf $\geq 4 \text{ mg/dl}$ oder NET-Beginn	$< 0,3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ für 24 h oder Anurie für 12 h	Stadium 3	sCR $\geq$ 3-fach des AW oder Anstieg von 0,5 mg/dl auf $\geq 4 \text{ mg/dl}$ oder NET-Beginn
Loss	Verlust der Nierenfunktion für ≥ 4 Wochen	-	-	-	-	-	-

Tab. 3: Diagnostische Kriterien *Acute Kidney Injury*: RIFLE, AKIN und KDIGO; AKIN, *Acute Kidney Injury Network*; AW, Ausgangswert; GFR, glomeruläre Filtrationsrate; KDIGO, *Kidney Disease Improving Global Outcomes*; NET, Nierenersatztherapie; RIFLE, *Risk, Injury, Failure, Loss, and End-stage Renal Failure*; sCR, Serum-Kreatinin, *modifiziert nach: Cheruku et al.*³⁷

Seit Implementierung der KDIGO-Kriterien haben sich diese als Standard für die Definition der CS-AKI sowohl in der klinischen Praxis als auch in der klinischen Forschung etabliert³⁷. Die Betrachtung der Studienergebnisse weist Diskrepanzen auf, die auf die Heterogenität in der Anwendung der KDIGO-Kriterien zurückgeführt werden können, wobei manche Studiengruppen ausschließlich sCR als definierenden Parameter betrachten, während andere additiv die Urinausscheidung pro Zeit integrierten¹³⁵.

Während Kreatinin bei normaler Nierenfunktion einen adäquaten Surrogatparameter für die eGFR darstellt, ist seine Validität unter dynamisch-instabilen Bedingungen, wie in der kardiochirurgischen perioperativen Phase, limitiert³⁷.

Insbesondere kardiochirurgische Eingriffe unter Anwendung eines CPB kompromittieren die Reliabilität des Biomarkers sCR. Die Eignung als frühdiagnostischer Parameter ist durch die protrahierte kinetische Latenz limitierend, da eine signifikante renale Schädigung bestehen muss, bevor ein Anstieg des sCR resultiert³⁵. Die CPB-induzierte Hämodilution kann zu einer Dilution der sCR-Level führen, wodurch die korrekte Definition des AKI-Grades verschleiert wird^{136,137}. Die Kreatininreduktionsrate (CRR) zeigt zwar gute diagnostische Eigenschaften für die perioperative AKI, erweist sich jedoch als insuffizienter langfristiger Prognosemarker. Ebenso weist das zweite Kriterium der AKI-Diagnostik, die Urinausscheidung pro Zeit, substanzielle Limitationen auf. Faktoren wie Volumenstatus, perioperative Flüssigkeitszufuhr, Diuretikatherapie, Adhärenz an definierte Messintervalle, Vulnerabilität gegenüber CPB-induzierten Alterationen des Urinmetabolismus (gesteigerter Tryptophan-Stoffwechsel und reduzierte Fettsäure-Oxidation) und intraoperative venöse Stauungsphänomene repräsentieren potenzielle Störvariablen^{138–141}.

1.4.3 Diagnose des postoperativen Vorhofflimmerns

Postoperatives Vorhofflimmern (*Postoperative Atrial Fibrillation* – POAF) repräsentiert die häufigste Organdysfunktion nach kardiochirurgischen Eingriffen^{83,83,85,87}. AF, paroxysmal, persistierend oder permanent, stellt eine supraventrikuläre Arrhythmie mit unkoordinierter atrialer Aktivierung dar, die zu einem Verlust der effektiven Vorhofkontraktion, dem Fehlen erkennbarer und regelmäßiger P-Wellen und einer unregelmäßigen Aktivierung der Ventrikel führt. Der gegenwärtige Goldstandard in der Diagnostik einer POAF ist weiterhin die EKG-Analyse, auch in Einzelableitungen¹⁴². Langzeitüberwachungen verbessern die Effektivität der EKG-Diagnostik, speziell bei Fällen von asymptomatischem POAF¹⁴³.

Interessanterweise identifizierte die kontinuierliche EKG-Überwachung mehr AF-Episoden als intermittierende Untersuchungen oder singuläre 12-Kanal-EKG. Untersuchungen an Computer-gestützten Testinstrumenten deuten darauf hin, dass deren Einsatz in einer Diagnoseoptimierung der POAF resultiert^{144,145}. Dennoch besteht gegenwärtig eine erhebliche Heterogenität bei den angewendeten Methoden zur POAF-Erkennung, die von Telemetrie auf der Intensivstation bis zur Entlassung, Telemetrie für einige Tage, singulärer 12-Kanal-EKG-Analytik am Tag der Entlassung oder bei Auftreten von Symptomen, täglichen 12-Kanal-EKG bis zur Entlassung oder kontinuierliche EKG-Überwachung mit Pflastern/*Wearables*/Schleifenrekordern über einen begrenzten Zeitraum reicht¹⁴⁶. Studien zur Prädiktion identifizierten diverse Faktoren im Bereich der echokardiografischen^{92,93,101,102} und Biomarker-basierten Analytik^{98,99,104–108,147}, welche mit der POAF-Inzidenz vergesellschaftet waren. Inhomogene Patientenkohorten, chirurgische Prozeduren und Einsatz eines CPB erschweren die Diskussion von Kausalzusammenhängen und der Übertragbarkeit der Ergebnisse. Genetische Analysen zur Risikostratifikation konnten mit der Inzidenz einer POAF assoziiert werden, stellen gegenwärtig aber kein breit anwendbares prädiktives Instrument dar^{103,148}. Klinisch validierte und multimodale Risikoscore-Analyse-Systeme sind. POAF-Score und CHA2DS2-VASc-Score dar, welche über Patienten-assoziierte und Prozedur-assoziierte Faktoren prädiktive Informationen für eine POAF generieren^{149,150}. Sowohl der POAF-Score als auch der CHA2DS2-VASc-Score weisen Limitationen nach kardiochirurgischen Eingriffen auf.

Der POAF-Score berücksichtigt primär präoperative Risikofaktoren, vernachlässigt jedoch intraoperative Variablen sowie dynamische perioperative Veränderungen, darüber hinaus fehlt die Integration neuerer etablierter Risikofaktoren und Biomarker. Die Validierung an selektierten chirurgischen Populationen limitiert möglicherweise seine generelle Anwendbarkeit¹⁵⁰. Der CHA2DS2-VASc-Score wurde ursprünglich für die Evaluation des Apoplexrisikos bei nicht-chirurgischen Patienten mit AF entwickelt. Seine Anwendung im postoperativen kardiochirurgischen Kontext stellt eine erhebliche kontextuelle Diskrepanz dar, da er weder operations-spezifische Risikofaktoren noch die akute inflammatorische Reaktion auf den chirurgischen Eingriff berücksichtigt. Der Score inkludiert chronische Konditionen, während dynamische und operations-induzierte Risikofaktoren, analog zum POAF-Score, nicht berücksichtigt werden¹⁴⁹.

1.5 Biomarker

1.5.1 Biomarker der initialen Immunantwort nach Eingriffen an der Herz-Lungen-Maschine

Kardiochirurgische Interventionen unter Einsatz eines CPB induzieren eine komplexe systemische inflammatorische Reaktion, die sich in Alterationen multipler Biomarker manifestieren kann. Die quantitative und qualitative Analyse dieser molekularen Indikatoren ermöglicht die Evaluation potentieller Assoziationen zwischen inflammatorischer Antwort und organspezifischen Dysfunktionen. Die kardiochirurgische Biomarkerforschung fokussiert seit Dekaden auf die Identifikation und klinische Implementation spezifischer und sensitiver Parameter, die eine suffiziente Resistenz gegenüber konfundierenden Variablen aufweisen. Ein zentrales Ziel der Biomarkeranalytik ist die Identifikation prädiktiver Parameter, die eine frühzeitige Detektion organspezifischer Dysfunktionen ermöglichen. Prognostischen Indikatoren könnten eine Optimierung operativer, pharmakologischer und perfusionistischer Strategien mit dem Ziel der Verbesserung klinischer Endpunkte und der Minimierung perioperativer Komplikationen ermöglichen bzw. diese beeinflussen. Die Evaluation von Biomarker-Alterationen und deren Korrelation mit klinischen Outcomevariablen konstituiert daher ein wichtiges Forschungsfeld in der Entwicklung präventiver und therapeutischer Algorithmen¹¹⁵. Da ein Biomarker idealerweise potentielle Komplikationen frühzeitig identifizieren soll, konzentrierte sich die Forschungsbemühungen auf Signalkaskaden der frühen Immunantwort. Im Folgenden sollen bekannte Biomarker im Kontext ihrer physiologischen Funktion in dieser initialen Immunantwort und von kardiochirurgischen Operationen sowie deren Limitationen und Möglichkeiten diskutiert werden.

1.5.1.1 Komplementsystem

Der Kontakt des Patientenblutes mit der Fremdoberfläche der extrakorporalen Zirkulation des CPB resultiert in einer Aktivierung des Kontaktsystems¹⁵¹. Erhöhte Komplementaktivierungsmarker, einschließlich C3a, C5a und SC5b-9, wurden während und nach CPB beobachtet^{152,153}. Die Komplementaktivierung kann über den klassischen, den alternativen oder den Lektin-Weg erfolgen, die alle zur Bildung von C3-Konvertase führen, einem enzymatischen Komplex¹⁵⁴. Primär erfolgt die Aktivierung des Komplementsystems bei Operationen mit CPB über den alternativen Weg. Den extrakorpora-

len Oberflächen des CPB fehlen im Gegensatz zum Endothel Inhibitoren des Komplementsystems. Diese limitieren die Aktivierung des Cofaktors C3. Die Kontaktaktivierung führt zusammen mit dem Stimulus von Kallikrein zur Bildung der Anaphylotoxine C3a und C5a mit anaphylaktischer und chemotaktischer Wirkung¹⁵². Neben der geschilderten Kontaktaktivierung kann es auch zur Aktivierung der klassischen Komplementfaktoren C4 und C2 kommen. C4 und C2 werden jedoch spezifisch durch Heparin-Protamin-Komplexe induziert⁸⁶. Die Aktivität der Komplementanaphylotoxine wird durch den Komplementrezeptor Typ 1 vermittelt, ein Transmembranglykoprotein, welches auf Leukozyten exprimiert wird¹⁵⁵.

Das Komplementsystem und dessen Beeinflussung im Kontext von kardiochirurgischen Eingriffen unter CPB wurden mit Induktionsprozessen der inflammatorischen systemischen Reaktion in der akut- und subakut-Phase nach CPB^{86,152} und dem Auftreten von Organdysfunktionen (postoperatives Vorhofflimmern⁸⁶) assoziiert. CABG-Operationen, welche *off-pump* erfolgten wiesen eine komplette Elimination der CPB-induzierten Komplementaktivierung auf¹², was den Einfluss dieses technischen Verfahrens und seiner methodenimmanenten inflammatorischen Aktivierungspotenziale verdeutlicht.

1.5.1.2 Zytokine

Zytokine stellen interzelluläre Botenmoleküle dar, welche durch unterschiedliche Zellpopulationen, als Reaktion auf differente Stimuli, synthetisiert werden. Die primären Zytokinproduzenten stellen T-Helferzellen und Makrophagen dar, periphere Nervengewebe während physiologischer und pathologischer Prozesse, Mastzellen, Endothelzellen und Schwann-Zellen sind ebenfalls in der Lage eine Cytokinsynthese durchzuführen¹⁵⁶. Diese verschiedenen Zelltypen können identische Zytokine sezernieren. Zytokine können autokrine, parakrine, endokrine und kombinierte Wirkungen und synergistische oder antagonistische Interaktionen mit anderen Zytokinen aufweisen. Bekannt sind ebenfalls Wirkungen einzelner Zytokine auf mehrere unterschiedlichen Zelltypen (Pleiotropie). Zytokine sind in ihrer Aktivität redundant¹⁵⁶. In der Literatur werden häufig pro- und anti-inflammatorische Zytokine beschrieben. „Klassische“ pro-inflammatorische Zytokine sind die Interleukine (IL) (IL-1, IL-2, IL-12, IL-17, IL-18), Interferone (IFN- γ) und Tumor-Nekrose-Faktor (TNF- α), wobei gegenwärtig IL-

1, IL-6 und TNF- α als am relevantesten angesehen werden. Diese Zytokine signalisieren über Zytokinrezeptoren vom Typ I, die sich strukturell von anderen Zytokinrezeptortypen unterscheiden. Sie sind entscheidend für die Koordinierung der zellvermittelten Immunreaktion und spielen eine entscheidende Rolle bei der Modulation des Immunsystems¹⁵⁷. Dem gegenüber werden „klassisch“ primär anti-inflammatorischen Zytokine wie IL-1-Rezeptor-Antagonist, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-12 und IL-13, IL-22, IL-37, IL-38 und *Transforming-Growth-Factor*- β gestellt. Spezifische Zytokinrezeptoren für IL-1, Tumor-Nekrose-Faktor-alpha und IL-18 fungieren ebenfalls als proinflammatorische Zytokininhibitoren^{157,158}.

Diese klassische Form der direkten Gegenüberstellung zwischen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen ist nicht korrekt und zu einfach. Zahlreiche Beispiele belegen, dass sich ein bestimmtes Zytokin sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Reaktionen provozieren kann. Die Menge, die Art der Zielzelle, die Art des aktivierenden Signals, die Art der produzierten Zytokine, der Zeitpunkt und die Abfolge der Zytokinwirkung und sogar das Versuchsmodell sind Parameter, die die Eigenschaften von Zytokinen stark beeinflussen¹⁵⁹.

Diese Problematik besteht ebenfalls im Zusammenhang mit kardiochirurgischen Operationen unter Anwendung eines CPB, welche in einer systemischen Aktivierung Zytokin-assoziiierter Regulationsmechanismen resultiert und deren klinischen Nutzen beeinflusst. Die postoperative Kinetik im nach dem CPB differieren zwischen durchgeführter Art der Operation als auch dem betrachteten Zytokin^{160–162}. Weiterführend resultiert die Liberation von Zytokinen, im kardiochirurgischen Kontext, nicht in einer einheitlichen inflammatorischen Reaktion. Die Liberation betrachteter Zytokine weist neben konzentrations- und zeitabhängigen Alterationen, abhängig vom aktivierenden Signal, auch variable pro- und/oder antiinflammatorische Potenziale auf¹⁵⁹. Klinisch betrachtet ist die Anwendung von singulären Zytokinen als Biomarker komplex und weist eine limitierte Robustheit gegenüber prozeduralen und patientenspezifischen Faktoren auf, auch wenn Alterationen von Zytokinkonzentrationen mit Organdysfunktionen assoziiert werden konnten^{161,163,164}.

1.5.1.3 Endotoxinliberation

Endotoxin oder Lipopolysaccharid (LPS) ist ein wichtiger Bestandteil der Zellmembran von gramnegativen Bakterien¹⁶⁵. Die Hypothese zur Endotoxinliberation basiert auf der

Translokation von kommensalen Darmmikroben oder Lipopolysachardifragmenten über die intestinale mucosale Barriere während der extrakorporalen Zirkulation¹⁶⁶. Die Prävalenz der Endotoxämie wird bei CABG- Patienten auf bis zu 100 % geschätzt, bei sehr inhomogener Studienlage^{167,168}. Mehrere therapeutische Strategien zur Minimierung oder Behandlung der Endotoxämie als Folge des CPB, einschließlich selektiver Darmdekontamination, pulsatilen CPB-Systemen und LPS-Rezeptor-Inhibitoren, wurden bei Patienten ohne Erfolg eingesetzt^{162,169,170}. Aktuelle Studien wiesen hohe Endotoxinkonzentrationen in einem geringeren Grad bei CABG-OPs auf als früher dokumentiert¹⁶⁵. Klein et al. geben trotz niedrigerer Prävalenz an, dass eine Endotoxämie mit einem deutlich erhöhten Risiko für die Entwicklung einer postoperativen Infektion verbunden ist. Endotoxinkonzentration im Zusammenhang mit *on-pump* Kardiochirurgie weisen betonte Konzentrationsvariabilität ohne Korrelation mit evaluierten inflammatorischen oder prädiktiven Biomarkern auf¹⁷¹ bei gegenwärtig fehlender Korrelation mit klinischen Outcomevariablen. Diese Limitationen reduzieren die Anwendbarkeit von Endotoxin als prädiktiven Biomarker in der *on-pump* Kardiochirurgie.

1.5.1.4 Stickstoffmonoxid (NO)

Stickstoffmonoxid (NO) und reaktive Sauerstoffspezies weisen multiple modulierende Effekte auf inflammatorische Prozesse auf und spielen eine Schlüsselrolle bei der Regulierung von Immunreaktionen. Sie beeinflussen annähernd jeden Schritt in der Entwicklung einer Inflammation. Niedrige Konzentrationen von NO, die von konstitutiven und neuronalen NO-Synthasen produziert werden, hemmen die Expression von Adhäsionsmolekülen, die Synthese von Zytokinen und Chemokinen sowie die Adhäsion und Transmigration von Leukozyten¹⁷². Es bestehen Hinweise darauf, dass eine NO-Supprimierung durch Anwendung eines CPB resultiert und die Substitution des NO-Vorläufers L-Arginin während der Operation die NO-Bioverfügbarkeit verbessern kann, mit resultierender Verbesserung der kardialen Funktion¹⁷³.

Studienergebnisse zeigen, dass Plasma-NO (Nitrat/Nitrit) als Biomarker für die durch CPB induzierte Inflammation geringgradig geeignet ist. Trotz bekannter Assoziationen zwischen Inflammation und NO besteht eine verzögerte Expression der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase, deren Aktivierung erst 3 – 20 Stunden nach dem Entzündungsreiz erfolgt. Eine methodische Limitationen besteht bei der NOx-Messung, da

Nitrat hauptsächlich im extrazellulären Flüssigkeitsvolumen und nicht im Plasma verteilt ist, sowie die Tatsache, dass die CPB-assoziierte Entzündungsreaktion nicht-infektiöser Natur ist, während erhöhte NOx-Spiegel vorwiegend bei infektiösem SIRS beobachtet werden^{174,175}.

Die oben dargestellten Signalkaskaden und die daraus resultierenden Biomarker aus der initialen Phase der CPB-induzierten Immunantwort weisen heterogene Limitationen hinsichtlich ihrer Prädiktion von Komplikationen auf. Bisher konnte sich keiner dieser Biomarker entsprechend im klinischen Alltag durchsetzen, so dass weiterhin ein Bedarf an gegenüber prozess- und patientenbedingten Einflussfaktoren robusten und prädiktiven Biomarkern für die Identifikation der oben genannten Komplikationen in der Herzchirurgie steht. Im folgenden Kapitel werden Biomarker vorgestellt, die im Kontext der Herzchirurgie bisher nur im geringen Maße evaluiert wurden, von denen aber auf Grund ihrer physiologischen Funktion das Potential eines diskriminativen Biomarkers für die Identifikation von Komplikationen nach herzchirurgischen Eingriffen mit CPB angenommen werden kann.

1.5.2 Potentielle Zielbiomarker für die Identifikation von Komplikationen nach herzchirurgischen Eingriffen unter dem Einsatz der Herz-Lungen-Maschine

1.5.2.1 Interleukin-1 β und α 1-Antitrypsin

IL-1 β ist von zentraler Relevanz für die Pathogenese von chirurgisch bedingten Inflammationen. Die experimentelle intravenöse Injektion von IL-1 β beim Menschen induziert nahezu alle Symptome, welche mit einer systemischen Inflammation assoziiert sind¹⁷⁶. IL-1 β ist physiologisch im Kontext der Infektionsabwehr relevant und wirkt präventiv gegenüber dem Progress einer sterilen Inflammation zur Sepsis¹⁷⁷. Die Sekretion von IL-1 β hängt oft vom konsekutiven Auftreten zweier *Danger Associated Molecular Patterns* (DAMPs) ab. Typischerweise ist das erste Signal ein Toll-Like-Rezeptor (TLR)-Ligand, welcher die Expression von pro-IL-1 β und den Inflammasom-Komponenten induziert. Im Zusammenhang mit dem Auftreten unterschiedlicher Formen von Traumata oder Ischämie-Reperfusions-Reaktionen wird Zytoplasma aus geschädigten Zellen nach extrazellulär ausgeschüttet, was in einer ausgeprägten Zunahme der extrazelluläre ATP-Konzentration resultieren kann¹⁷⁸. ATP fungiert als *Second Messenger*, welcher über Kaskaden die Bildung des Inflammasoms induziert, was in der Endstrecke des Prozesses in der Spaltung von pro-IL-1 β und raschen Liberation von IL-1 β

resultiert. Diese Reaktion kann im Kontext von kardiochirurgischen Operationen im pädiatrischen und adulten Patientenbereich beobachten werden^{114,160,179,180}.

Der Serinproteaseinhibitor α 1-Antitrypsin (AAT) ist Teil des körpereigenen inflammatorischen Kontrollsystems, welcher der IL-1 β -Kaskade entgegenwirkt¹⁸¹. Neben Protease-Inaktivierungsprozessen^{182,183}, weist AAT Sauerstoffradikal-Scavenger-Potenzial auf^{184,185}. Tiermodellstudien beschreiben protektive Effekte von AAT im Zusammenhang mit Ischämie-Reperfusionsschäden, TNF- α /Endotoxin-induzierter Letalität und weist antibakterielle Wirkungen auf, welche Relevanz im Zusammenhang mit kardiochirurgischen Interventionen unter CPB aufweisen^{186–188}. Ein weiterer interessanter Aspekt, ist die koregulierende Komponente in Bezug auf die Expression von Zytokinen wie IL-8, Chemotaxis und Zelladhäsionsprozessen^{189,190}. Es reduziert die Expression des TLR 4 und von proinflammatorischen Zytokinen (IL-1, TNF- α) und erhöht die Expression von antiinflammatorischen Mediatoren wie IL-10 und IL-1-Rezeptor-Antagonist¹⁹¹.

Die Signalübertragung von AAT erfolgt über den *Scavenger*-Rezeptor CD36, Aktivierung der Phospholipase A2 β und die Freisetzung eines noch nicht identifizierten cholinergen Faktors mit niedriger Molekülmasse. Dieser Faktor fungiert als nikotinischer Agonist, der eine metabotrope Signalübertragung an monozytären nikotinischen Acetylcholinrezeptoren induziert und den P2X7R hemmt. Dadurch wird die ATP-vermittelte Induktion der NLRP3 (*NACHT, LRR and PYD Domainscontaining Protein 3*) Inflammasom-Assemblierung beeinträchtigt, und somit,

IL-1 β -Reifung und -Freisetzung drastisch reduziert werden¹⁹². Erhöhte postoperative AAT-Werte korrelierten mit einem erhöhten Risiko für schwergradige AKI und einem prolongierten Krankenhausaufenthalt nach kardiochirurgischen Interventionen, was auf sein Potenzial als prädiktiver Biomarker für postoperative Komplikationen hinweist¹⁹³.

1.5.2.2 Cholinerges System (Acetylcholinesterase und Butyrylcholinesterase)

Cholinerge, neuronale, nicht-neuronale und immunologische Interaktionen sind an der endogenen Reaktion auf sterile und nicht-sterile Entzündungen beteiligt. Das neuronale und nicht-neuronale cholinerge System spielt eine zentrale Rolle bei der neurologischen und immunologischen Signaltransduktion, in der bidirektionalen Kommunikation zwischen zentralen und peripheren neuronalen Regulationskreisen, Immunzellen

und Zytokinen, neuro-endokrinen Hormonsystemen, dem Darmmikrobiom und dessen Metaboliten¹⁹⁴.

Aufgrund des bidirektionalen Austauschs zwischen zentralem Nervensystem und peripheren neuronalen Schaltkreisen kann die cholinerge Homöostase durch immunologische und entzündliche Stressoren im Zusammenhang mit chirurgischen Eingriffen unter extrakorporaler Zirkulation gestört werden^{195,196}.

Cholinerge antiinflammatorische Regulationsprozesse werden durch den Neurotransmitter Acetylcholin (ACh) vermittelt, welcher eine direkte hemmende Wirkung auf die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen aufweist¹⁹⁶. Die Stimulierung des α -7 nAChR (nikotinischer cholinergischer Rezeptor) durch neuronales oder nicht-neuronales ACh inhibiert die Freisetzung pro-inflammatorischer Mediatoren aus Immunzellen über einen cholinergen Weg, der als „anti-inflammatorischer nicht-neuronaler cholinergischer Pathway“ bezeichnet wird^{195,197}. Zentrale regulative Enzyme in diesem Kontext stellen die Acetylcholin- und Butyrylcholinesterase (AChE, BChE) dar. Acetylcholinesterase ist eine spezifische Cholinesterase, die vor allem Cholinester hydrolysiert, und zeichnet sich durch hohe Konzentrationen in Gehirn, Nerven und roten Blutkörperchen aus. Butyrylcholinesterase ist eine unspezifische Cholinesterase (auch Pseudo-Cholinesterase), die neben Cholinestern auch andere Ester hydrolysiert und im Blutserum, in der Bauchspeicheldrüse, in der Leber und im zentralen Nervensystem vorkommt. Neben der neuronalen Liberation von Acetylcholin- und Butyrylcholinesterase, sind auch andere Gewebe in der Lage non-neuronal in die das cholinerge System und dessen Regulation einzugreifen. Alterationen der Aktivitäten der ChE-Subtypen, AChE und BChE, unterscheiden sich abhängig von einer sterilen oder nicht-sterilen Inflammation. Eine akute Abnahme der BChE-Aktivität wurde als physiologische Reaktion auf sterile Entzündungen nach Operationen und Traumata beschrieben, während eine verzögerte Abnahme der BChE-Aktivität als Reaktion auf eine Sepsis beschrieben wurde^{198–200}. Im Gegensatz dazu wird die AChE-Aktivität als Teil der antimikrobiellen Immunantwort herunterreguliert und kann in diesem Kontext regulativen Einfluss auf die Kontrolle einer bakteriellen Vermehrung nehmen^{201,202}. Der Einsatz des CPB resultiert in einer ausgeprägten Affektion des cholinergen Systems. Die Cholinesteraseaktivität fällt nach Initiierung des CPB um ca. 60 %, mit einer Persistenz dieser Aktivitätsreduktion von bis sieben Tagen post-CPB. Shearer et al. berichten, dass das Aktivitätsniveau der Cholinesterase präoperativ erst sechs Wochen nach Einsatz des CPB annähernd wieder erreicht wurde²⁰³. Yang et al.²⁰⁴ beobachteten analoge Ergebnisse in

einer kardiochirurgischen Kohorte unter CPB, in welcher die Serum-Cholinesteraseaktivität bei SIRS-Patienten nach CPB signifikant vermindert war und der Abfall der Aktivität mit dem Schweregrad der SIRS nach CBP und einem Anstieg der Zytokine assoziiert war. Veränderungen der Cholinesteraseaktivität im kardiochirurgischen Kontext konnten mit Multiorganversagen, Delir und weiteren klinischen Outcomeparametern assoziiert werden^{17,204–206}.

1.5.2.3 Freie zirkulierende mitochondriale Desoxyribonukleinsäure

Mitochondriale Desoxyribonukleinsäure (mtDNA) konnte wiederholt als DAMP identifiziert werden und ist eng mit der Aktivierung der initialen Inflammations- und Gerinnungsantwort verbunden^{207,208}. Während der kardiochirurgischer Eingriffe aktiviert mtDNA den *TLR 9*, welcher eine zentrale Rolle in der Aktivierung von Neutrophilen und Thrombozyten spielt^{147,209,210}. Der TLR-9 wird von verschiedenen Zellen, wie dem Endothel und Neutrophilen freigesetzt und ist somit Teil der angeborenen Immunantwort. Darüber hinaus trägt mtDNA zur Bildung von *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs) bei^{207,208}. Aufgrund ihrer umfassenden physiologischen Funktion bei Inflamationsprozessen wurden erhöhte mtDNA-Spiegel bereits mit Sepsis, Trauma und tumorösen Erkrankungen in Verbindung gebracht^{207,211,212}. Herzchirurgische Patienten, welche eine systemischen Entzündungsreaktion aufwiesen, zeigten additiv erhöhte mtDNA-Konzentration im peripheren Blut, was mit einer höheren Inzidenz von POAF in Verbindung gebracht werden konnte^{147,213,214}.

Neben beobachteten Alterationen der mtDNA-Konzentration durch eine systemische Inflammationsreaktion, beeinflussen oxidativer Stress und Ischämie-Reperfusionsschäden die Zellintegrität und somit die mtDNA-Freisetzung aus Mitochondrien^{147,214,215}. Interessant sind neben den genannten Assoziationen der Inflammation und Zellschädigung klinisch auch der Aspekt der mitochondrialen Funktion und deren Protektion zur Protektion der kardialen-myozytären Funktion. Die Untersuchung und Identifikation von Alterationen der mtDNA-Konzentrationen während *on-pump* CABG als Prognosetool ist daher hochgradig interessant und kann möglicherweise genutzt werden, inflammatorische und zellschädigende Komponenten der interdisziplinären Versorgung zu modifizieren und damit Organdysfunktionen und mitochondriale Dysfunktion zu limitieren.

1.5.2.4 Soluble Delta-Like Protein 1 (sDLL1)

Die Notch-Signaltransduktion stellt einen bekannten immunmodulatorischen Transduktionspfad dar, welcher Einfluss auf die Homöostase und Differenzierung von Immunzellen nimmt. Funktionen der Notch-Signalübertragung im Immunsystem sind die Differenzierung der lymphoiden T- und B-Zelllinien, sowie die Aktivierung von T-Zellen, die Beeinflussung der Funktion regulatorischer T-Zellen und die Differenzierung von T-Helferzellen^{216,217}. Neben den multiplen, zellulären immunmodulatorischen Wirkungen der Notch-Signaltransduktion, konnten verschiedene Effekte im Rahmen inflammatorischer Prozesse nachgewiesen werden. Die Notch-Signaltransduktion ist nicht isoliert pro- oder antiinflammatorisch, sondern abhängig vom Immunzelltyp und der zellulären Umgebung. Zu den beeinflussten inflammatorischen Zuständen zählt auch die Sepsis^{218–220}. Notch-Liganden wie soluble delta-like 1 (DLL1), Teil der Delta/Jagged Familie transmembranöser Proteine, können eine zelluläre Immunreaktionen über den Notch-Signalweg aktivieren, was zur Freisetzung proinflammatorischer Zytokine führt²¹⁹. sDLL1 kann außerdem Endothelschädigungen mitbeeinflussen, die in einem Verlust der Barrierefunktion resultieren²²¹. Studien sDLL1 im Zusammenhang mit kardiochirurgischen Operationen sind gegenwärtig nicht verfügbar. Untersuchungen an Patienten mit Zustand nach Herztransplantation und kardialer Allograft-Vaskulopathie weisen darauf hin, dass sDLL1 eine kardiale Notch-Liganden-Achse zu vermuten ist und geben Hinweise darauf, dass es eine Rolle bei der Progression von kardialer Allograft-Vaskulopathie spielt und eine sDLL1-Aktivitätssuppression eine positive Wirkung auf den Progress der Vaskulopathie aufweist²²². Vergleichende Untersuchungen an septischen und nicht septischen allgemeinchirurgischen oder kardiochirurgischen Patienten konnten divergierende Konzentrationen zwischen den Gruppen nachweisen. Die Plasmakonzentration von sDLL waren in der kardiochirurgischen Gruppe unter CPB unmittelbar postoperativ erhöht und stiegen in den ersten 24 postoperativen Stunden an, während dieser Effekt in den septischen und nicht septischen allgemeinchirurgischen Patienten nicht beobachtet werden konnte²²⁰, was eine Beeinflussung durch die kardiochirurgische Operation und begleitende Faktoren wie CPB als mögliche Ursache in Betracht ziehen lässt.

1.5.2.5 Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR)

Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) findet sich im Blut (Plasma, Serum^{223,224}) sowie in anderen Körperflüssigkeiten und stellt die lösliche Form des membrangebundenen uPAR dar. Bei Expression auf der Zellmembran fungiert uPAR als zentraler Mediator der Plasminogenaktivierung und Fibrinolyse und ist durch Regulation des extrazellulären Matrix-Abbaus an diversen essentiellen zellulären Prozessen beteiligt. In dieser Funktion moduliert uPAR Proliferation, Migration, Adhäsion, Angiogenese sowie Entzündungsreaktionen²²⁵. Die proteolytische Spaltung von uPAR führt zur Freisetzung der löslichen Form suPAR in die Blutbahn. Die suPAR-Freisetzung aus Immunzellen wird durch inflammatorische Stimuli verstärkt; daher können suPAR-Konzentrationen als Indikator für die individuelle Inflammations- und Immunaktivierung angesehen werden²²⁶. Dies wird durch eine positive Korrelation zwischen suPAR und diversen Inflammationssmarkern belegt^{227–229}. Die Integration in Gerinnungs- und inflammatorische Kaskaden, welche zentrale Ursachen von resultierenden Organdysfunktionen nach kardiochirurgischen Operationen unter CPB darstellen (s. 1.3.2 und 1.3.3), macht suPAR daher zu einem interessanten Biomarker in diesem Bereich. Erhöhte suPAR-Spiegel konnten bereits signifikant mit einer Reduktion der Nierenfunktion korreliert werden²³⁰ und die Integration von suPAR in ein Nomogram-Modell bei *on-pump* Kardiochirurgie resultierte in einem prädiktiven Modell mit einer AUC von 0,817 (95 % CI 0,726 – 0,907)²³¹ für AKI in einer kardiochirurgischen Kohorte. Während erhöhte suPAR-Konzentrationen bereits mit einer gesteigerten Langzeitmortalität nach kardiochirurgischen Eingriffen assoziiert wurden²³². Die gleiche Arbeitsgruppe um Koller et al. zeigte, dass ein suPAR-inkludierender Biomarker-Score (Parameter: Alter, suPAR und *N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide*) eine exzellente Prädiktion bezüglich der Ein-Jahres-Mortalität und Hospitalisationen aufgrund von Herzversagen aufwies.

Die prognostische Relevanz für andere unerwünschte Outcomevariablen, wie nosokomiale Infektionen oder postoperative Delir, wurde bisher nicht ausreichend untersucht. Darüber hinaus wurde der potenzielle Einfluss unterschiedlicher CPB-Systeme auf die suPAR-Kinetik und deren konsekutive Auswirkung auf die Prognosefähigkeit gegenüber Organdysfunktionen nicht systematisch untersucht.

1.6 Organprotektive Strategien

Die Stimulation einer inflammatorischen Akute-Phase-Reaktion im Zusammenhang mit *on-pump* Kardiochirurgie kann Störungen der Homöostase und Organdysfunktionen mit Verschlechterung des kurzfristigen und langfristigen Patientenoutcomes provozieren. Nur 65 % konventioneller CABG-Operationen unter CPB sind nicht mit Komplikationen assoziiert²³³. Um diese negativen Effekte zu minimieren, wurden unterschiedliche Modifikations- und Therapieansätze entwickelt.

1.6.1 Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting

Die Identifikation der zentralen Rolle des CPB im Kontext der Aktivierung der Akute-Phase-Reaktion initiierte die Diskussion über Möglichkeiten, den Einsatz des CPB zu limitieren und selektierte Eingriffe ohne diesen durchzuführen, um Faktoren wie Kardioplegie, globale/kardiopulmonale Ischämie-Reperfusionsschäden, Hypothermie und intraoperative Retransfusion von unverarbeitetem Kardiotomie-Blut und deren negative synergistische Effekte zu vermeiden. Mitte der 1990er Jahre führten technische Innovationen, die eine Stabilisierung des schlagenden Herzens ermöglichten, zu einem erneuten Interesse an *off-pump* Revaskularisationen, gefolgt von einem dramatischen Anstieg der durchgeführten *off-pump* Verfahren. Auf dem Höhepunkt im Jahr 2002 wurden fast 25 % aller Koronararterien-Bypass-Operationen in den USA *off-pump* durchgeführt²³⁴. Die Betrachtung der DGHTG-Leistungstatistik 2009 – 2023 zeigte in Deutschland nur eine geringe Zunahme der *off-pump* CABG über diese 14-Jahresperiode (Abb. 2).

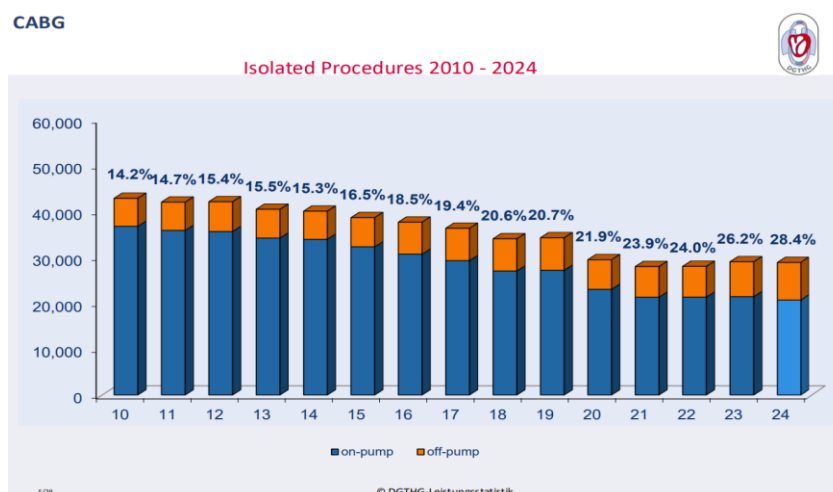


Abb. 2: Leistungsstatistik 2009 – 2024 isolierter CABG-Operationen der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie²³⁵

Ursächlich für den Rückgang der Anwendung von *off-pump* Verfahrens seit 2002 und der anschließenden Stagnation können inhomogene Studienergebnisse und Limitationen des Verfahrens sein. In einer Cochrane-Review aus dem Jahr 2012 mit 86 RCTs zu *off-pump* CABG vs. cCPB-CABG wurden nur zehn Studien mit einem geringem Bias-Risiko eingestuft. Diese Meta-Analyse beschreibt, dass der *off-pump* CABG gegenüber dem *on-pump* cCABG keinen Vorteil in Bezug auf Mortalität, Apoplex- oder Myokardinfarkinzidenz aufweist²³⁶. Eine aktuellere Übersichtsarbeit beschreibt *off-pump* CABG in selektierten Patientengruppen mit einem geringen Ausgangsrisiko für perioperative Komplikationen oder für Patienten, die keine signifikante zirkumflexbasierte KHK aufweisen, als sichere Alternative gegenüber cCPB CABG. Das Verfahren ist jedoch technisch anspruchsvoll und bietet im Vergleich zur CABG keine langfristigen Vorteile in Bezug auf die klinische Outcomeparameter, wobei ein reduzierter Transfusionsbedarf und reduzierte assoziierte Krankenhausverweildauern imponiert. Zusammenfassend müssen die Vorteile des Verfahren jedoch kritisch einer ineffektiven Revaskularisierung^{237,238} gegenüber gestellt werden²³⁹. Auf Biomarkerebene wurden in Zusammenhang mit der Anwendung von *off-pump* CABG versus *on-pump* CABG niedrigere Konzentrationen von Zytokinen, Interleukinen, Endotoxin, myokardialen Gewebemarkern, geringere Aktivierung zirkulierender Neutrophiler und eine reduzierte Aktivierung des Komplementsystems beschrieben^{12,161,240,241}.

1.6.2 Minimalisierte extrakorporale Zirkulation (MiECC) vs. konventioneller CPB (cCPB)

MiECC-Systeme wurden entwickelt, um die negativen Auswirkungen des konventionellen CPB (*Conventional Cardiopulmonary Bypass*, cCPB) zu reduzieren, welche auf Blut-Material- und Blut-Luft-Interaktionen zurückgeführt wurden. Hintergrund der Entwicklung miniaturisierter extrakorporaler Kreislaufsysteme ist der Bedarf an einem kardiochirurgischen (*Extracorporeal Circulation*, ECC)-Konzept, das Blutbestandteile weniger mit Fremdoberflächen in Kontakt bringt und traumatisiert sowie Volumenverschiebungen und Blasenbildung während des Bypasses limitiert. Typ III und IV MiECC-Systeme verfügen über einen vollständig geschlossenen Kreislauf, eine Zentrifugalpumpe, reduziertes Priming-Volumen, niedrigvolumige Kardioplegie, reduzierte und biokompatible Oberflächen, einen Membranoxygenator, einen Wärmetauscher, einen venöser Luftentferner und eine zellsparende Vorrichtung zur Aufbereitung und Retransfusion von Patientenblut^{29,242}. Gegenwärtig ist die Evidenz bezüglich der MiECC-

Anwendung in Bezug auf die inflammatorische Patientenantwort inhomogen, mit Ergebnissen, welche eine signifikante inflammatorische Abschwächung^{28,243–245} und gegenteilige Resultate^{27,246,247} präsentieren. Klinisch wurde wiederholt der organoprotektive Effekt von MiECC-Systemen beschrieben. Eine randomisierte kontrollierte Studie von Remadi et al.²⁴² untersuchte postoperative Komplikationen bei 400 Patienten, die MiECC im Vergleich zu cCPB verwendeten. Sie beschreiben eine signifikant niedrigere Inzidenz von POAF, schwerer AKI und fokalen neurologischen Komplikationen in der MiECC-Gruppe im Vergleich zur cCPB-Gruppe.

Wiesenack et al.²⁴⁷ beschrieben analoge Ergebnisse in einer retrospektiven Kohortenstudie mit 970 Patienten, mit einer geringeren Inzidenz von Myokardinfarkten, Apoplexien, POAF und AKI.

2. Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Kardiochirurgische Operationen unter Anwendung eines CPB initiieren in unterschiedlicher Ausprägung eine Akute-Phase-Reaktion, welche in einer Beeinträchtigung unterschiedlicher Organsysteme resultieren kann. Die Inzidenz einer klinisch apparenten Organdysfunktion variiert abhängig vom betrachteten Kollektiv, der durchgeführten Operation und prozeduralen Modifikationen. Trotz medizinischem Fortschritt und der Anwendung moderner diagnostischer und therapeutischer Verfahren im Bereich der *on-pump* Kardiochirurgie persistiert die Inzidenz neurologisch-neuropsychologischer, renaler und arrhythmogener Komplikationen. Eine frühzeitige Identifikation von Risikopatienten steht seit Jahrzehnten im Fokus der Forschung, um prophylaktische oder therapeutische Strategien zur Optimierung der Patientenversorgung zu initiieren und etablieren.

Wie im Rahmen der Einleitung beschrieben, resultiert die Affektion der genannten Organsysteme in einer signifikanten Beeinflussung von Morbidität, Mortalität und Gesundheitssystemkosten. Neben dem Aspekt der resultierenden Organdysfunktion verursacht die systemische inflammatorische Antwort der Patienten im Rahmen der Akute-Phase-Reaktion eine Alteration zellulärer und subzellulärer Biomarker. Bisher konnte kein idealer Biomarker mit einem suffizienten Prädiktionspotenzial gegenüber postoperativen Organdysfunktionen identifiziert werden, da die physiologischen systemischen inflammatorischen Antwortprozesse zur Verschleierung der zu detektierenden Komplikationen führen.

Die vorliegende kumulative Habilitationsschrift verfolgt das Ziel, innovative blutbasierte Biomarker in einem homogenen Patientenkollektiv zu evaluieren, welches sowohl bezüglich der chirurgischen Intervention als auch der intraoperativen Behandlungsmodalitäten standardisiert war und bei dem eine extrakorporale Zirkulation mittels Herz-Lungen-Maschine (*Cardiopulmonary Bypass*, CPB) zur Anwendung kam. Der wissenschaftliche Fokus liegt auf der systematischen Analyse potentieller Assoziationen zwischen den identifizierten Biomarkern und dem Auftreten postoperativer Organdysfunktionen.

Eine Vielzahl von Studien analysierte die proinflammatorischen Auswirkungen kardiochirurgischer Eingriffe mit CPB auf Alterationen von Biomarkern, mit einem Fokus auf der aktivierend-initiiierenden Komponente. Im ersten Schritt wurde daher im Rahmen einer physiologischen Grundlagenstudie nicht der aktivierende Einfluss elektiver *on-*

pump CABG untersucht, sondern ein potenziell inhibierender Effekt auf zentrale regulative Moleküle im Kontext der Induktion der Akute-Phase-Reaktion und steriler inflammatorischer Antwortprozesse. Es wurde folgende Fragestellungen bearbeitet:

- Welchen inhibierenden Einfluss hat die Anwendung eines CPB bei elektiver *on-pump* CABG auf α 1-Antitrypsin als Antiprotease?
- Welchen Einfluss hat die Anwendung eines CPB bei *on-pump* CABG als Inhibitor von ATP-induziertem IL-1 β ?

Die Assoziation des Biomarkers AAT mit dem cholinergen System und dessen Modulation metabotroper Signaltransduktionsprozesse an nikotinischen Acetylcholin-Rezeptoren führte zur Evaluation blutbasierter Acetylcholin- und Butyrylcholinesterase-Aktivitäten. Diese wurden bei *on-pump* CABG-Eingriffen bezüglich systemischer Inflammation und POD, als neuroinflammatorische Organdysfunktion, untersucht. Folgende Fragestellungen wurden adressiert:

- Sind perioperative Veränderungen der AChE- und BChE-Aktivität, in einem prolongierten Analysezeitraum bis zum siebten postoperativen Tag, mit dem Auftreten eines POD bei elektiven *on-pump* CABG-Operationen assoziiert?
- Weisen Patienten mit POD additive Risikofaktoren für das Auftreten eines POD im Zusammenhang mit *on-pump* CABG-Chirurgie auf?
- Ist der inflammatorische Status der Patienten mit Veränderungen der Cholinesterasesubtypenaktivitäten assoziiert?

Im Anschluss wurde die in der Vorstudie identifizierte Assoziation von BChE-Aktivität bei Patienten mit POD in einen validierten POD-Risikostratifizierungsindex integriert und auf folgende Fragestellungen hin evaluiert:

- Wie ist die Anwendbarkeit und der diagnostische Nutzen eines validierten POD-Risikostratifizierungsindex in einer Kohorte von elektiven *on-pump* CABG-Patienten zu bewerten?
- Kann die Integration der BChE-Aktivität in einen prädiktiven validierten POD-Risikostratifizierungsindex das Modelloptimieren?

- Kann ein validiertes POD-Risikostratifizierungsindex-Modell durch Erweiterung oder Veränderung der inkludierten Parameter optimiert werden?

Die Akute-Phase-Reaktion und damit assoziierten Organdysfunktionen, alteriert durch chirurgisches Trauma und CPB, kann durch Modifikationen der extrakorporalen Zirkulation beeinflusst werden. Im folgenden Abschnitt wurden Alterationen innovativer Biomarker der Zellschädigung und der inflammatorischen Kaskade im Vergleich zwischen MiECC und cCPB und auf deren Assoziation mit Organdysfunktionen analysiert:

In der initialen Untersuchung wurde die Ebene der mitochondrialen DNA betrachtet, welche einen Surrogatparameter der Zell- bzw. Zellorganellenschädigung repräsentiert. Hier wurden zwei Fragestellungen bearbeitet:

- Resultiert die Anwendung einer MiECC gegenüber einem cCPB in einer Reduktion der quantitativ analysierten Menge an mtDNA, als Zellschädigungsbiomarker, bei Patienten, welche sich einer elektiven *on-pump* CABG unterzogen?
- Ist die quantitativ erhobene Menge an mtDNA mit der Inzidenz unerwünschter Ereignisse (*Adverse Events*; Infektionen, erneute Aufnahme auf die Intensivstation, AKI und POAF) assoziiert?

Nachdem der Einfluss der CPB-Systemmodifikation auf die Zellschädigung durch mtDNA und Assoziationen mit Organdysfunktionen eruiert wurde, erfolgte im Anschluss eine Analyse des sDLL1. Höhere Expressionen dieses Notch-Liganden konnten mit inflammatorischen Prozessen und Barrieredysfunktionen assoziiert werden, von denen anzunehmen war, dass diese durch *on-pump* CABG affiziert werden. Um den Einfluss des CPB und dessen Systemmodifikation zu untersuchen, wurden folgende Fragestellungen bearbeitet:

- Resultiert die Anwendung einer MiECC gegenüber einem cCPB in einer Reduktion der mittels *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA)-Quantifikation bestimmten Konzentration an sDDL1 bei elektiven *on-pump* CABG-Operationen?
- Welche Assoziation und prognostische Potenz weisen Veränderungen von sDLL1 in Bezug auf das Auftreten von POD, AKI und postoperativen Infektionen

(definiert als Pneumonie, katheterbedingte Blutstrominfektionen und urogenitale Infektionen) auf?

Abschließend wurde der potenzielle prädiktive Nutzen von suPAR in Bezug auf das Auftreten einer AKI bei elektiven *on-pump* CABG-Patienten evaluiert. Folgende Fragestellungen wurden bearbeitet:

- Sind Alterationen von suPAR-Plasmakonzentrationen bei elektiver *on-pump* CABG mit Veränderungen der renalen Funktion assoziiert?
- Weisen Veränderungen der suPAR-Plasmakonzentrationen im Rahmen von elektiver *on-pump* CABG einen prädiktiven Wert für das Auftreten einer AKI auf?
- Kann die Veränderung der Serumplasmakonzentration von suPAR Risikopatienten für postoperative Organdysfunktionen und Infektionen identifizieren?
- Sind Veränderungen der suPAR-Plasmakonzentrationen mit dem Auftreten eines POD assoziiert?

3. Zusammenfassung der Ergebnisse eigener Arbeiten

3.1 Auswirkungen elektiver *on-pump* CABG auf die Fähigkeit von α 1-Antitrypsin, die ATP-induzierte Freisetzung von monozytärem Interleukin-1 β zu hemmen (Anlage 1)

Interleukin-1 β besitzt eine herausragende Relevanz in der Pathogenese von Chirurgie-assoziierten Inflammationen, Wirtsabwehr und der Verhinderung des Progress einer sterilen systemischen Entzündung zur Sepsis auf^{177,248}. Die Expression von Interleukin-1 β wird primär durch das Auftreten zweier *DAMPs* determiniert, welche die Inflammasom-Formation, die Aktivierung von Caspase-1, Spaltung von pro-IL-1 β und konsekutive Freisetzung von reifem IL-1 β induzieren – Prozesse, die im Kontext von *on-pump* CABG auftreten¹⁷⁸. Der Serinproteaseinhibitor α 1-Antitrypsin (AAT, SERPINA1)²⁴⁹ fungiert als Teil des endogenen Sicherheitssystems, das den genannten proinflammatorischen Mechanismen antagonistisch entgegenwirkt. In inflammatorischen Kaskaden, wie sie im Rahmen der Akuten-Phase-Reaktion bei kardiochirurgischen Eingriffen unter CPB resultieren, stellt AAT einen bedeutsamen immunmodulierenden Faktor dar. Die Interaktion von AAT mit Proteasen führt zu einer gegenseitigen Inaktivierung^{182,183}. AAT neutralisiert zusätzlich Sauerstoffradikale, welche die Anti-Protease-Funktion von AAT inaktivieren^{184,185}. In Tiermodellen schützt AAT, analog zu Effekten des CPB, vor Ischämie-Reperfusionsschäden und TNF- α /Endotoxin-induzierter Letalität^{186–188}.

AAT moduliert überdies die Expression von Chemokinen wie IL-8, Chemotaxis und die Zelladhäsion^{189,190}. Es supprimiert die Expression des TLR 4 und proinflammatorischer Zytokine (IL-1, TNF- α) und potenziert die Expression von antiinflammatorischen Mediatoren wie IL-10 und IL-1-Rezeptorantagonist¹⁹¹. AAT inhibiert effizient die ATP-induzierte Reifung und Sekretion von IL-1 β und reduziert dessen Liberation signifikant¹⁹², mit potenziellem therapeutischem Benefit bei Inflammationen im Rahmen von CPB-gestützten herzchirurgischen Eingriffen.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, die Hypothese zu evaluieren, dass während elektiver *on-pump* CABG AAT als Antiprotease und Inhibitor von ATP-induziertem IL-1 β inaktiviert wird.

Zu diesem Zweck wurde eine Sekundäranalyse einer explorativen, prospektiven Interventionsstudie an elektiven *on-pump* CABG-Patienten mit einem Studienkollektiv von

fünf Patienten durchgeführt. Die Blutentnahme erfolgte 15 Minuten nach Beendigung der anästhesiologischen Einleitung sowie 15 und 60 Minuten nach Beginn des CPB und 15 Minuten nach Beendigung des CPB. AAT wurde anschließend aus dem Blutplasma chromatografisch affinitäts-purifiziert. Humane Lipopolysacharid-*primed* Monozyten (U937) wurden mit ATP in der Präsenz oder Absenz von Patienten-AAT stimuliert um den inhibitorischen Effekt auf die IL-1 β Freisetzung zu testen. Die Antiprotease-Aktivität wurde mittels Komplexbildung mit Neutrophilen-Elastase untersucht. Die Kapazität des Patienten-AAT zur Inhibition der ATP-induzierten IL-1 β -Freisetzung zeigte sich geringgradig reduziert, als Reaktion auf die *on-pump* CABG. Die Komplexbildung von Patienten-AAT mit Neutrophilen-Elastase war unbeeinträchtigt. *On-pump* CABG-Chirurgie induziert offenbar keine ausgeprägte Reduktion der antiinflammatorischen und anti-Proteasen Aktivität von humanem AAT.

Diese Pilotstudie evaluierte die Fragestellung, ob die inhibitorische Funktion von gereinigtem Patienten-AAT auf die ATP-induzierte Freisetzung von monozytären IL-1 β oder die AAT-Antiprotease-Funktion durch elektive *on-pump* CABG-Chirurgie beeinflusst wird. Die Untersuchung demonstrierte, dass weder eine deutliche Verringerung der inhibitorischen Funktion von gereinigtem Patienten-AAT auf die 2'(3')-O-(4-Benzoylbenzoyl)Adenosine-5'-Triphosphate-induzierte Freisetzung von monozytärem IL-1 β noch eine Beeinträchtigung seiner Anti-Proteasefunktion resultierte. Patienten-AAT, dass vor, während und nach der Operation gewonnen wurde, inhibierte *in-vitro* dosisabhängig und effizient die ATP-induzierte IL-1 β -Freisetzung bei humanen, monozytären LPS-primed U937-Zellen. Die IC₅₀-Werte waren 60 min nach Beginn des CPB ($p = 0,003$, $n = 5$) und nach Beendigung des CPB ($p = 0,01$, $n = 5$) signifikant höher im Vergleich zu präoperativen Werten. Angesichts der limitierten Fallzahl sollten diese Ergebnisse kritisch interpretiert werden, da adjustierte statistische Verfahren bei kleinen Stichprobengrößen nicht immer zuverlässig anwendbar sind. In allen AAT-Präparaten wurden kovalente AAT/Neutrophile-Elastase-Komplexe nachgewiesen, was impliziert, dass der größte Teil der Anti-Protease-Funktion von AAT während *on-pump* CABG erhalten bleibt. Korrespondierend wurden bei der nativen Gelelektrophorese keine Veränderungen der AAT-Komplexe festgestellt.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen wurde berichtet, dass AAT, das mit neutrophiler Elastase komplexiert ist, zwischen Ende des CPB und 240 Minuten nach der Operation stark ansteigt²⁵⁰, ein Zeitraum, der in der vorliegenden Studie nicht untersucht wurde.

Die Ergebnisse dieser Pilotstudie müssen ungeachtet der initialen Befunde, wie oben angemerkt, kritisch betrachtet werden.

Von den bekannten antiinflammatorischen Wirkungen von AAT wurde ausschließlich die Hemmung der ATP-induzierten Freisetzung von monozytären IL-1 β untersucht, einem Mechanismus, welcher im Zusammenhang mit CPB und extensiven chirurgischen Interventionen von zentraler Relevanz ist. Die Stichprobengröße ist limitiert und diese Studie umfasst hauptsächlich die „frühe“ (15 und 60 Minuten nach Beginn der CPB) und nur den Beginn der „späten“ Phase (15 Minuten nach CPB) der inflammatorischen Antwort auf den CPB. In der frühen Phase wird die Inflammation primär durch den Kontakt des Patientenblutes mit den Fremdoberflächen der extrakorporalen Zirkulation und durch das chirurgische Trauma ausgelöst, bei dem eine Freisetzung von ATP in den Extrazellulärraum zu erwarten ist. Dagegen wird die späte Phase durch Ischämie-Reperfusionsschäden und Endotoxämieliberation dominiert wird²⁵¹.

Es ist anzunehmen, dass 15 Minuten nach CPB-Terminierung die Endotoxinämie gegenüber dem Ischämie-/Reperfusionsschaden eine untergeordnete Rolle einnimmt. Keiner der in diese Studie eingeschlossenen Patienten entwickelte eine systemische Inflammation oder Sepsis. Von besonderem wissenschaftlichem Interesse wäre zu untersuchen, ob sich das AAT von Patienten, die an einer schweren SIRS erkranken, signifikant von Patienten ohne differenziert. Abschließend kann keine definitive Aussage getroffen werden, ob die Ergebnisse primär auf operative Aspekte, den CPB oder eine Kombination zurückzuführen sind.

Neben der hier untersuchten Glycoproteinebene im Zusammenhang mit Inflammation und deren Suppression stellt das cholinerge- und anticholinerge System eine weitere zentrale Ebene in der Antwort auf inflammatorische Stimuli dar, welche in den nachfolgenden Studien exploriert wurde.

Zusammenfassung:

Diese Pilotstudie zeigte, dass *on-pump* CABG-Chirurgie weder die Aktivität von AAT-inhibierender ATP-vermittelter IL-1 β -Freisetzung hemmt, noch die Anti-Protease-Aktivität von Patienten-AAT wesentlich reduziert.

3.2 Observationsstudie zum Einfluss der Aktivität von Acetylcholinesterase- und Butyrylcholinesterase im Kontext von *on-pump* CABG auf das Auftreten eines postoperativen Delirs (Anlage 2)

Das neuronale und non-neuronale cholinerge System fungiert als zentraler Mediator der neuronalen und immunologischen Signaltransduktion. Die cholinerge Homöostase kann durch die bidirektionale Interaktion zwischen zentralen Nervensystem und peripheren neuronalen Schaltkreisen bei inflammatorischen Prozessen gestört werden¹⁹⁴. Die ausgeprägte cholinerge Innervation von Thalamus, Striatum, limbischem System und Neokortex impliziert deren essentielle Rolle für höhere kognitive Funktionen²⁵². Alterationen des cholinergen Systems korrelieren mit der Inzidenz des POD, insbesondere im kardiochirurgischen Kontext^{253–258}. Das POD, charakterisiert durch akute und fluktuierende zerebrale Dysfunktionen, manifestiert sich bei bis zu 40 % der kardiochirurgischen Patienten mit altersabhängiger Progression^{69,71}. Diese Komplikation resultiert in signifikant erhöhter Morbidität, Mortalität und ökonomischer Ressourcenbelastung^{69,70}. Multiple Faktoren, einschließlich patientenspezifischer und prozeduraler Parameter wie chirurgisches Trauma, CPB-Dauer und Anästhesiemanagement, induzieren eine Dysregulation der Neurotransmitterhomöostase mit konsekutiver zerebraler Netzwerk-Dyskonnektivität^{69,71,74,259–261}. Die gegenwärtige POD-Diagnostik basiert ausschließlich auf klinischen Assessments ohne prädiktives Potential^{72,73}, während objektive, validierte prädiktive Biomarker fehlen.

Im Fokus der Forschung stehen die Cholinesterase-Subtypen AChE und BChE, deren Aktivitätsmuster in Relation zur POD-Entwicklung bisher inkonsistente Resultate bei kardiochirurgischen Patienten aufweisen^{253,255}. Es fehlen gegenwärtig Longitudinalstudien an homogenen kardiochirurgischen Kohorten, die eine systematische Analyse der Cholinesterase-Subtypen in Korrelation mit inflammatorischen Markern und standardisierter POD-Diagnostik evaluieren.

Die primäre Zielsetzung der vorliegenden Studie war daher die Evaluation, ob prä- und perioperative Veränderungen der AChE- und BChE-Aktivität mit dem Auftreten eines POD in einer elektiven operativ-uniformierten Patientengruppe unter CPB assoziiert sind. Als sekundäre Endpunkte sollten potenzielle Kofaktoren identifiziert werden, welche mit der Inzidenz eines POD assoziiert sind und der inflammatorische Status der Patienten mit Veränderungen der Cholinesterasesubtypenaktivität verglichen werden.

In diese prospektive Observationsstudie wurden 100 Patienten eingeschlossen. Die initiale Patientenevaluation erfolgte am Abend vor der Operation. Die Anamnese erfolgte standardisiert anhand eines Fragebogens. In diesem Kontext wurde eine präoperative Ausgangsanalyse der AChE- und BChE-Aktivitäten nach Beendigung der beschriebenen Untersuchung, Anamnese und Etablierung eines intravenösen Zugangs erhoben. Die Analyse der Vollblutproben wurde mittels *Point-of-Care*-(POC)-Analytik, basierend auf den empfohlenen Verfahrensschritten gemäß Herstellerangaben^{262,263}, bettseitig durchgeführt. Alle Patienten wurden postoperativ beatmet auf die Intensivstation verlegt. Nach Extubation und Erreichen eines ausreichenden Wachheits- und Kooperationsgrads (*RAAS Score* ≥ 2) erfolgte das Delirscreening mit den oben genannten klinischen Testinstrumenten (ICDSC and CAM-ICU) mit begleitender AChE- und BChE-Analytik bis zum siebten postoperativen Tag täglich. Ein positives Ergebnis in einem der Testinstrumente wurde als POD-positiv interpretiert.

Von den initial 100 eingeschlossenen Patienten wurden drei wegen eines vorbestehenden Delirs und vier basierend auf einer Ablehnung der Teilnahme ausgeschlossen, so dass eine finale Kohorte von 93 Patienten in die Analyse einbezogen wurde.

In der Gesamtkohorte betrug die POD-Inzidenz 21,5 % ($n = 20$), wobei Patienten mit POD ein signifikant höheres Lebensalter aufwiesen ($p = 0,003$) und höhere EuroSCORE-Werte demonstrierten ($p = 0,001$).

Die präoperativen AChE-Aktivitäten unterschieden sich nicht signifikant zwischen der POD+ und der POD- Gruppe (42,6 [40,3 – 47,4] U/g Hb vs. 45,1 [42,3 – 48,3] U/g Hb). Die AChE-Aktivität sank in beiden Gruppen am ersten postoperativen Tag auf einen Nadir (POD+: 42,3 [39,1 – 46,5] U/g Hb vs. POD-: 43,9 [40,3 – 47,9] U/g Hb; $p = 1,000$), zeigte jedoch im Vergleich zur BChE-Aktivität nur geringfügige Aktivitätsalterationen während des Untersuchungszeitraums. Am Ende des Beobachtungszeitraums überschritt die AChE-Aktivität in beiden Gruppen die Ausgangsaktivität. Am ersten postoperativen Tag war der Abfall der BChE-Aktivität bei POD im Vergleich zu präoperativen Werten ausgeprägter (31,9 %) als bei Patienten aus der Gruppe ohne POD (23,7 %; $p = 0,002$). Bei Anwendung eines *Cut-off* von 32,0 % für die Veränderung der BChE-Aktivität zeigte die ROC-Analyse eine moderate prädiktive Validität für das Auftreten eines POD (AUC = 0,72, $p = 0,002$). Das Risiko, ein POD zu entwickeln, war bei einer 32 %igen Veränderung der BChE-Aktivität zur präoperativen Baseline um das 4,31-fache erhöht ($p = 0,010$). Intraoperative Prozesszeiten wie CPB-Dauer ($p < 0,001$), Aortenabklemmzeit ($p = 0,011$) und intraoperative Beatmung ($p < 0,001$) waren in der

POD-Gruppe signifikant prolongiert. Analog hierzu zeigten sich postoperative Prozessvariablen in der POD-Gruppe signifikant verlängert (Beatmungsdauer ($p < 0,001$), Intensivverweildauer ($p < 0,001$). Interessanterweise divergierten Inflamationsparameter, wie z.B. CRP und Leukozytenzahl im Subgruppenvergleich nicht signifikant.

Diese Observationsstudie demonstrierte eine signifikante Korrelation zwischen postoperativen Alterationen der BChE-Aktivität und der Inzidenz des POD. Die BChE-Aktivität zeigte einen deutlichen Abfall am ersten postoperativen Tag, wobei die Intensität der Aktivitätsminderung direkt mit der POD-Entwicklung korrelierte. Die POD-Kohorte manifestierte eine persistent subphysiologische BChE-Aktivität während der gesamten Observationsperiode. Die ausgeprägteste Reduktion der BChE-Aktivität manifestierte sich innerhalb der initialen 24 postoperativen Stunden, mit signifikant stärkerer Ausprägung in der POD-Gruppe verglichen mit der Gruppe ohne POD (31,9 % vs. 23,7 %, $p = 0,002$). Die Ausprägung der Reduktion der BChE-Aktivität korrelierte positiv mit der POD-Inzidenz.

Diese Resultate suggerieren das Potential der POC-BChE-Aktivitätsanalyse als prädiktiver Marker für die POD-Frühdetektion nach *on-pump* CABG-Chirurgie. Konträr dazu zeigte die AChE-Aktivität keine signifikanten interkohortalen Differenzen oder ausgeprägten temporalen Alterationen. Diese Stabilität der AChE-Aktivität impliziert, dass systemische inflammatorische Prozesse nach CABG keine substantielle AChE-Modulation induzieren. Die AChE-Aktivitätselevation über Baseline-Niveau am Ende des Untersuchungsintervalls suggeriert, dass eine septische Affektion der untersuchten Kohorte unwahrscheinlich war, kongruent mit in der Literatur dokumentierten Daten^{253,255,264}. Die inflammatorischen Parameter (Leukozyten, CRP, Procalcitonin) zeigten vergleichbare postoperative Dynamiken in beiden Kohorten ohne Evidenz septischer Ereignisse, ohne aber POD ausreichend vorherzusagen. Diese Resultate führten zur Entwicklung eines optimierten POD-Identifikationsindex auf Basis der BChE-Aktivität.

Zusammenfassung:

Patienten mit POD zeigten eine frühe Abnahme der BChE-Aktivität gegenüber präoperativ analysierten Ausgangswerten. Der Grad des Abfalls der BChE-Aktivität am ersten postoperativen Tag gegenüber dem präoperativ erhobenen Ausgangswert war mit einer moderaten Vorhersagefähigkeit für die Diagnose eines POD assoziiert. Eine frühe Analytik der prä- bis postoperativen BChE-Aktivität könnte ein praktikables Instrument für die klinische POD-Risikostratifizierung sein. Die Analyse der AChE-Aktivität zeigte keine Assoziation mit dem Auftreten eines POD oder der inflammatorischen Antwort.

3.3 Optimierung des Cardiac Delirium Index durch Integration von Patientenalter, Abfall der Butyrylcholinesteraseaktivität, präoperativem HbA1c und postoperativer Hämoglobinwerte: Ergebnisse einer Sekundäranalyse einer prospektiven Observationsstudie (Anlage 3)

Im nächsten Schritt soll mit Hilfe einer Sekundäranalyse der vorhergehenden Untersuchung (Anlage 3) die Prädiktion des Cardiac Delirium (CARDEL) Index zur Identifikation von Patienten mit POD nach *on-pump* CABG gesteigert werden.

Kotfis et al.¹³³ entwickelten ein prädiktives Modell basierend auf präoperativen klinischen Parametern und Labordaten (Alter, HbA1c und *Platelet-White Blood Cells-Ratio* [PWR]), das eine moderate Vorhersagekraft (AUC 0,742) für das Entwickeln eines POD nach CABG aufwies. Dieser CARDEL-Index wurde allerdings bislang nicht extern validiert. Zudem könnte die Integration der BChE-Aktivität sich aus mehreren Gründen als vielversprechender Ansatz erweisen: Alterationen der BChE-Aktivität korrelieren mit Dysregulationen der cholinergen Homöostase, die zu kognitiven Störungen führen können, charakteristisch für delirante Zustände und neurodegenerative Erkrankungen^{253,263–265}. Zudem bestätigen Ergebnisse aus Anlage 2 und vergleichbaren Studien den prädiktiven Wert von BChE-Alterationen für POD bei kardiochirurgischen Patienten^{17,253,255}.

Das primäre Studienziel war die Validierung des CARDEL-Index in einer homogenen Kohorte elektiver *on-pump* CABG-Patienten sowie sekundär die Evaluation einer modifizierten Version unter Integration von BChE-Aktivitätsalterationen.

In dieser Sekundäranalyse einer Observationsstudie konnten von initial 100 *on-pump* CABG Patienten aus der Primärstudie¹⁷ 93 Patienten in diese Sekundäranalyse einbezogen werden. Wie in Anlage 3 beschrieben, entwickelten 20 Patienten (21,5 %) ein POD, wobei in 94,6 % der Fälle konkordante Ergebnisse zwischen CAM-ICU und ICDSC vorlagen. Die POD-Manifestation erfolgte mehrheitlich innerhalb der ersten 24 postoperativen Stunden.

Der originäre CARDEL-Index wies eine moderate Vorhersagekraft die Diagnose eines POD auf (AUCROC CARDEL Original: 0,74 [0,61 – 0,86]). Die Integration der BChE-Aktivitätsabnahme verbesserte die prognostische Leistung signifikant (AUC = 0,80 [0,67 – 0,91], mit deutlich unterschiedlichen Indexwerten zwischen Patienten mit (22,7 [19,7 – 25,3]) und ohne POD (18,2 [16,0 – 19,9], $p < 0,001$). Die univariate Analyse identifizierte als potenteste Prädiktoren für POD: Alter, HbA1c [OR 2,5 (95 % KI: 1,2 – 4,8), $p = 0,01$], relative BChE-Aktivitätsabnahme [in %, OR 1,1 (95 % KI: 1,0 – 1,2), p

= 0,04] und postoperatives Hämoglobinverhältnis [OR 0,86 (95 % KI: 0,78 – 0,96), $p < 0,001$]. Diese Parameter wurden in ein optimiertes CARDEL-Index-Modell integriert. Der modifizierte CARDEL-Index zeigte ein substantiell verbessertes prädiktives POD-Potenzial (AUCROC: 0,84 (0,72 – 0,94, $p < 0,001$) mit einer Sensitivität von 0,61, Spezifität von 0,93 und einer Gesamtgenauigkeit von 0,86.

Diese Sekundärstudie evaluierte den CARDEL-Index¹³³ in einer homogenen Kohorte von *on-pump* CABG. Unabhängig von limitierter Studienpopulation und fehlender externer Validierung zeigte diese Untersuchung erstens, dass sowohl der originäre als auch der modifizierte CARDEL-Index moderate Prädiktionsleistungen für POD aufweisen. Zweitens, dass die multivariate Regressionsanalyse mit Ausnahme der PWR die meisten Parameter des originären Index bestätigte, und drittens, dass die Integration des prozentualen Abfalls der BChE-Aktivität die Prädiktion signifikant verbesserte. Die multivariate Analyse des Patientendatensatzes identifizierte erhöhte HbA1c-Werte, den reduzierten BChE-Aktivitätsspiegel und Alterationen des postoperativen Hämoglobinwertes als signifikante unabhängige Risikofaktoren für die Entwicklung eines POD. Die Integration dieser Biomarker in den originären CARDEL-Index resultierte in einem signifikant optimierten prädiktiven Modell. Die identifizierten POD-Risikobiomarker dieser Untersuchung korrespondieren mit etablierten Risikofaktoren kardiochirurgischer Interventionen, insbesondere hinsichtlich perioperativer Anämie und des Glukosemetabolismus^{265–270}. Die differenzierte Rolle akuter versus chronischer Alterationen dieser Parameter in der Pathogenese neuroinflammatorischer Prozesse bedarf jedoch weiterer mechanistischer Untersuchungen.

Eine klinisch relevante Beobachtung stellt die positive Korrelation zwischen erhöhtem Erythrozytentransfusionsvolumen und POD-Inzidenz dar. Obgleich BChE primär plasmatisch und AChE erythrozytär lokalisiert ist, existiert eine signifikante Korrelation zwischen BChE-Aktivität und Erythrozytenzahl²⁷¹. Diese Assoziation eröffnet neue Hypothesen bezüglich der mechanistischen Interaktion zwischen reduzierter BChE-Aktivität und Entwicklung eines POD im Kontext von Transfusionstherapien. Die dokumentierte immunmodulatorische Wirkung von Erythrozytentransfusionen^{272–274} sowie die inverse Korrelation zwischen systemischer Inflammation und BChE-Aktivität indizieren einen potentiellen Pathomechanismus der POD-Genese. Die heterogenen Studienergebnisse zur BChE-Aktivitätsdynamik im kardiochirurgischen Kontext^{206,255,275} unterstreichen jedoch die Notwendigkeit standardisierter Untersuchungen an homogenen Patientenkohorten.

Aufgrund der unmittelbaren postoperativen Verfügbarkeit der identifizierten Parameter ermöglicht der modifizierte CARDEL-Index eine zeitnahe POD-Risikostratifizierung, was insbesondere BChE als vielversprechenden prognostischen Biomarker für die klinische Implementierung qualifiziert.

Zusammenfassung:

Eine Erhöhung des präoperativen HbA1c wurden als stärkster Risikofaktor für die Entwicklung eines POD nach *on-pump* CABG identifiziert, gefolgt vom Abfall der BChE-Aktivität gegenüber einem präoperativen Ausgangswert, postoperativer Anämie und dem Patientenalter. Die prädiktive Stärke des CARDEL-Index wurde durch die Integration dieser Faktoren signifikant verbessert. PWR war nicht mit dem Auftreten eines POD assoziiert, während die *Point-of-Care*-Messung der BChE-Aktivität die Vorhersagekraft des CARDEL-Index steigerte.

Alle Parameter des modifizierten CARDEL-Index sind zeitnah postoperativ verfügbar, sodass der Index potenziell im Rahmen einer frühen Risikostratifizierung angewendet werden kann.

3.4 Untersuchung des Einflusses von minimierter extrakorporaler Zirkulation im Vergleich zum konventionellen kardiopulmonalen Bypass während elektiver *on-pump* CABG auf die Plasmakonzentration frei zirkulierender mitochondrialer DNA: Eine Sekundäranalyse einer explorativen, prospektiven, Interventionsstudie (Anlage 4)

Wie in der Einleitung beschrieben, resultiert durch kardiochirurgische Eingriffe unter CPB eine inflammatorische Akute-Phase-Reaktion. Die Anwendung einer MiECC bei kardiochirurgischen Operationen ist mit einer signifikant reduzierten Inflamationsreaktion im Vergleich zum cCPB assoziiert. Das inflammatorische Profil bei MiECC approximiert jenes der *off-pump* Herzchirurgie, insbesondere hinsichtlich der IL-6-Liberation^{30,276}. Die Einführung der MiECC hat aufgrund ihrer protektiven Wirkung auf myokardiale, renale und neurologische Funktionen große Resonanz erfahren^{26,277,278}. Die Miniaturisierung des extrakorporalen Kreislaufs minimiert die Rezirkulation und Blut-Luft-Interaktion, resultierend in einer Reduktion von Hämolyse und inflammatorischer Aktivierung. MtDNA fungiert als DAMP und korreliert eng mit der Aktivierung inflammatorischer und koagulativer Kaskaden^{207,208}. Während kardiochirurgischer Eingriffe induziert extrazelluläre mtDNA die Aktivierung von TLRs, Neutrophilen und Thrombozyten sowie die Formation von *NETs*^{147,209,210}. Erhöhte mtDNA-Plasmaspiegel wurden bei diversen systemischen Inflammationszuständen wie Sepsis, Trauma und malignen Erkrankungen nachgewiesen^{207,211,212}. Die differentielle Freisetzungskinetik der mtDNA unter MiECC versus cCPB wurde bislang nicht systematisch evaluiert. Das primäre Studienziel war daher die Quantifizierung zirkulierender mtDNA bei Patienten mit elektiver *on-pump* CABG im Vergleich zwischen cCBP und MiECC. Sekundär wurden potentielle Assoziationen zwischen mtDNA-Plasmakonzentrationen und Komplikationen (Infektionen, Intensivstation-Wiederaufnahme, AKI und POAF) untersucht. Aufgrund des Mangels an bereits vorhandenen Daten zur Freisetzung von mtDNA während MiECC wurde diese Studie als explorative Studie konzipiert. Diese explorative Sekundäranalyse basiert auf einem nicht-interventionellen Subkollektiv einer monozentrischen, prospektiven Interventionsstudie an Patienten mit elektiver CABG-Chirurgie²⁴³.

Die Primärstudie umfasste 90 Patienten, von denen 45 Patienten in der Interventionsgruppe mit einem *Goal-Directed* Algorithmus hämodynamisch optimiert wurden. Um ein Einfluss dieser Optimierung zu verhindern, wurden nur die 45 Patienten der Kontrollgruppe, welche eine reguläre hämodynamische Therapie während elektiver

CABG-Chirurgie, eingeschlossen. Patienten mit vorbestehenden schweren Herz- oder Niereninsuffizienzen sowie Infektions- und Autoimmunerkrankungen wurden ausgeschlossen. Serielle Blutentnahmen erfolgten an sechs prädefinierten Zeitpunkten mit konsekutiver Quantifizierung der zirkulierenden mtDNA (mtDNA codierend für NADH-Dehydrogenase) mittels Plasmid-basierter quantitativer Polymerasekettenreaktion (qPCR).

Die Plasma-mtDNA-Konzentration war bei MiECC-Patienten signifikant niedriger verglichen mit cCPB (MiECC: 161,8 [65,5 – 501,9]; cCPB: 190,8 [82 – 705,7]; $p < 0,001$). Die mtDNA-Kinetik verlief gruppenunabhängig parallel mit Spitzenwerten während des CPB (MiECC präoperativ: 68,2 [26,5 – 104,9]; MiECC 60 min nach CPB-Initiation: 536,5 [215,7 – 919,6]; cCPB präoperativ: 152,5 [80,9 – 207,6]; cCPB 60 min nach CPB-Initiation: 1818,0 [844,2 – 3932,2]; alle $p < 0,001$). Patienten mit mtDNA-Plasmakonzentrationen > 650 Kopien/ μL zeigten ein 5-fach erhöhtes Risiko für POAF, unabhängig vom CPB-Verfahren. Eine mtDNA-Konzentration > 650 Kopien/ μL wies eine moderate prädiktive Wertigkeit für POAF auf (AUROC 0,71 [0,53 – 0,71]).

Die Studienergebnisse verifizieren die primäre Hypothese einer signifikant reduzierten mtDNA-Freisetzung unter MiECC verglichen mit cCPB. Diese Sekundäranalyse ist die erste Studie, die diesen Effekt der MiECC darstellt. Dieser Effekt manifestierte sich jedoch nur in der Gesamtanalyse aller Messzeitpunkte, während die Einzelzeitpunktanalysen auf Grund der geringen Fallzahl nur einen nicht-signifikanten Trend demonstrierten.

In der Untersuchung potentieller Assoziationen zwischen mtDNA-Plasmaspiegeln und Komplikationen konnte keine Korrelation der mtDNA mit dem Auftreten einer AKI, postoperativen Infektionen oder Wiederaufnahmen auf die Intensivstation nachgewiesen werden. Die Zeitpunktanalyse zeigte jedoch einen signifikanten, gruppenunabhängigen Zusammenhang zwischen mtDNA-Konzentration in der frühen CPB-Phase und POAF-Inzidenz. Spezifisch war das POAF-Risiko bei mtDNA-Werten > 650 Kopien/ μL um den Faktor fünf erhöht, mit moderater prädiktiver Kapazität, konkordant mit publizierten Daten^{147,279}.

Zusammenfassung:

Diese Studie wies erstmals bei elektiven CABG-Operationen eine reduzierte Freisetzung von mtDNA unter MiECC im Vergleich zur Anwendung eines cCPB nach. Patienten mit einer mtDNA-Konzentration von > 650 Kopien/L nach CPB-Terminierung wiesen ein fünffach höheres Risiko für das Auftreten einer POAF auf, unabhängig von der Art des kardiopulmonalen Bypasses. Hierbei konnte eine moderate Prädiktion für die Identifikation von POAF auf.

3.5 Untersuchung des Einflusses minimierter extrakorporaler Zirkulation im Vergleich zum konventionellen kardiopulmonalen Bypass während elektiver *on-pump* CABG auf die Plasmakonzentrationen des *Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor*: Eine Sekundäranalyse einer explorativen, prospektiven, Interventionsstudie (Anlage 5)

In der angeschlossenen Studie sollte mit Hilfe einer Sekundäranalyse die Konzentration des löslichen induzierbaren Glycosylphosphatidylinositol-verankerten Glykoproteins suPAR bei *on-pump* CABG unter Anwendung unterschiedlicher CPB-Systeme untersucht werden. Diese Analyse erweitert systematisch die Biomarkeranalytik im Proteinsektor zwischen minimierten und konventionellen CPB-Systemen.

SuPAR wurde als Biomarker bei akuten und chronischen inflammatorischen Prozessen evaluiert und korreliert in diversen klinischen Szenarien mit negativen Outcomevariablen^{225,230,280–282}. Besonders ist dabei seine Rolle als prädiktiver Marker für AKI hervorzuheben, da suPAR sowohl für die Detektion akuter als auch chronischer inflammatorischer renaler Aktivität eingesetzt werden kann^{225,280}. Dies konnte bereits im kardiochirurgischen Setting nachgewiesen werden, wobei der Einfluss der MiECC bisher unbekannt ist. Daher ist es die Hauptfragestellung dieser Studie, zu untersuchen, ob die Konzentration von suPAR durch den Einsatz der MiECC beeinflusst wird.

Des Weiteren ist unklar, ob aufgrund der bekannten Assoziation von suPAR mit systemischen Inflammationsreaktionen^{225,280} und dem Gerinnungssystem²⁸³ auch als prognostischer Biomarker für andere Komplikationen als AKI nach kardiochirurgischen Eingriffen fungieren könnte. Während erhöhte suPAR-Spiegel bereits mit gesteigerter Langzeitmortalität nach kardiochirurgischen Eingriffen assoziiert wurden²³², bleibt seine prognostische Relevanz für spezifische Komplikationen wie Infektionen oder POD unklar.

In diese Sekundäranalyse wurden 79 Patienten (miECC: n = 41 vs. cCPB: n = 38) aus einer prospektiven Observationsstudie eingeschlossen¹⁷. Die Plasmakonzentration von suPAR wurde mittels standardisiertem humanen suPAR-ELISA-Kit quantifiziert. Potenzielle Assoziationen zwischen der suPAR-Plasmakonzentration und den postoperativen Komplikationen wurden wie folgt evaluiert: POD (definiert gemäß ICDSC und CAM-ICU, siehe Anlage 2), AKI (klassifiziert nach *Kidney Disease Improving Global Outcome* [KDIGO]²⁸⁴) und postoperative Infektionen (Pneumonie, Katheter-assoziierte

Blutstrominfektionen und urogenitale Infektionen, diagnostiziert durch systemische inflammatorische Biomarker, mikrobiologische Befunde und klinische Dokumentation). Insgesamt, ohne Berücksichtigung der Zeitpunkte, waren die suPAR-Konzentrationen bei Patienten, die sich einer miECC unterzogen, signifikant niedriger als unter cCPB ($p < 0,001$). In der Analyse der einzelnen Zeitpunkte bestanden signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den CPB-Gruppen an Zeitpunkt T2 und T5 (T2 (15 Min. nach CPB-Beginn) (Median, IQR): miECC 1,7 [1,4 – 2] vs. 1,9 [1,55 – 2,5], $p = 0,049$; T5 (120 Min. nach CPB-Ende): miECC 1,5 [1,1 – 1,7] vs. cCPB 1,9 [1,3 – 2,96], $p = 0,08$). Die longitudinale Datenanalyse zeigte eine signifikante intraoperative Elevation mit konsekutiver postoperativer Regression der suPAR-Werte. Intraoperativ stieg suPAR unter cCPB signifikant stärker an als unter MiECC ($p = 0,027$, logistische Regression: OR: 0,69 [0,57 – 0,84]; $p < 0,001$). Die multivariate Regressionsanalyse identifizierte MiECC als unabhängigen protektiven Einflussfaktor auf suPAR, unabhängig von POD, Pneumonie, Myokardinfarkt, Angina pectoris und Vorerkrankungen ($-0,38 \pm 0,1$; $p < 0,001$). Insgesamt entwickelten 25 Patienten (31,6 %) eine AKI-Stadium 1 oder 2. Zwar unterschieden sich die suPAR-Spiegel signifikant zwischen Patienten mit und ohne AKI (ohne AKI: 1,6 [1,1 – 2,0], mit AKI: 1,7 [1,3 – 2,4], $p < 0,001$), allerdings zeigte sich nur ein geringer Unterschied in den Absolutwerten und dementsprechend bezüglich der AKI-Inzidenz zwischen den CPB-Typen kein statistisch signifikanter Unterschied. Auch die durchschnittlichen prä-, intra- und postoperativen suPAR-Plasmakonzentrationen korrelierten nicht mit Kreatinin, Harnstoff und GFR. Dennoch konnte mittels multivariater Regressionsanalyse neben dem CPB-Typ (MiECC oder cCPB) auch die AKI als unabhängiger signifikanter Einflussfaktor auf suPAR ($-0,45 \pm 0,1$; $p < 0,001$) identifiziert werden. Neben dem signifikanten Gruppenunterschied bezüglich der AKI-Inzidenz zeigte die Regressionsanalyse eine 37 %ige Erhöhung der AKI-Wahrscheinlichkeit pro suPAR-Einheit (OR 1,37 [1,14 – 1,67]; $p < 0,001$). Die ROC-Analyse postoperativer suPAR-Werte ergab eine limitierte prädiktive Kapazität für AKI, während intraoperative suPAR-Spiegel keine AKI-Prädiktion ermöglichen.

Insgesamt entwickelten 19 (24,1 %) Patienten ein POD. Die suPAR-Konzentrationen zeigten keine signifikante Differenz zwischen Patienten mit und ohne POD. Die Pneumonie repräsentierte mit zwei Fällen (2,5 %) die einzige infektiöse Komplikation. Bei beiden Patienten waren die suPAR-Plasmaspiegel im Vergleich zu Patienten ohne Pneumonie signifikant erhöht ($p = 0,02$).

Diese Sekundäranalyse demonstrierte bei *on-pump* CABG, dass die Verwendung einer MiECC mit signifikant niedrigeren perioperativen suPAR-Konzentrationen assoziiert war. Die reduzierten suPAR-Spiegel unter MiECC unterstützen die Hypothese einer verminderten Inflamationsreaktion durch minimierte extrakorporale CPB-Systeme. Untersuchungen von Ranucci et al., Angelini et al. sowie Anastasiadis et al. konsolidieren diese Hypothese der attenuierten inflammatorischen Reaktion durch MiECC-Systeme^{26,30,285}.

Erhöhte suPAR-Spiegel korrelierten mit der AKI-Inzidenz, jedoch mit limitierter prädiktiver Power. Trotz der bekannten Assoziation zwischen suPAR und AKI zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der AKI-Inzidenz zwischen MiECC und cCPB.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass suPAR unabhängig vom angewendeten CPB-System eine AKI-Prädiktion ermöglicht, die Implementierung eines minimierten CPB-Systems jedoch nicht zwangsläufig auch zu einer signifikanten Reduktion der AKI-Inzidenz führt. Die moderate prädiktive Kapazität von suPAR für AKI könnte durch multifaktorielle Einflüsse wie Geschlecht, intraoperative Hypotension und präexistente Nierenerkrankungen bedingt sein.

Die fehlende Assoziation zwischen suPAR und POD kontrastiert mit bekannten Zusammenhängen zwischen systemischer Inflammation und neurokognitiver Dysfunktion nach operativen Eingriffen^{23,66,286}. Diese Diskrepanz erscheint paradox, da suPAR mit Endothelschäden in der Niere und anderen Organen sowie mit neurokognitiven Beeinträchtigungen in Verbindung gebracht wurde^{287–289}. Die limitierte statistische Teststärke, aufgrund der Kohortengröße sowie der Variabilität der Messdaten, könnte diese Nullhypothese erklären.

Obwohl in dieser Sekundäranalyse signifikant erhöhte suPAR-Werte bei Patienten mit Pneumonie festgestellt wurden, ist die Generalisierbarkeit dieses Ergebnisses aufgrund der geringen Inzidenz infektiöser Komplikationen sehr begrenzt.

Die Ergebnisse dieser Sekundäranalyse müssen unter Beachtung der limitierten Kohortengröße, Sekundäranalysecharakter einer Observationsstudie mit potenziellen *Confoundern* und der Beschränkung auf elektive *on-pump* CABG kritisch betrachtet werden. Unabhängig davon unterstreichen die Ergebnisse die potenzielle Rolle von suPAR als inflammatorischen Biomarker in der *on-pump* CABG-Chirurgie mit prädiktivem Potenzial für postoperative AKI, bedürfen jedoch der externen Validierung in größeren, prospektiven Kohorten zur definitiven Evaluation der klinischen Utilität.

Zusammenfassung:

Diese Studie wies reduzierte suPAR-Plasmakonzentrationen unter MiECC bei elektiven CABG im Vergleich zur Anwendung eines cCPB, als Surrogatparameter einer geringeren Inflammation, nach. Obwohl suPAR-Konzentrationen bei Patienten mit AKI signifikant erhöht waren, war der prädiktive Wert für AKI limitiert. SuPAR wies kein prädiktives Potenzial für POD auf, war aber bei den einzigen Patienten mit Pneumonie signifikant erhöht.

3.6 Soluble DLL1 als Indikator für die akute Nierenschädigung und das postoperative Delir nach elektiver *on-pump* CABG: Eine Sekundäranalyse einer prospektiven Studie (Anlage 6)

Das *Soluble Delta-Like Protein 1* (sDLL1), ein kanonischer Notch-Ligand, wurde aufgrund seines diskriminativen Potenzials als vielversprechender diagnostischer Biomarker bei Krebs-, Infektionskrankheiten und Sepsis identifiziert^{268–270 218–220,290}. Neben der Aktivierung von humanen Monozyten, dem Einfluss auf T-Zelldysfunktion, Sepsis-induzierter Immundysfunktion und der Initiierung der Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen wurde die Relevanz in der Genese von Sepsis-induzierten Endothelschäden mit resultierender Schrankenstörung beschrieben^{221,291,292,292,293,293,294,294,295,295}.

Bisherige Daten zeigen das sDLL1 bei septischen Patienten eine höhere diagnostische Genauigkeit im Vergleich zu etablierten Biomarkern wie CRP, Leukozyten und Procalcitonin aufweist²¹⁹. Allerdings könnten Einschränkungen der Nierenfunktion die Konzentration von sDLL1 beeinflussen²²⁰, welche postoperativ bei bis zu 40 % der kardiochirurgischen Patienten auftritt^{296–299}. Erste Studien an kardiochirurgischen Patienten mit CPB zeigten divergierende perioperative Konzentrationsmuster im Vergleich zu großen abdominalchirurgischen Eingriffen²²⁰. Ziel dieser Sekundäranalyse war die Untersuchung von sDLL1-Alterationen bei elektiven *on-pump* CABG im Kontext ihres potenziellen Zusammenhangs mit renaler Funktion und ihrem prädiktiven Wert für das Auftreten einer AKI. Sekundär wurde die Assoziation von sDLL1 mit dem Auftreten postoperativer unerwünschter Ereignisse analysiert, insbesondere der Zusammenhang mit postoperativen Infektionen. Des Weiteren sollte die potenzielle Assoziation mit dem Auftreten eines POD untersucht werden, da die Notch-Signalübertragung, die durch DLL1 reguliert wird, eine Schlüsselrolle bei der neuronalen Entwicklung und der Regulierung der neuronalen Apoptose spielt. Eine potenzielle Assoziation mit der Inzidenz von POD wurde bis zu dieser Untersuchung nicht durchgeführt.

In diese Sekundäranalyse wurden 90 Patienten eingeschlossen, welche sich einer elektiven *on-pump* CABG unterzogen. Der primäre Zielparameter stellte die Quantifizierung der sDLL1-Konzentration während des perioperativen Zeitraums und die Untersuchung eines potenziellen Zusammenhangs mit AKI, definiert durch die KDIGO-Kriterien²⁸⁴ (> Stadium I), dar. Zusätzlich wurden laborchemisch analysierte Nierenparameter mit der sDLL1-Konzentration als Surrogat für die Nierenfunktion korreliert. Se-

kundäre Zielparameter stellten die Inzidenz postoperativer Infektionen (definiert als Diagnose einer Pneumonie, katheterbedingten Blutstrominfektion und urogenitaler Infektion) und die Entwicklung eines POD dar.

Die Plasmakonzentration von sDLL1 wurden mittels ELISA-Kit und folgender automatisierter Absorptionsmessungen zur Konzentrationsberechnung, zu sechs Zeitpunkten quantifiziert: unmittelbar nach Einleitung der Anästhesie (T1), 15 (T2) bzw. 60 (T3) Minuten nach Beginn CPB, 15 (T4) bzw. 120 (T5) Minuten nach Beendigung CPB, sowie am ersten postoperativen Tag (T6). Informationen zur Inzidenz eines POD wurden aus der Voruntersuchung Anlage 3, basierend auf einem positiven Testergebnis eines klinischen Testinstruments zur Diagnose eines Delirs (ICD-SC, CAM-ICU), entnommen.

Die Basischarakteristika unterschieden sich mit Ausnahme einer erhöhten Inzidenz von stattgehabten Myokardinfarkten in der cCPB-Gruppe nicht. Die sDLL1-Konzentrationen waren signifikant mit einem präoperativ diagnostizierten Diabetes mellitus Typ II assoziiert (logistische Regression, $p < 0,001$). Unabhängig von der Form des angewendeten CPB stieg die Menge von sDLL1 im Vergleich zu den präoperativen Werten signifikant an. Der Einsatz der MiECC führte im Vergleich zu cCPB nicht zu signifikant niedrigeren sDLL1-Konzentrationen ($p = 0,75$), in der cCPB-Gruppe wurde ein Anstieg des Biomarkers zu früheren Messzeitpunkten beobachtet. Insgesamt 28 Patienten (31,1 %) entwickelten ein AKI-Stadium $\geq$ I (AKI I: $n = 24$ [26,7 %]; AKI II: $n = 3$ [3,3 %]; AKI III: $n = 1$ [1,1 %]). Postoperative sDLL1-Werte waren bei Patienten mit AKI statistisch signifikant höher als bei Patienten ohne AKI ($p = 0,002$). Die Plasmakonzentration von sDLL1 korrelierte mit Kreatinin, Harnstoff und glomerulärer Filtrationsrate (GFR), insbesondere in der postoperativen Phase. Die postoperativen sDLL1-Werte waren jedoch nur bedingt geeignet, eine AKI vorherzusagen. Während des Untersuchungszeitraums wurden drei (3,3 %) Fälle von Pneumonien detektiert. Diese Patienten zeigten keine signifikanten Unterschiede in sDLL1-Werten im Vergleich zu Patienten ohne Pneumonie ($p = 0,36$).

Bei der Analyse der sDLL1-Level und der POD-Inzidenz waren postoperative (T5 und T6) sDLL1-Plasmaspiegel bei Patienten mit POD signifikant erhöht und zeigten eine moderate Prädiktionsfähigkeit für das Auftreten eines POD (AUCROC 0,72, Sensitivität 0,64, Spezifität 0,73, $p < 0,001$). Ein Trend zur Prädiktion eines POD war bereits intraoperativ identifizierbar ($p < 0,05$).

Das Ziel dieser Untersuchung war es den Biomarker sDLL1 im Kontext von elektiver *on-pump* CABG auf seine Assoziation mit AKI und renalen Parametern, Infektionen und POD zu evaluieren. Diese Untersuchung liefert drei wesentliche Ergebnisse.

Erstens, die sDLL1-Konzentrationen stiegen bereits 15 Minuten nach CPB an, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen MiECC und cCPB nachweisbar waren. Dies deutet darauf hin, dass der CPB nicht der alleinige Trigger der sDLL1-Freisetzung ist – ein unerwarteter Befund, da MiECC in Studien mit reduzierten einer reduzierten Inflamationsmarkerliberation assoziiert war^{242,243,300}. Die Alterationen der perioperativen sDLL1-Level sind vergleichbar mit vorhergehenden Arbeiten²²⁰, was die Ergebnisse dieser Untersuchung stützt. Zweitens zeigte sich bei 31,1 % der Patienten eine AKI Grad $\geq$ I. Trotz signifikanter Korrelation mit Retentionsparametern und erhöhten Konzentrationen bei AKI-Patienten erwies sich sDLL1 mit einer AUC-ROC von 0,63 als limitierter prädiktiver Marker. Die diagnostische Aussagekraft war vergleichbar mit etablierten Parametern wie GFR und Kreatinin. Die fehlende präoperative Risikostratifizierung und die möglicherweise durch systemische Inflammation maskierte organ-spezifische Aussagekraft limitieren den Einsatz als singulärer AKI-Biomarker³⁰¹. Problematisch ist insbesondere eine unspezifische Veränderung von Biomarkern im Kontext dieser systemischen Inflamationsreaktion. Die Betrachtung renaler Biomarker bzw. die von AKI-Biomarkern im kardiochirurgischen Zusammenhang ist daher erschwert, wenn eine echte Nierenschädigung von dem durch den CPB verursachten entzündlichen „Hintergrundrauschen“ zu differenzieren ist. Dementsprechend reflektieren Marker wie *Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin* (NGAL) und das *Kidney Injury Molecule-1* (KIM-1), obwohl sie für die Detektion einer AKI potenziell nützlich sind, vor allem in weniger schweren Fällen einer AKI möglicherweise eher den systemischen Inflamationsstatus als einen isolierten Nierenschaden^{139,302}.

Die einzige frühere Studie zum Zusammenhang zwischen sDLL1 und AKI²²⁰ ergab eine AUCROC von 0,9 [0,82 – 0,9] für die Erkennung von AKI bei septischen und postoperativen Patienten, was auf synergistische Effekte zwischen Infektionskrankheiten und AKI hindeutet, die aber in dieser Untersuchung nicht bestanden.

Drittens wurde erstmalig eine prädiktive Assoziation zwischen erhöhten sDLL1-Konzentrationen und der Entwicklung eines POD beschrieben. Pathophysiologisch könnte dies durch eine Assoziation von sDLL1 im Zusammenhang mit neuro-inflammatorischen Prozessen und neuronaler Signaltransduktion erklärt werden^{303 218,286}. Obwohl sDLL1 robust gegenüber CPB-Verfahren, Vorerkrankungen und Medikation

erscheint, bedürfen diese Ergebnisse weiterer Validierung unter Berücksichtigung potenzieller Konfundierungsfaktoren wie Alter, kognitivem Status und Komorbiditäten.

Zusammenfassung:

Diese Observationsstudie zeigte die intra- und früh-postoperative Dynamik von sDLL1 bei *on-pump* CABG, welche bisher noch nicht beschrieben wurde. sDLL1-Konzentrationen stiegen nach Ende des CPB an, unabhängig ob eine MiECC oder cCPB verwendet wurde. Anstiege der sDLL1-Konzentrationen erfolgten in der frühen postoperativen Phase und korrelierten mit den Retentionsparametern, wiesen aber nur einen begrenzten prädiktiven Wert für AKI auf. Patienten mit POD entwickelten signifikante Erhöhungen der sDLL1-Plasmakonzentration, welche für die Identifizierung eines POD prädiktiv war.

4. Diskussion

Kardiochirurgische Operationen unter extrakorporaler Zirkulation repräsentieren einen etablierten Standard und eine regelhafte Notwendigkeit in der modernen Kardiochirurgie. In diesem Sektor stellen kardiale Bypassoperationen gegenwärtig weiter den Großteil der chirurgischen Eingriffe dar. Im Jahr 2023 wurden in Deutschland 28.996 isolierte CABG-Operationen und davon 21.398 (74 %) unter Anwendung eines CPB durchgeführt³⁰⁴. Die unadjustierte Krankenhausmortalität betrug in diesem Zeitraum bei *on-pump* CABG 2,7 %³⁰⁴, was eine signifikante Reduktion im Vergleich zu den 1980er Jahren (5 – 10 %)^{305,306} darstellt, jedoch seit 2009 (2,8 %) nahezu stagniert.

Die *on-pump* CABG-Chirurgie induziert eine komplexe inflammatorische Patientenantwort mit potenzieller konsekutiver Organdysfunktion^{15,18,40,43,64,82,87,307}.

Besonders häufig manifestieren sich postoperativ arrhythmogene Komplikationen sowie renale und neurologisch-neuropsychologische Beeinträchtigungen.

Das PAOF stellt die häufigste arrhythmogene Organdysfunktion dar und weist bei valvulären Eingriffen eine Inzidenz von 38 – 63 % und bei CABG von 10 – 33 % auf^{82,83}.

Akute Nierenschädigungen treten mit einer Inzidenz von 5 – 43 % auf³⁴, während neurologisch-neuropsychologische Dysfunktionen, insbesondere kognitive Beeinträchtigungen, bei 30 – 65 % der Patienten beschrieben werden^{61,64–66}.

Angesichts der signifikanten Auswirkungen dieser Komplikationen auf Morbidität, Mortalität und Gesundheitssystemkosten sowie einer stagnierenden Krankenhausmortalität^{5,8,62,65,70,87,89}, wurden diverse Parameter und Biomarker hinsichtlich ihrer prädiktiven Kapazität und Assoziation mit postoperativen Organdysfunktionen nach *on-pump* CABG evaluiert^{51,53,106,137,238,262}.

Viele dieser untersuchten Biomarker zeigen heterogene Ergebnisprofile in verschiedenen kardiochirurgischen Patientenkohorten, werden durch den Einsatz eines CPB moduliert und nur wenige haben Eingang in die klinische Routinediagnostik gefunden.

Die Studien dieser kumulativen Habilitationsschrift fokussieren daher auf die Evaluation innovativer serumbasierter Biomarker im Kontext der Akute-Phase-Reaktion und deren prädiktives Potenzial bezüglich Organdysfunktionen nach elektiver *on-pump* CABG.

4.1 Identifikation des inhibitorischen Effekts von *on-pump* CABG auf blutbasierte Biomarker

Die Anwendung des CPB während *on-pump* CABG induziert eine variable systemische Akute-Phase-Reaktion mit zentraler Bedeutung in der Pathogenese postoperativer Organdysfunktionen. Die wissenschaftliche Literatur im Kontext von *on-pump* CABG und Biomarker-Analytik fokussiert primär auf das proinflammatorische Potenzial, während inhibitorische Komponenten der reaktiven antiinflammatorischen Patientenantwort nur in geringen Maße charakterisiert sind.

Die Inhibition inflammatorischer Prozesse im Sinne eines inflammatorischen Gleichgewichts könnte eine wichtige Rolle in der Akute-Phase-Reaktion nach CPB spielen. Basierend auf dieser Annahme untersuchten wir AAT als Zielparameter.

AAT stellt einen essenziellen regulativen Bestandteil des endogenen antiinflammatorischen Systems dar und zeigt während inflammatorischer Episoden – analog zur Akute-Phase-Reaktion nach *on-pump* CABG^{11,30,113,114,117} – physiologisch eine ausgeprägte Konzentrationszunahme³⁰⁸.

AAT inaktiviert durch kovalente Komplexbildung die Proteasen und weist eine *Scavenger*-Kapazität gegenüber Sauerstoffradikalen auf, die durch *on-pump* CABG generiert werden und in einer Inaktivierung der Antiprotease-Funktion von AAT resultieren können^{182–185}. Tierexperimentelle Studien demonstrierten protektive Effekte von AAT bei Ischämie-Reperfusions-Schäden, Abstoßungsreaktionen von Allotransplantaten, *Graft-versus-Host-Disease*, TNF- α /Endotoxin-induzierter Letalität sowie antibakterielle Wirkungen^{186–188}. Diese Ergebnisse unterstreichen die potenziell hohe perioperative Relevanz von AAT im Kontext von Inflammationsprozessen im Zusammenhang mit *on-pump* CABG. Bemerkenswert ist die nachgewiesene effiziente Inhibition der Reifung und Sekretion von IL-1 β durch AAT¹⁹². IL-1 β besitzt im Zusammenhang mit sterilen chirurgischen Inflammationen besondere Bedeutung, da dessen Konzentrationsanstieg praktisch alle mit einer systemischen Inflammation assoziierten Symptome induziert, wie sie bei Akute-Phase-Reaktionen beobachtet werden¹⁷⁶. Entsprechend formulierten wir die Hypothese, ob das protektive antiinflammatorische Potenzial von endogenem AAT durch *on-pump* CABG beeinträchtigt wird und zu einer funktionalen Defizienz führt.

Die Ergebnisse dieser Pilot-Studie weisen auf einen geringgradigen hemmenden Effekt von *on-pump* CABG auf die Aktivität der AAT-inhibierenden ATP-vermittelten IL-1 β -Liberation und Antiprotease-Aktivität hin. Diese Resultate müssen kritisch evaluiert

werden aufgrund der limitierten Patientenzahl und der selektierten Messzeitpunkte. Die Auswirkungen des *on-pump* CABG müssen primär in die „Frühphase“ der inflammatorischen Antwort eingeordnet werden, da die zuletzt analysierten Proben 15 Minuten nach CPB-Ende gewonnen wurden. Die inflammatorische Reaktion in der „Frühphase“ wird maßgeblich durch den Kontakt des Patientenblutes mit den artifiziellen Oberflächen der extrakorporalen Zirkulation und das chirurgische Trauma determiniert, während die inflammatorische „Spätphase“ durch Ischämie-Reperfusionsschäden und Endotoxinämie initiiert wird²⁵¹. Die Hypothese der zeitlichen Relevanz der inflammatorischen Antwort wird durch Beobachtungen gestützt, dass die Konzentration von AAT-neutrophilen Elastasekomplexen zwischen dem Ende des CPB und 240 Minuten postoperativ signifikant ansteigt²⁵⁰.

Zusammenfassend zeigte die Studie, dass die antiinflammatorische Signaltransduktion im Rahmen des CPBs eine größere Rolle spielen könnte als bisher angenommen. Allerdings ist hervorzuheben, dass in der untersuchten Kohorte kein Patient eine systemische Inflammation oder Sepsis entwickelte.

Im Kontext der Immunopathogenese der Sepsis wird neben dem SIRS ein kompensatorisches antiinflammatorisches „Antwort-Syndrom“ das *Compensatory Anti-Inflammatory Response Syndrome* (CARS) beschrieben. Dieses beinhaltet die exzessive Liberation immunsuppressiver Mediatoren, Deaktivierung von Monozyten und T-Lymphozyten und Verlust von Immunzellen durch Apoptose^{309,310}. Diese gemischt pro-antiinflammatorische Patientenantwort weist keinen sequenziellen Charakter auf, sondern wurde zeitlich parallel beobachtet, was das dysregulative Potenzial zwischen hyperinflammatorischem Status und Immunsuppression unterstreicht. Die Relevanz des CARS ist im kardiochirurgischen Bereich gegenwärtig unklar, während CARS bei Sepsis mit gesteigerter Infektneigung, Morbidität und Mortalität assoziiert werden konnte^{310–312}.

Weiterführende Studien sollten evaluieren, ob sich die AAT-Konzentrationen bei Patienten mit schweren postoperativen Inflammationen signifikant von Patienten ohne ausgeprägte inflammatorische Antwort differenzieren.

Die Signaltransduktion von AAT involviert den *Scavenger*-Rezeptor CD36 (*Cluster of Differentiation*), die Aktivierung der Phospholipase A2 β und die Freisetzung eines nicht vollständig charakterisierten cholinergen Faktors niedriger molekularer Masse. Dieser cholinerge Faktor fungiert als nikotinerger Agonist und induziert die metabotrope Signaltransduktion an monozytischen nikotinergeren Acetylcholinrezeptoren, welche P2X7-

Rezeptoren inhibieren, wodurch zentrale proinflammatorische Faktoren (NLRP3-Inflammasombildung, IL-1 β -Prozessierung) supprimiert werden¹⁹⁰.

Das cholinerge System und dessen Modulation erscheinen somit von kritischer Bedeutung im Kontext inflammatorischer Prozesse und Akute-Phase-Reaktionen nach *on-pump* CABG. Die Ergebnisse dieser Untersuchung und die identifizierte Assoziation von AAT mit dem cholinergen System initiierten die systematische Evaluation cholinergischer Biomarker im Mittelpunkt der weiteren Untersuchungen.

4.2 Identifikation cholinergischer Biomarker im Kontext von *on-pump* CABG und deren Assoziation mit postoperativen Organdysfunktionen

Zur Evaluation cholinergischer Alterationen wurde mittels photometrischer POC-Analytik die AChE und BChE-Aktivität bei *on-pump* CABG untersucht (Anlage 2). Während präoperative AChE- und BChE-Aktivitäten im physiologischen Bereich lagen, wurde nach *on-pump* CABG eine signifikante Alteration der Enzymaktivitäten beobachtet, wobei beide Cholinesterasesubtypen divergierende Aktivitätsmuster im postoperativen Verlauf über sieben Tage aufwiesen. Der Aktivitätsverlust der AChE war gegenüber der BChE weniger ausgeprägt, erholte sich schneller (Tag 2) und befand sich durchgehend innerhalb physiologischer Grenzwerte, während die BChE-Aktivität bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes unterhalb physiologischer Grenzwerte lag.

Es wurde keine Assoziation zwischen postoperativer inflammatorischer Reaktion (quantifiziert durch Leukozytenzahl, CRP und PCT) und den analysierten Cholinesterasesubtypen beobachtet. Jedoch wies keiner der untersuchten Patienten eine Sepsis auf.

Diese Ergebnisse deuten möglicherweise darauf hin, dass eine nicht-septische Inflammation nach *on-pump* CABG keine ausgeprägten Veränderungen der AChE-Aktivität verursacht und ein stabiler postoperativer Verlauf der AChE-Aktivität einen potenziellen diskriminierenden Biomarker zum Ausschluss eines septischen Krankheitsbildes darstellt. In der Literatur wurden Sepsis und Zustände, in denen eine bakterielle Proliferation inhibiert und kontrolliert wird, mit AChE-Aktivitätsreduktionen assoziiert^{201,202,264}. Reduktionen der BChE-Aktivität, wie sie auch in dieser Studie auftraten, wurden dagegen im Zusammenhang mit sterilen Inflammationen nach Operationen und Trauma beschrieben, was die Ergebnisse dieser Studie bestätigen kann^{198,199,258,313}.

Das neuronale und non-neuronale cholinerge System nimmt eine zentrale Rolle in der neurologischen und immunologischen Signaltransduktion ein, indem es die bidirektionale Kommunikation zwischen zentralen und peripheren neuronalen Netzwerken, Immunzellen, Zytokinen und neuroendokrinen Hormonsystemen vermittelt. Cholinerge Alterationen als endogene Antwort auf sterile und nicht-sterile Inflammationen können, basierend auf dem bidirektionalen Signalaustausch zwischen zentralem Nervensystem und peripheren neuronalen Netzwerken, neuroinflammatorische Prozesse induzieren, welche in Neurotransmitter-dysregulationen und Diskonnektivität zerebraler

Netzwerke resultieren können und sich klinisch als zerebrale Organdysfunktion in Form eines POD manifestieren können^{69,71,74,194,259–261}.

In unserer Untersuchung zeigte sich, dass *post-on-pump* CABG BChE-Aktivitätsreduktionen signifikant mit dem Auftreten eines POD assoziiert waren (definiert mittels validierter Testinstrumente: CAM-ICU, ICDSC), während AChE-Alterationen keine Diskrimination ermöglichten. Ein postoperativer BChE-Aktivitätsabfall gegenüber dem präoperativen Ausgangswert war stark prädiktiv für die Entwicklung eines POD, wobei der deutlichste Rückgang innerhalb der ersten 24 Stunden postoperativ auftrat und in der POD-positiven Gruppe signifikant stärker ausgeprägt war. Eine deutlichere Abnahme der postoperativen BChE-Aktivität war mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eines POD verbunden. Daher könnte die POC-Analyse der BChE-Aktivität mittels eines direkten, einfach anzuwendenden photometrischen Verfahrens einen vielversprechenden Biomarker für die Risikostratifikation von *on-pump* CABG-Patienten mit POD-Risiko in der stationären Behandlung darstellen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung deuten darauf hin, dass nicht primär präoperative Faktoren die Aktivität der Cholinesterasesubtypen beeinflussen, wie in der Literatur beschrieben^{253,254}, sondern vorwiegend intraoperative Stressoren in einer cholinergen Dysregulation resultieren. Auch wenn die Ergebnisse dieser Observationsstudie keinen kausalen Zusammenhang zwischen BChE-Aktivität und dem Auftreten eines POD darstellen können, repräsentieren sie eine relevante Erweiterung der Analytik von Cholinesterasesubtyp-Aktivitäten im perioperativen Kontext der Kardiochirurgie in einer operativ homogenisierten Kohorte.

Die Prävention eines POD, einschließlich der Früherkennung von Patienten mit erhöhtem Risikoprofil, erfordert komplexe Strategien, selbst wenn validierte Therapieansätze existieren. Präventions- und Risikoreduktionsstrategien integrieren pharmakologische und non-pharmakologische Ansätze, um einerseits das cholinerge System möglichst wenig medikamentös zu beeinträchtigen^{314,315} und andererseits non-pharmakologisch durch Präventionsstrategien (kognitive Orientierung, soziale Unterstützung, Implementierung von Schlafprotokollen, Unterstützung bei der Ernährung und Mobilisierung, Schulung des Gesundheitspersonals) dem Auftreten eines POD vorzubeugen^{316,317}.

Nach Identifikation eines potenziellen prädiktiven POD-Biomarkers wurde in einer konsekutiven Untersuchung ein prädiktiver POD-Index für kardiochirurgische Eingriffe in einer homogenisierten Kohorte von *on-pump* CABG-Patienten evaluiert. Zusätzlich

wurde die potenzielle Optimierung durch Integration der POC-erhobenen BChE-Aktivität untersucht und eine statistisch basierte Optimierung der inkludierten Indexparameter durchgeführt (Anlage 3). Die Untersuchung konnte im ersten Schritt zeigen, dass der originäre CARDEL-Index¹³³ in einer operativ homogenisierten *on-pump* CABG-Kohorte eine moderate Vorhersagekraft für ein POD aufwies. Zweitens resultierte die Integration des Parameters BChE-Aktivität in einer Zunahme der prädiktiven Power. Drittens bestätigten multivariate Analysen die meisten im CARDEL-Index inkludierten Parameter, exkludierten jedoch die *Platelet-to-White-Blood-Cell Ratio* als unabhängigen Risikofaktor für ein POD und konnten durch einen Parameteraustausch das Potenzial zur Prädiktion einer POD weiter steigern. Die Exklusion des Parameters PWR wird durch Ergebnisse einer aktuellen Metaanalyse³¹⁸ (n = 11.579) kritisch kranker Patienten gestützt, in welcher eine Inhomogenität bezüglich des prädiktiven Werts verschiedener Zellreihen-Ratios in Bezug auf das Auftreten eines Delirs beschrieben wurde. Basierend auf der multimodalen Beeinflussung dieses Messparameters^{319–323} erscheint eine isolierte Nutzung zur POD-Diagnostik nicht gerechtfertigt, sondern wie bereits beschrieben¹³³, eher in einem Multiparameteransatz sinnvoll.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen potenzielle limitierende Faktoren in der POD-Kohorte berücksichtigt werden, die durch externe Validierung reevaluiert werden sollten. Analog zur Vorstudie (Anlage 2) kann ein Einfluss chronischer Faktoren die BChE-Aktivitätsmuster beeinflussen haben, wie Cholinesterasedefizitsyndrome, genetische Varianten, Polymorphismen und Mutationen. Ein herausragender Vorteil des optimierten CARDEL-Index besteht darin, dass alle erhobenen und inkludierten Parameter des optimierten Prädiktionsmodells innerhalb der ersten 24 Stunden nach *on-pump* CABG verfügbar sind, was die klinische Implementierung und Praktikabilität erleichtert und den Mangel an präoperativen Parametern kompensieren kann.

4.3 Identifikation des Einflusses von minimierten im Vergleich zu konventionellen CPB-Systemen auf neue Biomarker

In den Voruntersuchungen wurden verschiedene Zielparameter auf ihren grundsätzlichen Nutzen als Biomarker in Herzchirurgie untersucht. Wie oben beschrieben können aber patienten- wie aber auch Eingriffs-assoziierte Einflussfaktoren die Kinetik und somit die Prädiktion der Biomarker beeinflussen. Daher war es der nächstlogische Schritt den Einfluss von verschiedenen CPB-Typen zu untersuchen. Daher evaluierten die anschließenden Sekundäranalysen (Anlage 4, 5 und 6) den Einfluss von MiECC, im Vergleich zu cCPB auf die Liberation spezifischer Biomarker während elektiver *on-pump* CABG.

Die selektierten Ziel-Biomarker stellten mtDNA als Zellschädigungsindikator, sDLL1 und suPAR als proteinogen-regulative Zielstrukturen im Zusammenhang mit Inflammation, Koagulation und Organdysfunktion dar.

Es ist bekannt, dass die Anwendung eines MiECC-Systems neben einer reduzierten inflammatorischen Antwort^{26,277,278} auch einen protektiven Einfluss auf renale, myokardiale und neurologische Organfunktionen aufweist^{31,276,324}. Zum Zeitpunkt der Untersuchung war allerdings nicht bekannt, ob sich die Liberation frei zirkulierender mtDNA nach CABG unter MiECC von der unter cCPB unterscheidet. Es bestanden aber bereits Hinweise, dass Alterationen der mtDNA-Konzentration mit Organdysfunktionen nach CPB assoziiert sind. Kardiochirurgische Patienten mit einer systemischen Entzündungsreaktion wiesen erhöhte mtDNA-Spiegel im peripheren Blut auf, was mit einer höheren Inzidenz von POAF assoziiert werden konnte^{145,211,212}.

Bezogen auf die Quantifizierung der mtDNA identifizierte die Studie signifikante Alterationen der mtDNA im zeitlichen Verlauf, mit einem initial deutlichen Anstieg unmittelbar nach Beginn des CPB. Gefolgt wurde diese Kinetik von einem signifikanten Abfall nach Beendigung des CPB, unabhängig von der Art des verwendeten CPB-Verfahrens, wobei die Kinetik zwischen den beiden CPB-Subgruppen signifikant differierte (Anlage 4).

Die Primärhypothese der Untersuchung konnte bestätigt werden, da die Konzentration frei zirkulierender mtDNA bei Anwendung eines MiECC gegenüber einem cCPB für CABG signifikant reduziert war. Diese Beobachtung war ausschließlich in der Zusammenfassung aller Messzeitpunkte verifizierbar. Die Einzelzeitpunkt-Analysen zeigten

zwar eine Tendenz zur reduzierten mtDNA-Freisetzung, erreichten jedoch keine statistische Signifikanz. Hierfür sind potenziell zwei Faktoren ursächlich: Erstens resultierte das explorative Studienkonzept im Rahmen einer Sekundäranalyse in einer Reduktion der Studienpopulation, um einen etwaigen Einfluss einer hämodynamischen Optimierung zu exkludieren. Zweitens manifestierte sich eine ausgeprägte Variabilität der mtDNA-Messwerte mit erheblicher Überlappung der Interquartilbereiche, insbesondere präoperativ, wobei der Median der MiECC-Gruppe trotz größerer Interquartilspanne niedriger lag als in der cCPB-Gruppe. Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass in der cCPB-Gruppe eine höhere Prävalenz von Myokardinfarkten (akut oder innerhalb der letzten 90 Tage präoperativ) vorlag, die mit erhöhten mtDNA-Konzentrationen assoziiert sein könnte²¹⁵.

Während die absoluten mtDNA-Plasmawerte während des cCPB mit der Literatur vergleichbar waren, unterschied sich die weitere Kinetik. Frühere Studien beschrieben progrediente Messwerte nach Initiation des CPB mit Spitzenwerten erst > 12 Stunden post-CPB^{147,211,212}, während sich in der vorliegenden Untersuchung die mtDNA-Werte bereits zu diesem Zeitpunkt annähernd normalisiert hatten. Diese Diskrepanz könnte auf verschiedene mtDNA codierende Moleküle in der qPCR (Cytochrom B) oder alternative chirurgische oder perfusionistische Methoden zurückzuführen sein.

Bezogen auf die sekundären Zielparameter der Studie zeigte diese weder eine Korrelation zwischen den mtDNA-Plasmakonzentrationen und AKI noch mit postoperativen Infektionen, insbesondere nicht mit der Wiederaufnahmerate auf die Intensivstation oder inflammatorischen Surrogat-Parametern (CRP, PCT, Leukozytenzahl).

Interessanterweise identifizierte die Einzelzeitpunkt-Analyse eine signifikante, von der Studiengruppe unabhängige Assoziation mit POAF in der Frühphase des kardiopulmonalen Bypasses. Das POAF-Risiko erhöhte sich um das Fünffache bei einem mtDNA-Anstieg > 650 Kopien/L. Zu diesem Zeitpunkt wies die mtDNA-Konzentration eine moderate prädiktive Aussagekraft für die Detektion eines POAF auf, was mit der Literatur kongruent ist^{147,279}.

Die Interpretation der Ergebnisse erfordert eine kritische Betrachtung aufgrund des breiten Konfidenzintervalls der *Odds Ratio*, bedingt durch hohe Datenvarianz und limitierte Patientenzahl. Da die Studie nicht primär für Outcome-Analysen konzipiert wurde, ist eine unzureichende statistische Power möglich. Dennoch wird das Ergebnis durch Sandler et al. gestützt, die trotz geringerer Patientenzahl (n = 16) eine Korrelation zwischen mtDNA-Freisetzung und POAF nachwiesen¹⁴⁷. Die einzige verfügbare

Beobachtungsstudie mit größerem Patientenkollektiv (n = 485) untersuchte *off-pump* Herzchirurgie und ist aufgrund des fehlenden CPB-Einsatzes und der daraus resultierenden geringeren mtDNA-Liberation sowie der Verwendung eines anderen Polymerasekettenreaktions-Primers nur limitiert vergleichbar ²⁸¹.

Neben der Assoziation der mtDNA-Level mit dem Auftreten einer POAF, scheint die mtDNA-Freisetzung auch mit Parametern der myokardialen Schädigung zu korrelieren, was sich in der positiven Korrelation mit den postoperativen Konzentrationen der Kreatinkinase (CK) und Kreatinkinase-MB (CK-MB) manifestiert und die Bedeutung der mtDNA als DAMP unterstreicht. Ob jedoch das chirurgische Trauma oder Auswirkungen des CPB die mtDNA-Liberation führend beeinflussen kann nicht kausal determiniert werden. Die in den Messungen beobachtete ausgeprägte Datenvarianz impliziert die Notwendigkeit größerer Patientenkohorten zur validen Etablierung von Referenzwerten und Kinetikprofilen in konsekutiven Studien.

In einem analogen methodischen Ansatz mit einer homogenen Patientenkohorte von elektiven *on-pump* CABG-Patienten (Anlage 5), wurde der Biomarker suPAR evaluiert, welcher auf Proteinebene mit koagulativen, inflammatorischen und immunmodulatorischen Kaskaden interagiert^{225,226,280,281}. Studien an diversen Patientenkohorten demonstrierten eine Assoziation mit renalen Organdysfunktionen^{229,230,325}. Neben der Analyse potenziell divergierender Biomarker-Kinetikprofile zwischen MiECC und cCPB, erfolgte sekundär die Evaluation von suPAR als Prädiktor für AKI, POD und postoperative Infektionen.

Hinsichtlich des primären Endpunkts zeigten sich unter MiECC signifikant niedrigere suPAR-Konzentrationen im Vergleich zu cCPB. Die multivariate Regressionsanalyse identifizierte MiECC als unabhängigen Einflussfaktor auf suPAR-Spiegel, unabhängig von POD, Pneumonie, Myokardinfarkt, Angina pectoris und anderen Vorerkrankungen. Dies ist relevant zu erwähnen, da die Studienpopulation generell eine hohe Prävalenz von Komorbiditäten aufwies und in der cCPB-Gruppe signifikant häufiger Myokardinfarkte innerhalb von 90 Tagen präoperativ sowie cerebrovaskuläre Ereignisse auftraten. Eine Assoziation zwischen suPAR-Konzentrationen und kürzlich aufgetretenen Myokardinfarkten (< 90 Tage präoperativ) wurde dabei nachgewiesen. Zum Zeitpunkt der Untersuchung war nicht bekannt, ob die Freisetzung plasmatischer suPAR-Konzentrationen nach CABG unter MiECC von der unter cCPB differiert und stellt somit eine Erstbeschreibung in der Literatur dar, deren Ergebnis durch diverse Untersuchungen im Kontext reduzierter inflammatorischer Biomarkern während MiECC gestützt

wird^{26,29,30,243}. Dieses Resultat sollte trotz der Kongruenz mit analogen Studien aufgrund der limitierten Kohortengröße und des Sekundärstudiencharakters in einem prospektiven Ansatz an einer größeren Kohorte verifiziert werden.

Auf Grund seiner physiologischen Funktion in der Niere, wurde als sekundärer Endpunkt die Assoziation zwischen suPAR und dem Auftreten einer AKI (Stadium I – III) untersucht, welche sich in 31,6 % der Patienten entwickelte (AKI-Stadium I – II: n = 25 (31,6 %), AKI-Stadium III: n = 0). Zwar erreichte der Gruppenunterschied zwischen Patienten mit und ohne AKI eine statistische Signifikanz, allerdings mit geringem Unterschied in den absoluten Werten, welches dazu führte, dass sich keine Differenz in der AKI-Inzidenz zwischen den CPB-Systemen zeigte. Die Regressionsanalyse ergab eine 37 %ige Erhöhung der AKI-Wahrscheinlichkeit pro suPAR-Einheit, jedoch mit limitierter prädiktiver Validität in der ROC-Analyse. Eine Untersuchung von Mossanen et al.³²⁶ wies ebenfalls eine geringe Vorhersagekraft für AKI auf (AUC-ROC 0,6 vs. 0,647 vs. 0,613). Dies erscheint zunächst paradox, da suPAR pathophysiologisch mit renalen Reparaturmechanismen assoziiert ist, könnte jedoch durch die multifaktoriellen Einflüsse auf die AKI-Genese erklärt werden. Die kardiochirurgisch assoziierte AKI wird neben dem CPB und damit assoziiertem non-pulsatilen Fluss, oxidativem Stress, Hämodynamikalterationen mit resultierender Hypoperfusion und inflammatorischer Induktion auch durch medikamentöse, nephrotoxische Faktoren sowie patientenspezifische Aspekte, wie präexistente Nierenerkrankungen beeinflusst³⁷.

Eine Assoziation von suPAR-Alterationen und einem POD konnte nicht identifiziert werden. Die Hypothese eines potenziellen Zusammenhangs basierte auf der etablierten Assoziation von POD und Neuroinflammation nach CPB und kardiochirurgischem Trauma^{63,66,274}. Unsere Daten deuten darauf hin, dass suPAR singularär kein geeigneter Biomarker für POD repräsentiert. Dies erscheint kontraintuitiv, da suPAR mit Endothelschäden in der Niere und anderen Organen sowie mit neurokognitiven Beeinträchtigungen assoziiert wurde^{287–289}. Diese Erwartung bestand, da analog zu den Assoziationen von suPAR mit Endothelschädigungen, CPB-assoziierte Beeinflussungen der Blut-Hirn-Schranke beschrieben sind.

Blut-Hirn-Schranken-gängige Zytokine affektieren direkt zerebrale Immunzellen wie Mikroglia und steigern gleichzeitig deren Permeabilität. Die endotheliale Aktivierung nimmt dabei eine zentrale Rolle durch Steigerung der Expression von Adhäsionsmolekülen ein, was die Leukozytentransmigration ins Hirngewebe erleichtert und die lokale, neuronale Entzündung verstärkt^{261,327}. Diese Kaskade kann zu einer anhaltenden

Neuroinflammation führen, die das Risiko postoperativer neurokognitiver Dysfunktion erhöht. SuPAR-Konzentrationen waren bei Patienten mit Pneumonie deutlich erhöht, was aber vor dem Hintergrund von nur zwei Patienten mit zehn Messpunkten nicht als signifikantes Ergebnis gewertet werden kann. Dennoch würde dies der pathophysiologischen Funktion und mit anderen Studien übereinstimmen.

Neben der Relevanz von suPAR im Zusammenhang mit inflammatorischen und infektiologischen Prozessen konnten Studien an Pneumonie-Patienten aufzeigen, dass suPAR ein vielversprechender Biomarker zur Beurteilung des Schweregrades verschiedener Pneumonieformen ist, einschließlich ambulant erworbener, nosokomialer und COVID-19-assoziiierter Pneumonien^{328–330}. SuPAR-Spiegel bei Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie, im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen, waren signifikant erhöht und korrelierten mit dem Pneumonie-Schweregrad-Index³³¹.

Diese Ergebnisse erweitern das Verständnis der inflammatorischen Prozesse unter verschiedenen HLM-Systemen, wobei die klinische Relevanz der suPAR-Bestimmung zur Risikostratifizierung weiterer Validierungsbedarf.

Nach der Evaluation zweier potenzieller Biomarker aus dem Bereich der Nukleinsäuren und Glykoproteine, fokussierte die nachfolgende Untersuchung auf das sDLL1, einen transmembranösen Notch-Rezeptor-Liganden. SDLL1 wurde primär im Zusammenhang mit Sepsis-Patienten als vielversprechender Biomarker mit diskriminativem Potenzial identifiziert^{218–220}. Untersuchungen an Kohorten mit erhöhtem Risiko für Nierenschädigungen im Kontext septischer Erkrankungen demonstrierten eine Beeinflussung der sDLL1-Konzentrationen durch die renale Funktion (quantifiziert durch Kreatinin, Harnstoff und glomeruläre Filtrationsrate)²¹⁸. Um diesen Einflussfaktor näher zu untersuchen, wurde eine Kohorte mit einem relevanten Risiko für AKI gesucht, welches kardiochirurgische Patienten darstellten. Daher zielte die vorliegende Studie darauf ab, die sDLL1-Spiegel bei elektiven *on-pump* CABG zu untersuchen, um deren potenzielle Assoziation mit der renalen Funktion und ihren prädiktiven Wert für die Detektion einer AKI zu explorieren. Als sekundäres Studienziel sollte die potenzielle Assoziation von sDLL1 mit postoperativen Organdysfunktionen evaluiert werden, insbesondere angesichts seiner etablierten Rolle als Sepsis-Biomarker, im Zusammenhang mit postoperativen Infektionen. Zusätzlich wurde die Assoziation von sDLL1 mit der Inzidenz von POD analysiert, dessen prädiktives Potenzial bis zu dieser Untersuchung nicht evaluiert worden war.

Die Untersuchung erbrachte drei zentrale Erkenntnisse im Kontext elektiver *on-pump* CABG:

Erstens identifizierte die Studie intra- und frühe postoperative Dynamiken der sDLL1-Konzentration. Die sDLL1-Konzentration zeigte bereits 15 Minuten nach Beendigung des CPB einen signifikanten Anstieg, unabhängig von der verwendeten Bypass-Technik (MiECC vs. cCPB). Die Identifikation des CPB-System-unabhängigen sDLL1-Zunahme suggeriert, dass die Anwendung eines CPB nicht den singulären Induktor einer sDLL1-Liberation darstellt. Interessanterweise korrelierte ebenfalls nicht die Prozessvariable der CPB-Dauer mit sDLL1-Alterationen, sondern die Anästhesiedauer. Zusammenfassend erscheint somit nicht die extrakardiale Zirkulation den primären Einflussfaktor auf Alterationen des Biomarkers sDLL1 während *on-pump* CABG darzustellen. Dieses Ergebnis war unerwartet, betrachtet man die wiederholte Beschreibung einer reduzierten Freisetzung von inflammatorischen Biomarkern nach dem Einsatz einer MiECC^{242,243,300}. Interessanterweise manifestierte sich diese Interferenzresistenz auch gegenüber präoperativen Faktoren, wie Dauermedikationen oder Komorbiditäten, mit Ausnahme eines präexistenten Diabetes mellitus Typ II, was bis zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht beschrieben worden war.

Zweitens wies diese Untersuchung eine Korrelation von sDLL1-Alterationen mit renalen Parametern nach, wobei sDLL1 bei Patienten mit AKI gegenüber Patienten ohne AKI signifikant erhöht war. Jedoch wiesen postoperative sDLL1-Konzentrationen nur eine limitierte prädiktive Vorhersagekraft für AKI auf, die bezogen auf Sensitivität und Spezifität aber vergleichbar mit GFR, Kreatinin und Harnstoff waren. Die zum Zeitpunkt dieser Untersuchung einzige andere Studie, welche den Zusammenhang zwischen AKI und sDLL1 analysierte, beschrieb eine AUC-ROC von 0,9 [0,82 – 0,9]²²⁰. Jedoch bestand das betrachtete Kollektiv aus septischen und postoperativen Patienten, was auf einen potenziellen synergistischen Effekt zwischen infektiösen Erkrankungen und AKI hindeuten kann. Die durch den CPB induzierte Akute-Phase-Reaktion, welche die Aktivierung von Zytokinen, Komplementkaskaden und Leukozyten umfasst, kann zu einer unspezifischen Elevation der Biomarker führen. Diese generalisierte Erhöhung kann konsekutiv die Spezifität der Biomarker für eine AKI reduzieren, wodurch die Differenzierung zwischen einer genuinen renalen Schädigung und dem durch den CPB verursachten inflammatorischen Hintergrundrauschen signifikant erschwert wird. Zusammenfassend repräsentiert sDLL1 keinen ideal geeigneten solitären Biomarker für die Prädiktion einer AKI im kardiochirurgischen Kontext. Jedoch

sollte seine Assoziation mit der Nierenfunktion bei der Verwendung als infektiologischer Biomarker Berücksichtigung finden. Darüber hinaus könnte sDLL1 im Rahmen von Multi-Biomarker-Panels, die gegenwärtig für die AKI-Detektion nach kardiochirurgischen Interventionen evaluiert werden, einen supplementären diagnostischen Nutzen aufweisen^{38,301}.

Drittens identifizierte diese Untersuchung, dass postoperative sDLL1-Konzentrationen bei POD signifikant erhöht waren und darüber hinaus sDLL1 prädiktive Potenz für das Auftreten eines POD aufwies. Diese Ergebnisse waren die erste beschriebene Assoziation von sDLL1 und POD, müssen aber bis zur Validierung durch nachfolgende Studien kritisch evaluiert werden. Mögliche Einflussgrößen im Zusammenhang mit POD könnten die Interaktion von sDLL1 mit inflammatorischen und neuroinflammatorischen Prozessen sowie der Zusammenhang zwischen sDLL1 und neuronaler Signaltransduktion und Zelladhäsionsregulation sein^{218,286,303}. Eine Limitation der Untersuchung in Bezug auf den prädiktiven Wert zur Identifikation von Risikopatienten für das Entwickeln einer POD kann möglicherweise in patientenspezifischen Faktoren wie Alter, kognitiver Beeinträchtigung oder präoperativen Komorbiditäten gefunden werden, welche das Risiko für POD und Alterationen von sDLL1 beeinflussen.

Eine methodische Ergänzung wäre die additive Analyse von Urin-sDLL1-Konzentrationen gewesen, um serologische und post-renale Konzentrationen komparativ zu evaluieren. Weitere Studien sind erforderlich, um die zugrundeliegenden Mechanismen der sDLL1-Freisetzung bei kardiochirurgischen Patienten und deren Kinetik besser zu verstehen.

4.4 Zusammenfassende Diskussion und Ausblick

Ein zentraler Bestandteil kardiochirurgischer Operationen stellt, in unterschiedlichen Szenarien der Bypass- und Klappenchirurgie, der Einsatz eines CPB-Systems dar. Perioperative CPB-assoziierte Organdysfunktionen stellen jedoch weiterhin signifikante negative Einflussfaktoren für das Kurz- und Langzeit-Outcome kardiochirurgischer Patienten dar. Diese Komplikationen betreffen mit hoher Inzidenz den neuropsychologischen und renalen Bereich, sowie das kardiale Reizleitungssystem und verursachen erhebliche gesundheitsökonomische Belastungen. Das Management der kardiochirurgischen *on-pump* CABG-Population erfordert daher eine frühzeitige und effektive Risikostratifizierung, um eine spezifische klinische Entscheidungsfindung für chirurgische, anästhesiologische, pharmakologische und perfusionistische Modifikationen zu ermöglichen^{39,276,277,300}. Klinisch leicht zu implementierende und reproduzierbare Evaluationsstrategien sind erforderlich, um eine individualisierte Risikoprädiktion und Risikominimierung, im Idealfall bereits präoperativ, ohne gesteigerten Aufwand oder Belastungen für den Patienten, zu ermöglichen.

Die sechs Studien dieser Habilitationsschrift untersuchten systematisch verschiedene Biomarker-Ansätze im Kontext elektiver *on-pump* CABG-Operationen und haben das Forschungsgebiet der perioperativen Biomarkeranalytik in der Kardioanästhesie in mehreren wesentlichen Aspekten erweitert.

Die erste Studie zu $\alpha 1$ -Antitrypsin konnte zeigen, dass dieser endogene Protease-Inhibitor seine Fähigkeit zur Hemmung der ATP-induzierten IL-1 β -Freisetzung während *on-pump* CABG nur geringfügig verliert, während die Anti-Protease-Funktion unbeeinträchtigt bleibt. Dieses Erkenntnis ist von hoher Relevanz, da sie nahelegt, dass endogene autoregulative protektive Mechanismen, trotz der Induktion inflammatorischer Kaskaden und Prozesse unter dem CPB, weitgehend erhalten bleiben. Die Frage einer therapeutischen AAT-Augmentation, zur Abschwächung postoperativer Inflamationsreaktionen, könnte einen interessanten Untersuchungsansatz im Rahmen von kardiochirurgischen Interventionen darstellen.

Die zweite Studie untersuchte mittels POC-Analytik die Aktivität von Cholinesterasesubtypen, in welcher BChE-Aktivitätsalterationen als klinisch praktikabler, bettseitig implementierbarer Biomarker für die POD-Risikostratifizierung identifiziert wurde. Der postoperative BChE-Abfall am ersten postoperativen Tag korrelierte signifikant mit der POD-Inzidenz und ermöglicht eine frühe Identifikation von Risikopatienten. Klinisch

könnte diese Biomarker-basierte Identifikation genutzt werden, um Strategien zu initiieren, welche einen positiven Einfluss auf das Auftreten eines POD und/oder dessen Persistenz aufweisen. Multimodale Interventionen wie optische und akustische Orientierungshilfen, kognitive Stimulation, Frühmobilisierung und Schlafhygiene könnten effektiv initiiert werden und deren Einfluss auf identifizierte Risikokollektive untersucht werden.

Die dritte Studie diene, darauf aufbauend, der Optimierung des CARDEL-Index, der nach aktuellem Kenntnisstand den einzigen kombinierten Biomarker-basierten POD-Prädiktionsansatz bei kardiochirurgischen Patienten darstellt. Durch Integration von Patientenalter, BChE-Abfall, HbA1c und postoperativem Hämoglobin konnte eine signifikant optimierte POD-Prädiktion erreicht werden, wobei HbA1c als stärkster Risikofaktor identifiziert wurde, gefolgt von der BChE-Aktivitätsreduktion, postoperativer Anämie und dem Patientenalter. Die Untersuchung und Reproduktionsfähigkeit des optimierten Index in alternativen kardiochirurgischen Sektoren (Klappenchirurgie, Kombinationseingriffe, altersadaptierte Kohorten etc.), mit integrierten Interventionsstrategien, wie oben beschrieben, muss dessen Validierung in der Kardiochirurgie weiter untersuchen.

Die vierte und fünfte Studie stellen Erstbeschreibungen der mtDNA- und suPAR-Kinetik unter MiECC im Vergleich zum cCPB dar. Beide Biomarker zeigten signifikant niedrigere Konzentrationen bei MiECC-Patienten im Vergleich zu cCPB, wobei erhöhte mtDNA-Werte mit POAF und suPAR-Alterationen mit einer erhöhten AKI-Inzidenz assoziiert waren. Diese Befunde unterstützen die Hypothese, dass der Einsatz von MiECC-Systemen mit einer reduzierten inflammatorischen Antwort einhergeht, und bestätigen somit vorhandene Studienergebnisse^{26,27,30,244,285}.

Die sechste Studie identifizierte sDLL1 als neuen Biomarker mit moderater Prädiktionsfähigkeit sowohl für das AKI als auch das POD, wobei die Konzentrationen unabhängig vom CPB-System (MiECC vs. cCPB) anstiegen, was auf einen Zusammenhang der systemischen inflammatorischen Antwort und den Faktoren wie chirurgischer Stress und extrakorporale Zirkulation hinweist.

Die durchgeführten Untersuchungen weisen jedoch Limitationen auf. Die Arbeiten sind monozentrische Kohortenstudien mit limitierten Fallzahlen, was die statistische Power insbesondere für Subgruppenanalysen limitierte und die Analyse seltener Komplikationen wie Pneumonien oder die Differenzierung zwischen verschiedenen AKI-Schweregraden limitiert. Mehrere Untersuchungen stellten Sekundäranalysen dar, welches

die Kontrolle über potenzielle *Confounder* begrenzt, während die fehlende Randomisierung zwischen MiECC- und cCPB-Gruppen einen Selektionsbias eingeführt haben könnte, da die CPB-Systemwahl auf einem klinischem Urteil basierte. Die Einschränkung auf weiße kaukasische Patienten limitiert die Generalisierbarkeit der Ergebnisse, da ethnische Unterschiede in Biomarkerkonzentrationen, nicht berücksichtigt wurden. Zusätzlich wurden präexistierende Erkrankungen, genetische Varianten der Cholinesterase-Aktivität, zirkadiane Rhythmen und der Einfluss verschiedener Medikamente auf die Biomarkeranalytik nicht systematisch kontrolliert.

Zur Überwindung dieser Limitationen sollten zukünftige Untersuchungen ein multizentrisches, prospektives Studiendesign mit einer ausreichenden Power-Kalkulation für primäre und sekundäre Endpunkte berücksichtigen. Randomisierte, kontrollierte Studien zum Vergleich verschiedener CPB-Systeme können kausale Schlussfolgerungen ermöglichen, wenn eine erweiterte Baseline-Charakterisierung unter der Berücksichtigung von z.B. einem *Frailty*-Assessment, genetischen Polymorphismen der Cholinesterase-Aktivität, präoperativen Biomarker-Konzentrationen und einer umfassenden Komorbiditäts-Dokumentation erfolgt. Auch ethnisch und demografisch homogene Kohorten können die Validität der Ergebnisse verbessern und eine Identifikation populationspezifischer Referenzwerte ermöglichen. Eine standardisierte *Confounder*-Kontrolle durch vordefinierte Ein- und Ausschlusskriterien, Berücksichtigung zirkadianer Rhythmen bei multiplen Probenentnahmen und systematische Dokumentation anticholinergischer Medikamenteneffekte wären ebenso erforderlich, wie die Entwicklung multimodaler Biomarker-Panels zur Reduktion von Störgrößen und einer Verbesserung der Diskriminationsfähigkeit.

In Biomarkerstudien wird im kardiochirurgischen Kontext unter Anwendung eines CPB primär der proinflammatorische Einfluss diskutiert. Der additiv inhibierende Einfluss auf zentrale inflammatorische Biomarker, wie das AAT, ist dabei möglicherweise klinisch relevant. Der Einsatz von pharmakologischen, perfusiologischen und chirurgischen Modifikationen während der perioperativen Versorgung kann einen Einfluss auf die pro- als auch anti-inflammatorische Reaktionen des Patienten aufweisen. Die Anwendung von Heparin, Glykosaminoglykanen, Phosphodiesterase-Inhibitoren und Protease-Inhibitoren, MiECC-Systemen und biokompatiblen CPB-Oberflächen konnte bereits mit einer reduzierten Hemmung von inflammatorischen Regulatorstrukturen assoziiert werden^{28,113,332}.

Aus der Assoziation von Biomarkerveränderungen (oder vielleicht dysbalancen) mit Organdysfunktionen, resultierte deren Integration in etablierte klinische Risikostratifikationsmodelle und dadurch bereits in eine Verbesserung der Prädiktionsfähigkeit für Komplikationen³³³. Modelle, welche multiple Biomarkeralterationen berücksichtigen, übertreffen bezüglich ihrer Prädiktionsfähigkeit für Organdysfunktionen und Patientenoutcome bereits etablierte klinische Prädiktionsmodelle, was auf die Reflektion unterschiedlicher pathophysiologischer Prozesse zurückzuführen ist^{334,335}. Die Untersuchung und Etablierung von Multibiomarker-Analyseansätzen bietet den Vorteil, dass bei fehlender Interdependenz der verwendeten Parameter die Einflussnahme externer Störgrößen, wie dem CPB und dessen inflammatorischen und immunologischen Alterationen, limitiert wird.

Die Ergebnisse dieser Habilitationsschrift eröffnen mehrere vielversprechende Forschungsausrichtungen für die Kardioanästhesie und Biomarkerforschung. Interessant wäre im Kontext der α 1-Antitrypsin-Aktivitätsanalytik im kardiochirurgischen Bereich, ob die beobachteten Alterationen in einer numerisch größeren Kohorte vergleichbare Ergebnisse aufweisen und zwischen *on-pump* und *off-pump* CABG signifikant divergieren. In einem anschließenden theoretischen Ansatz könnte die Augmentation von α 1-Antitrypsin und deren Einfluss auf die IL-1 β -Freisetzung prospektiv, unter Beachtung der komplexen Realisierbarkeit einer solchen Studie, untersucht werden. Additiv sollte der Einfluss genetischer Aspekte wie Genvarianten und Kodominanz von Allelen in prospektiven Studien mit untersucht werden.

Die am ersten postoperativen Tag beobachteten stärksten Alterationen der BChE-Aktivität stellen temporär gesehen ein zeitliches Intervall dar, in welchem zu einem frühestmöglichen Zeitpunkt multimodale Interventionen zur Therapie eines POD initiiert werden können. Auch die Beeinflussung der BChE-Aktivität und deren Aktivitätserhaltung über die CPB-Phase bieten einen interessanten Ansatzpunkt für zukünftige Untersuchungen. Der Einsatz von Cholinesteraseinhibitoren bei identifizierten POD-Risikopatienten im Zusammenhang mit AChE- und BChE-Analytik, konnte bereits erfolgreich mit einer verbesserten postoperativen Neurokognition assoziiert werden²⁴⁶. Weiterführend sollten prädefinierte Untersuchungskohorten generiert werden, welche Faktoren wie Alter, Ethnie, präoperative Enzymaktivität etc. als relevante Kofaktoren betrachten, um eine spezifischere Analytik von Grenzwerten und deren Alterationen zu ermöglichen.

Zukünftige klinische Ansätze sollten darauf abzielen, die Vorteile von MiECC-Systemen weiter zu evaluieren und sowohl präventive als auch therapeutische Ansätze sowie deren Einfluss auf Biomarkerfreisetzungen im Zusammenhang mit spezifischen Organdysfunktionen weiter klinisch untersuchen. Die Ergebnisse der beschriebenen Biomarker im MiECC-Kontext stellen teilweise Erstbeschreibungen im Zusammenhang mit *on-pump* CABG dar, können jedoch noch nicht unkritisch auf die Gesamtpopulation übertragen werden. Neben der Tatsache, dass es sich um sekundäre Zielgrößen im Rahmen der Primärstudien handelte ist in diesem Zusammenhang die Kohortengröße in Folgeuntersuchungen eine optimierbare Konstante. Interessant wäre eine multizentrische, prospektive Studie, in welcher die analysierten Biomarker in einem Multiparameteransatz untersucht werden könnten, um beschriebene Überschneidungen mit Organdysfunktionen besser aufarbeiten zu können. Insbesondere im Zusammenhang mit den Analysen bezüglich einer AKI sollten additive neue AKI-Biomarker im Blut- und Urinbereich untersucht werden.

Die Zukunft der Biomarker-Forschung in der Herzchirurgie profitiert von Innovationen in Genomik und Proteomik, welche das Potenzial der Identifikation neuer Biomarker zur Optimierung von Diagnose, Prognose und Behandlungsergebnissen erweitern^{80,81,336,337}. Die Validierung von Biomarkern für den routinemäßigen klinischen Einsatz bleibt jedoch weiterhin eine klinische Herausforderung. Zur Früherkennung von Hochrisikopatienten sind validierte Biomarker mit hoher organspezifischer Diskriminationsfähigkeit essenziell, da diese eine differenzierte Beurteilung relevanter organsystemischer Alterationen ermöglichen. Als wesentliche Zielkriterien für Biomarker im kardiochirurgischen *on-pump* Bereich sind neben einem hohen prädiktiven Wert, eine hohe Spezifität und somit ein hoher positiver Vorhersagewert zu nennen, der aktuell jedoch durch das immunologisch-inflammatorische „Grundrauschen“ und die systemische Akut-Phase-Reaktion beeinflusst wird. Eine Unempfindlichkeit gegenüber diesen Einflussfaktoren über unterschiedliche Populationen mit geringer biologischer Variabilität hinweg, einer unproblematischen Entnahme und Bestimmung der Proben, einschließlich ihrer Lagerungsstabilität stellen weitere Anforderungen an den Einsatz zukünftiger Biomarker.

Eine Biomarker-basierte singuläre, multimodale oder auch additiv zu klinischen Testverfahren durchgeführte Identifikation von Risikopatienten und deren Differenzierung bietet eine Option, klinische Ressourcen individualisiert und zu einem frühestmöglichen Zeitpunkt zur Verfügung zu stellen, um das Patientenoutcome zu optimieren.

Darüber hinaus könnte eine Biomarker-basierte Stratifikation definierter Organdysfunktions-Risikogruppen eine gezielte Ressourcenallokation erlauben³³⁸: Hochkomplexe Patienten (ca. 5 % der Population), die einen hohen Aufwand in der Versorgung mit aufwendiger Diagnostik und längeren Klinikaufenthalten benötigen würden eine intensive, proaktive Betreuung erfahren, während Hochrisiko-Patienten (ca. 20 % der Population) mit multiplen Risikofaktoren und einer möglichen Progression in Richtung Multimorbidität von strukturierten Versorgungsprogrammen profitieren. Patienten mit einer oder mehreren chronischen Erkrankungen und fluktuierenden Krankheitsverläufen benötigen ein erweitertes Versorgungsmanagement, das die Progression in höhere Risikogruppen reduziert und Gesamtkosten senkt (bis zu 10%), während risikoarme Patienten, die klinisch stabil oder gesund sind und keine bis geringfügige, leicht therapierbare Erkrankungen aufweisen, eine Standardversorgung erhalten können. Weitere vielversprechende Forschungsansätze im Zusammenhang mit Biomarkern im Kontext kardiochirurgischer Interventionen verfolgen *Artificial-Intelligence-* und *Machine-Learning-*basierte Ansätze, mit dem Ziel eine präzise Prädiktion postoperativer Komplikationen zu erlauben und die Ermittlung optimaler Analysezeitpunkte zu identifizieren^{339,340}. Zuletzt soll auf den zunehmenden Einsatz von POC-Verfahren zur Analyse von Biomarkern hingewiesen werden, welche schnellere Prozesszeiten und eine sowohl repetitive als auch reproduzierbare Analytik in einem patientennahen Setting erlauben^{17,258,341}. Die systematische Weiterentwicklung dieser Konzepte durch methodisch optimierte Studien wird entscheidend für deren Translation in die klinische Routine sein, wobei sowohl die technologischen Möglichkeiten als auch die gesundheitsökonomischen Aspekte einer personalisierten Medizin in der risikobasierten Versorgungsstrategie berücksichtigt werden sollten.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die dargestellten Untersuchungen das prädiktive Potenzial spezifischer Biomarkerprofile für die perioperative Risikostratifizierung von CPB-assoziierten Organdysfunktionen in der elektiven CABG-Chirurgie validieren konnten, wobei die klinische Implementierung dieser Biomarker-basierten Prädiktionsmodelle eine systematische Evaluation in prospektiven, multizentrischen Studien mit adäquater statistischer Power sowie die Entwicklung standardisierter Analytikansätze und deren optimaler Kombination erfordert.

5. Zusammenfassung

In der ersten Untersuchung dieser kumulativen Habilitationsschrift wurde evaluiert, ob die Anwendung eines CPB bei CABG zentrale immunmodulatorische Elemente auf unterschiedlichen Ebenen inhibiert und neben der direkten proinflammatorischen Komponente simultan suppressiv auf antiinflammatorische endogene Signalkaskaden einwirkt. Elektive on-pump CABG wies einen gering suppressierenden Effekt auf die Aktivität der AAT-inhibierenden ATP-vermittelten IL-1 β -Liberation und Antiprotease-Aktivität, als zentrale Modulatoren der Akute-Phase-Reaktion, auf. Auf Basis der Assoziation dieser untersuchten Biomarker mit cholinergen Signalkaskaden, stellte sich die Frage, ob on-pump CABG die photometrisch analysierte Aktivität von Cholinesterasesubtypen beeinflusst, als blutbasierter Surrogatparameter der cholinergen Homöostase. Zusätzlich wurde exploriert, ob etwaige Alterationen dieser Biomarker mit inflammatorischen Markern und postoperativen Organdysfunktionen assoziiert sind.

Die Identifikation signifikanter Alterationen der Butyrylcholinesteraseaktivität im Vergleich zu präoperativen Ausgangswerten war mit dem Auftreten eines POD assoziiert, wobei das POD-Risiko mit zunehmendem Aktivitätsabfall anstieg.

Während die Identifikation singulärer Parameter und Biomarker prädiktives Potenzial zur Identifikation von Risikopatienten aufweist, konnte die Kombination von singulären prädiktiven Parametern in Multiparameter-Indices mit einer Steigerung der prädiktiven Kapazität assoziiert werden²⁶². Die Integration der BChE-Aktivität in einen klinisch validierten Prognoseindex zur Prädiktion eines POD und dessen Parameteroptimierung mit Faktoren, welche innerhalb von 24 Stunden postoperativ verfügbar sind, resultierte in einer signifikant gesteigerten Prognosefähigkeit gegenüber dem originären Index und erscheint klinisch implementierbar. Die Integration dieser Ergebnisse in die klinische Praxis könnte eine frühzeitige Risikostratifizierung und gezielte Intervention bei Patienten mit hohem postoperativen Delir-Risiko verbessern.

Da die Anwendung eines cCPB während kardiochirurgischer Operationen mit der Initiierung einer Akute-Phase-Reaktion und Organdysfunktionen assoziiert ist, erfolgten Modifikationen der extrakorporalen Zirkulation um diese zu reduzieren. Ein zentraler Ansatz besteht in der Minimierung der Systeme und damit einhergehender Reduktion von Blut-Fremdoberflächenkontakt, geringeren Primingvolumen und limitierten Blut-Luft-Kontakt. In diesem Zusammenhang wurden Alterationen von Biomarkern aus dem Bereich der mitochondrialen Nukleinsäuren und Proteinen untersucht.

Die Anwendung der MiECC im Vergleich zum cCPB resultierte in einer signifikant geringeren Liberation zirkulierender mtDNA als Biomarker zellulärer Destruktion bzw. als DAMP. Diese Reduktion war mit einer geringeren inflammatorischen Patientenantwort assoziiert. Von klinischer Relevanz war die Beobachtung, dass erhöhte mtDNA-Konzentrationen mit einem erhöhten Risiko für POAF assoziiert waren. Dieses prädiktive Potenzial kann möglicherweise genutzt werden, um im Zusammenhang mit Risikostratifikationskonzepten Patienten frühzeitig und prolongiert rhythmologisch zu überwachen und gegebenenfalls zu therapieren.

Die Evaluation suPAR, eines Glykoproteins, das in inflammatorische und koagulative Kaskaden integriert ist und potenziell die Genese von Organdysfunktionen nach on-pump CABG beeinflusst, demonstrierte, dass der Einsatz eines MiECC-Systems mit reduzierten suPAR-Konzentrationen assoziiert war. Dies kann als attenuierte inflammatorische Patientenreaktion interpretiert werden. Sekundär identifizierte die Untersuchung eine signifikante Assoziation mit AKI, wobei eine positive Korrelation zwischen suPAR-Konzentration und AKI-Risiko nachgewiesen wurde. Die limitierte prädiktive Validität könnte möglicherweise im Kontext von AKI-Multi-Biomarker-Panels optimiert werden.

Abschließend wurde auf Proteinebene sDLL1 analysiert, das im Kontext septischer Erkrankungen als vielversprechender Biomarker beschrieben wurde. In der untersuchten on-pump CABG-Kohorte wies sDLL1 Alterationen unabhängig vom angewendeten CPB-System, der Bypassdauer, medikamentöser Dauertherapie oder Komorbiditäten (mit Ausnahme von Diabetes mellitus Typ II) auf. Neben dieser Robustheit gegenüber diversen Einflussvariablen zeigten die beobachteten sDLL1-Alterationen prädiktives Potenzial für das Auftreten einer AKI und eines POD. Die beobachtete limitierte prädiktive Validität bezüglich einer AKI des Biomarkers sDLL1 und die Assoziation mit der Inzidenz eines POD bedürfen weiterer Evaluation in Folgestudien und könnten für den klinischen Einsatz in Multi-Biomarker-Panels von Relevanz sein.

6. Danksagung

Ich möchte mich zu Beginn bei Prof. Dr. med. Michael Sander bedanken, welcher mich seit Beginn auf meinem wissenschaftlichen Weg begleitet und gefördert hat und ohne dessen Unterstützung diese Habilitation nicht realisierbar gewesen wäre.

Weiter möchte ich mich bei Prof. Dr. med. Matthias Müller bedanken, welcher mich seit dem Beginn meiner universitären Laufbahn im Jahre 2014 als Mentor unterstützt, ausgebildet, beraten und auf jeder Ebene gefördert hat. Danke für Alles, ob Orbea, Negrone oder den *Slow Horses*.

Ebenso gilt mein ausgesprochener Dank Prof. Dr. med. Emmanuel Schneck, ohne den ich diesen Weg nicht hätte gehen können und dessen Unterstützung nie nachgelassen hat, auch nicht nach der 1000. unmöglichen und unnötigen Frage.

Zwei weitere Kollegen, denen mein besonderer Dank gilt, sind Prof. Dr. med. Thilo Menges und PD Dr. med. Valesco Mann. Danke, dass ihr früh etwas gesehen habt, was für mich nicht da war und dass ich über die Jahre so viel von Euch lernen durfte. Ohne die Kolleginnen und Kollegen aus dem Labor für experimentelle Anästhesie und der EDV, die mich über die Jahre unterstützt haben, hätte ich nichts erreichen können. Ein spezieller Dank gilt daher Ilona Magel, Ebru Erdogan, Prof. Dr. med. Christian Koch, Dr. med. Fabian Edinger, Dr. Melanie Markmann, Dr. med. Christian Katzer, Dr. med. Florian Brenck und Dominik Leicht.

Mein besonderer Dank gilt Anna-Lena Schreiner und Frauke Beckert, Danke für alles, was Ihr getan habt.

Ich möchte mich von Herzen bei allen Kolleginnen und Kollegen aus der Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie des Universitätsklinikums Gießen und dem Kinderherzzentrum Gießen bedanken. Danke für mittlerweile mehr als ein Jahrzehnt am Tag und auch mitten in der Nacht.

Lisa, Du hättest eigentlich an erster Stelle stehen müssen, aber die Form muss man manchmal wahren. Danke für Dich! Danke, dass Du diese ganze Sache mit mir durchgezogen, unterstützt und auch „ausgehalten“ hast. Du bist die Beste! Paulina und Greta, Ihr seid wunderbar, was soll ich sagen ;)

Dziękuję mamę, dziękuję tatę, że w końcu przestaliście wątpić, że uda mi się ukończyć liceum i wierzyliście, że mogę osiągnąć wszystko, co sobie zamierzę. Zawsze byliście przy mnie. Dziękuję. Bianca, Danke, dass auch Du mich immer unterstützt hast.

Danke an meine Freunde: “Crew love is true love”!!!

7. Literaturverzeichnis

1. BURNET FM, ANDERSON SG: The T antigen of guinea-pig and human red cells. *Aust J Exp Biol Med Sci* 25:213–217, 1947
2. Jeffrey Aronson: When I use a word . . . Biomarkers—definition and uses, 2019. Available at: [82](https://blogs.bmj.com/bmj/2019/06/07/jeffrey-aronson-when-i-use-a-word-biomarkers/#:~:text=The%20term%20%E2%80%9Cbiomarker%E2%80%9D%20comes%20from,a%20mark%2C%20such%20as%20mearc., [accessed December 18, 2024]3. Aronson JK, Ferner RE: Biomarkers-A General Review. <i>Curr Protoc Pharmacol</i> 76:9.23.1-9.23.17, 20174. Weiser TG, Regenbogen SE, Thompson KD, et al: An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data. <i>Lancet</i> 372:139–144, 20085. Stevens M, Shenoy AV, Munson SH, et al: Healthcare utilization and costs of cardiopulmonary complications following cardiac surgery in the United States. <i>PLoS One</i> 14:e0226750, 20196. Thompson MP, Yost ML, Syrjamaki JD, et al: Sources of Hospital Variation in Postacute Care Spending After Cardiac Surgery. <i>Circ Cardiovasc Qual Outcomes</i> 13:e006449, 20207. Patra C, Chamaiah Gatti P, Panigrahi A: Morbidity After cardiac surgery under cardiopulmonary bypass and associated factors: A retrospective observational study. <i>Indian Heart J</i> 71:350–355, 20198. Farrokhyar F, Wang X, Kent R, et al: Early mortality from off-pump and on-pump coronary bypass surgery in Canada: a comparison of the STS and the EuroSCORE risk prediction algorithms. <i>Can J Cardiol</i> 23:879–883, 20079. Lamy A, Devereaux PJ, Prabhakaran D, et al: Five-Year Outcomes after Off-Pump or On-Pump Coronary-Artery Bypass Grafting. <i>N Engl J Med</i> 375:2359–2368, 201610. Larmann J, Theilmeyer G: Inflammatory response to cardiac surgery: cardiopulmonary bypass versus non-cardiopulmonary bypass surgery. <i>Best Pract Res Clin Anaesthesiol</i> 18:425–438, 200411. Biglioli P, Cannata A, Alamanni F, et al: Biological effects of off-pump vs. on-pump coronary artery surgery: focus on inflammation, hemostasis and oxidative stress. <i>Eur J Cardiothorac Surg</i> 24:260–269, 2003</div><div data-bbox=)

12. Hoel TN, Videm V, Mollnes TE, et al: Off-pump cardiac surgery abolishes complement activation. *Perfusion* 22:251–256, 2007
13. Huffmyer JL, Groves DS: Pulmonary complications of cardiopulmonary bypass. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 29:163–175, 2015
14. Milne B, Gilbey T, Kunst G: Perioperative Management of the Patient at High-Risk for Cardiac Surgery-Associated Acute Kidney Injury. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 36:4460–4482, 2022
15. Milne B, Gilbey T, Somer F de, et al: Adverse renal effects associated with cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 39:452–468, 2024
16. Cropsey C, Kennedy J, Han J, et al: Cognitive Dysfunction, Delirium, and Stroke in Cardiac Surgery Patients. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 19:309–317, 2015
17. Zajonz TS, Kunzemann C, Schreiner AL, et al: Potentials of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Alterations in On-Pump Coronary Artery Bypass Surgery in Postoperative Delirium: An Observational Trial. *J Clin Med* 12, 2023
18. Filardo G, Damiano RJ, Ailawadi G, et al: Epidemiology of new-onset atrial fibrillation following coronary artery bypass graft surgery. *Heart* 104:985–992, 2018
19. Mathew JP, Parks R, Savino JS, et al: Atrial fibrillation following coronary artery bypass graft surgery: predictors, outcomes, and resource utilization. MultiCenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. *JAMA* 276:300–306, 1996
20. Ascione R, Nason G, Al-Ruzzeh S, et al: Coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass in patients with preoperative nondialysis-dependent renal insufficiency. *Ann Thorac Surg* 72:2020–2025, 2001
21. Yokoyama T, Baumgartner FJ, Gheissari A, et al: Off-pump versus on-pump coronary bypass in high-risk subgroups. *Ann Thorac Surg* 70:1546–1550, 2000
22. Ji Q, Mei Y, Wang X, et al: Risk factors for pulmonary complications following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Int J Med Sci* 10:1578–1583, 2013
23. Nussmeier NA: A Review of Risk Factors for Adverse Neurologic Outcome After Cardiac Surgery. *J Extra Corpor Technol* 34:4–10, 2002
24. Nolan SP, Zacour R, Dammann JF: Reflections on the evolution of cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 64:1540–1543, 1997
25. Di Tomasso N, Monaco F, Landoni G: Hepatic and renal effects of cardiopulmonary bypass. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 29:151–161, 2015

26. Anastasiadis K, Antonitsis P, Haidich A-B, et al: Use of minimal extracorporeal circulation improves outcome after heart surgery; a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cardiol* 164:158–169, 2013
27. Farneti PA, Sbrana S, Spiller D, et al: Reduction of blood coagulation and monocyte-platelet interaction following the use of a minimal extracorporeal circulation system (Synergy) in coronary artery bypass grafting (CABG). *Perfusion* 23:49–56, 2008
28. Fromes Y, Gaillard D, Ponzio O, et al: Reduction of the inflammatory response following coronary bypass grafting with total minimal extracorporeal circulation. *Eur J Cardiothorac Surg* 22:527–533, 2002
29. Halle DR, Benhassen LL, Sørberg KL, et al: Impact of minimal invasive extracorporeal circulation on systemic inflammatory response - a randomized trial. *J Cardiothorac Surg* 19:418, 2024
30. Ranucci M, Baryshnikova E: Inflammation and coagulation following minimally invasive extracorporeal circulation technologies. *J Thorac Dis* 11:S1480-S1488, 2019
31. Winkler B, Heinisch PP, Gahl B, et al: Minimally Invasive Extracorporeal Circulation Circuit Is Not Inferior to Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting: Meta-Analysis Using the Bayesian Method. *Ann Thorac Surg* 103:342–350, 2017
32. Loef BG, Henning RH, Navis G, et al: Changes in glomerular filtration rate after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass in patients with mild preoperative renal dysfunction. *Br J Anaesth* 100:759–764, 2008
33. Zanardo G, Michielon P, Paccagnella A, et al: Acute renal failure in the patient undergoing cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 107:1489–1495, 1994
34. Nadim MK, Forni LG, Bihorac A, et al: Cardiac and Vascular Surgery-Associated Acute Kidney Injury: The 20th International Consensus Conference of the ADQI (Acute Disease Quality Initiative) Group. *J Am Heart Assoc* 7, 2018
35. B DD, PADHY S, S GDS, et al: Role of Serum creatinine in forecasting the outcome after cardiac surgery beyond acute kidney injury-A Cross sectional Study. *Asian J Pharm Clin Res*:105–108, 2021
36. Bojan M, Basto Duarte MC, Ermak N, et al: Structural equation modelling exploration of the key pathophysiological processes involved in cardiac surgery-related acute kidney injury in infants. *Crit Care* 20:171, 2016
37. Cheruku SR, Raphael J, Neyra JA, et al: Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery: Prediction, Prevention, and Management. *Anesthesiology* 139:880–898, 2023

38. Kalisnik JM, Steblovnik K, Hrovat E, et al: Enhanced Detection of Cardiac Surgery-Associated Acute Kidney Injury by a Composite Biomarker Panel in Patients with Normal Preoperative Kidney Function. *J Cardiovasc Dev Dis* 9, 2022
39. Jo SK, Rosner MH, Okusa MD: Pharmacologic treatment of acute kidney injury: why drugs haven't worked and what is on the horizon. *Clin J Am Soc Nephrol* 2:356–365, 2007
40. Yang X, Zhu L, Pan H, et al: Cardiopulmonary bypass associated acute kidney injury: better understanding and better prevention. *Ren Fail* 46:2331062, 2024
41. Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ, et al: On-pump versus off-pump coronary revascularization: evaluation of renal function. *Ann Thorac Surg* 68:493–498, 1999
42. Sellke FW, DiMaio JM, Caplan LR, et al: Comparing on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting: numerous studies but few conclusions: a scientific statement from the American Heart Association council on cardiovascular surgery and anesthesia in collaboration with the interdisciplinary working group on quality of care and outcomes research. *Circulation* 111:2858–2864, 2005
43. Stallwood MI, Grayson AD, Mills K, et al: Acute renal failure in coronary artery bypass surgery: independent effect of cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 77:968–972, 2004
44. Bruegger D, Brettner F, Rossberg I, et al: Acute degradation of the endothelial glycocalyx in infants undergoing cardiac surgical procedures. *Ann Thorac Surg* 99:926–931, 2015
45. Bruegger D, Schwartz L, Chappell D, et al: Release of atrial natriuretic peptide precedes shedding of the endothelial glycocalyx equally in patients undergoing on- and off-pump coronary artery bypass surgery. *Basic Res Cardiol* 106:1111–1121, 2011
46. Braam B, Joles JA, Danishwar AH, et al: Cardiorenal syndrome--current understanding and future perspectives. *Nat Rev Nephrol* 10:48–55, 2014
47. Bruins P, te Velthuis H, Eerenberg-Belmer AJ, et al: Heparin-protamine complexes and C-reactive protein induce activation of the classical complement pathway: studies in patients undergoing cardiac surgery and in vitro. *Thromb Haemost* 84:237–243, 2000
48. Condello I, Lorusso R, Santarpino G, et al: Clinical Evaluation of Micro-Embollic Activity with Unexpected Predisposing Factors and Performance of Horizon AF PLUS during Cardiopulmonary Bypass. *Membranes (Basel)* 12, 2022

49. Darby PJ, Kim N, Hare GMT, et al: Anemia increases the risk of renal cortical and medullary hypoxia during cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 28:504–511, 2013
50. Groom RC, Quinn RD, Lennon P, et al: Detection and elimination of microemboli related to cardiopulmonary bypass. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2:191–198, 2009
51. Prowle JR, Kirwan CJ, Bellomo R: Fluid management for the prevention and attenuation of acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol* 10:37–47, 2014
52. Satriano A, Franchini S, Lapergola G, et al: Glutathione Blood Concentrations: A Biomarker of Oxidative Damage Protection during Cardiopulmonary Bypass in Children. *Diagnostics (Basel)* 9, 2019
53. Scrascia G, Rotunno C, Simone S, et al: Acute kidney injury in high-risk cardiac surgery patients: roles of inflammation and coagulation. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 18:359–365, 2017
54. Devarajan P: Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Curr Opin Pediatr* 23:194–200, 2011
55. Meersch M, Schmidt C, Hoffmeier A, et al: Prevention of cardiac surgery-associated AKI by implementing the KDIGO guidelines in high risk patients identified by biomarkers: the PrevAKI randomized controlled trial. *Intensive Care Med* 43:1551–1561, 2017
56. Murray PT, Mehta RL, Shaw A, et al: Potential use of biomarkers in acute kidney injury: report and summary of recommendations from the 10th Acute Dialysis Quality Initiative consensus conference. *Kidney Int* 85:513–521, 2014
57. Vijayan A, Faubel S, Askenazi DJ, et al: Clinical Use of the Urine Biomarker TIMP-2 × IGFBP7 for Acute Kidney Injury Risk Assessment. *Am J Kidney Dis* 68:19–28, 2016
58. Hogue CW, Barzilai B, Pieper KS, et al: Sex differences in neurological outcomes and mortality after cardiac surgery: a society of thoracic surgery national database report. *Circulation* 103:2133–2137, 2001
59. Hogue CW, Murphy SF, Schechtman KB, et al: Risk factors for early or delayed stroke after cardiac surgery. *Circulation* 100:642–647, 1999
60. Newman MF, Grocott HP, Mathew JP, et al: Report of the substudy assessing the impact of neurocognitive function on quality of life 5 years after cardiac surgery. *Stroke* 32:2874–2881, 2001
61. Newman MF, Kirchner JL, Phillips-Bute B, et al: Longitudinal assessment of neurocognitive function after coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med* 344:395–402, 2001

62. Nasr VG, Faraoni D, Valente AM, et al: Outcomes and Costs of Cardiac Surgery in Adults with Congenital Heart Disease. *Pediatr Cardiol* 38:1359–1364, 2017
63. Carrascal Y, Guerrero AL: Neurological damage related to cardiac surgery: pathophysiology, diagnostic tools and prevention strategies. Using actual knowledge for planning the future. *Neurologist* 16:152–164, 2010
64. Arrowsmith JE, Grocott HP, Reves JG, et al: Central nervous system complications of cardiac surgery. *Br J Anaesth* 84:378–393, 2000
65. Shroyer ALW, Coombs LP, Peterson ED, et al: The Society of Thoracic Surgeons: 30-day operative mortality and morbidity risk models. *Ann Thorac Surg* 75:1856-64; discussion 1864-5, 2003
66. van Dijk D, Keizer AM, Diephuis JC, et al: Neurocognitive dysfunction after coronary artery bypass surgery: a systematic review. *J Thorac Cardiovasc Surg* 120:632–639, 2000
67. Wilson JE, Mart MF, Cunningham C, et al: Delirium. *Nat Rev Dis Primers* 6:90, 2020
68. American Psychiatric Association: Diagnostic and statistical manual of mental disorders. DSM-5-TR™. Washington, DC, American Psychiatric Association Publishing, February 2022
69. Jones D, Matalanis G, Mårtensson J, et al: Predictors and Outcomes of Cardiac Surgery-Associated Delirium. A Single Centre Retrospective Cohort Study. *Heart Lung Circ* 28:455–463, 2019
70. Klein Klouwenberg PMC, Zaal IJ, Spitoni C, et al: The attributable mortality of delirium in critically ill patients: prospective cohort study. *BMJ* 349:g6652, 2014
71. Cereghetti C, Siegemund M, Schaedelin S, et al: Independent Predictors of the Duration and Overall Burden of Postoperative Delirium After Cardiac Surgery in Adults: An Observational Cohort Study. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 31:1966–1973, 2017
72. American Geriatrics Society abstracted clinical practice guideline for postoperative delirium in older adults. *J Am Geriatr Soc* 63:142–150, 2015
73. Adamis D, Rooney S, Meagher D, et al: A comparison of delirium diagnosis in elderly medical inpatients using the CAM, DRS-R98, DSM-IV and DSM-5 criteria. *Int Psychogeriatr* 27:883–889, 2015
74. Zaal IJ, Devlin JW, Peelen LM, et al: A systematic review of risk factors for delirium in the ICU. *Crit Care Med* 43:40–47, 2015

75. McDonagh DL, Berger M, Mathew JP, et al: Neurological complications of cardiac surgery. *Lancet Neurol* 13:490–502, 2014
76. Abu-Omar Y, Balacumaraswami L, Pigott DW, et al: Solid and gaseous cerebral microembolization during off-pump, on-pump, and open cardiac surgery procedures. *J Thorac Cardiovasc Surg* 127:1759–1765, 2004
77. Kincaid EH, Jones TJ, Stump DA, et al: Processing scavenged blood with a cell saver reduces cerebral lipid microembolization. *Ann Thorac Surg* 70:1296–1300, 2000
78. Libman RB, Wirkowski E, Neystat M, et al: Stroke associated with cardiac surgery. Determinants, timing, and stroke subtypes. *Arch Neurol* 54:83–87, 1997
79. Tarakji KG, Sabik JF, Bhudia SK, et al: Temporal onset, risk factors, and outcomes associated with stroke after coronary artery bypass grafting. *JAMA* 305:381–390, 2011
80. Grocott HP, White WD, Morris RW, et al: Genetic polymorphisms and the risk of stroke after cardiac surgery. *Stroke* 36:1854–1858, 2005
81. Tardiff BE, Newman MF, Saunders AM, et al: Preliminary report of a genetic basis for cognitive decline after cardiac operations. The Neurologic Outcome Research Group of the Duke Heart Center. *Ann Thorac Surg* 64:715–720, 1997
82. Echahidi N, Pibarot P, O'Hara G, et al: Mechanisms, prevention, and treatment of atrial fibrillation after cardiac surgery. *J Am Coll Cardiol* 51:793–801, 2008
83. Villareal RP, Hariharan R, Liu BC, et al: Postoperative atrial fibrillation and mortality after coronary artery bypass surgery. *J Am Coll Cardiol* 43:742–748, 2004
84. Mathew JP, Fontes ML, Tudor IC, et al: A multicenter risk index for atrial fibrillation after cardiac surgery. *JAMA* 291:1720–1729, 2004
85. Shen J, Lall S, Zheng V, et al: The persistent problem of new-onset postoperative atrial fibrillation: a single-institution experience over two decades. *J Thorac Cardiovasc Surg* 141:559–570, 2011
86. Bruins P, te Velthuis H, Yazdanbakhsh AP, et al: Activation of the complement system during and after cardiopulmonary bypass surgery: postsurgery activation involves C-reactive protein and is associated with postoperative arrhythmia. *Circulation* 96:3542–3548, 1997
87. Ahlsson A, Fengsrud E, Bodin L, et al: Postoperative atrial fibrillation in patients undergoing aortocoronary bypass surgery carries an eightfold risk of future atrial fibrillation and a doubled cardiovascular mortality. *Eur J Cardiothorac Surg* 37:1353–1359, 2010

88. El-Chami MF, Kilgo P, Thourani V, et al: New-onset atrial fibrillation predicts long-term mortality after coronary artery bypass graft. *J Am Coll Cardiol* 55:1370–1376, 2010
89. Mariscalco G, Engström KG: Postoperative atrial fibrillation is associated with late mortality after coronary surgery, but not after valvular surgery. *Ann Thorac Surg* 88:1871–1876, 2009
90. Nattel S, Harada M: Atrial remodeling and atrial fibrillation: recent advances and translational perspectives. *J Am Coll Cardiol* 63:2335–2345, 2014
91. Jacob KA, Nathoe HM, Dieleman JM, et al: Inflammation in new-onset atrial fibrillation after cardiac surgery: a systematic review. *Eur J Clin Invest* 44:402–428, 2014
92. Amar D, Zhang H, Miodownik S, et al: Competing autonomic mechanisms precede the onset of postoperative atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 42:1262–1268, 2003
93. Ishii Y, Schuessler RB, Gaynor SL, et al: Inflammation of atrium after cardiac surgery is associated with inhomogeneity of atrial conduction and atrial fibrillation. *Circulation* 111:2881–2888, 2005
94. Andrade J, Khairy P, Dobrev D, et al: The clinical profile and pathophysiology of atrial fibrillation: relationships among clinical features, epidemiology, and mechanisms. *Circ Res* 114:1453–1468, 2014
95. Maesen B, Nijs J, Maessen J, et al: Post-operative atrial fibrillation: a maze of mechanisms. *Europace* 14:159–174, 2012
96. Tanawuttiwat T, O'Neill BP, Cohen MG, et al: New-onset atrial fibrillation after aortic valve replacement: comparison of transfemoral, transapical, transaortic, and surgical approaches. *J Am Coll Cardiol* 63:1510–1519, 2014
97. Voigt N, Heijman J, Wang Q, et al: Cellular and molecular mechanisms of atrial arrhythmogenesis in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation* 129:145–156, 2014
98. Turagam MK, Mirza M, Werner PH, et al: Circulating Biomarkers Predictive of Post-operative Atrial Fibrillation. *Cardiol Rev* 24:76–87, 2016
99. Rossi A, Enriquez-Sarano M, Burnett JC, et al: Natriuretic peptide levels in atrial fibrillation: a prospective hormonal and Doppler-echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 35:1256–1262, 2000
100. Todaro MC, Choudhuri I, Belohlavek M, et al: New echocardiographic techniques for evaluation of left atrial mechanics. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 13:973–984, 2012

101. Sánchez FJ, Pueyo E, Diez ER: Strain Echocardiography to Predict Postoperative Atrial Fibrillation. *Int J Mol Sci* 23, 2022
102. Osranek M, Fatema K, Qaddoura F, et al: Left atrial volume predicts the risk of atrial fibrillation after cardiac surgery: a prospective study. *J Am Coll Cardiol* 48:779–786, 2006
103. Darbar D, Herron KJ, Ballew JD, et al: Familial atrial fibrillation is a genetically heterogeneous disorder. *J Am Coll Cardiol* 41:2185–2192, 2003
104. McManus DD, Lin H, Tanriverdi K, et al: Relations between circulating microRNAs and atrial fibrillation: data from the Framingham Offspring Study. *Heart Rhythm* 11:663–669, 2014
105. Müller P, Deneke T, Schiedat F, et al: Increased preoperative serum apoptosis marker fas ligand correlates with histopathology and new-onset of atrial fibrillation in patients after cardiac surgery. *J Cardiovasc Electrophysiol* 24:1110–1115, 2013
106. Ramlawi B, Otu H, Mieno S, et al: Oxidative stress and atrial fibrillation after cardiac surgery: a case-control study. *Ann Thorac Surg* 84:1166-72; discussion 1172-3, 2007
107. Gasparovic H, Burcar I, Kopjar T, et al: NT-pro-BNP, but not C-reactive protein, is predictive of atrial fibrillation in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 37:100–105, 2010
108. Kaireviciute D, Blann AD, Balakrishnan B, et al: Characterisation and validity of inflammatory biomarkers in the prediction of post-operative atrial fibrillation in coronary artery disease patients. *Thromb Haemost* 104:122–127, 2010
109. Boeken U, Feindt P, Petzold T, et al: Diagnostic value of procalcitonin: the influence of cardiopulmonary bypass, aprotinin, SIRS, and sepsis. *Thorac Cardiovasc Surg* 46:348–351, 1998
110. Landis RC: 20 Years On: Is It Time to Redefine the Systemic Inflammatory Response to Cardiothoracic Surgery? *J Extra Corpor Technol* 47:5–9, 2015
111. Bone RC: Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 24:1125–1128, 1996
112. McGuinness J, Bouchier-Hayes D, Redmond JM: Understanding the inflammatory response to cardiac surgery. *Surgeon* 6:162–171, 2008
113. Paparella D, Yau TM, Young E: Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *Eur J Cardiothorac Surg* 21:232–244, 2002

114. Luecht J, Pauli C, Seiler R, et al: Prolonged Extracorporeal Circulation Leads to Inflammation and Higher Expression of Mediators of Vascular Permeability Through Activation of STAT3 Signaling Pathway in Macrophages. *Int J Mol Sci* 25, 2024
115. Laffey JG, Boylan JF, Cheng DCH: The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology* 97:215–252, 2002
116. Hill GE, Whitten CW: The role of the vascular endothelium in inflammatory syndromes, atherogenesis, and the propagation of disease. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 11:316–321, 1997
117. Pesonen E, Passov A, Andersson S, et al: Glycocalyx Degradation and Inflammation in Cardiac Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 33:341–345, 2019
118. Kumar P, Shen Q, Pivetti CD, et al: Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation. *Expert Rev Mol Med* 11:e19, 2009
119. Woodcock TE, Woodcock TM: Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy. *Br J Anaesth* 108:384–394, 2012
120. Esmon CT: Inflammation and thrombosis. *J Thromb Haemost* 1:1343–1348, 2003
121. Nawroth PP, Stern DM: Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 163:740–745, 1986
122. Dixon B, Santamaria J, Campbell D: Coagulation activation and organ dysfunction following cardiac surgery. *Chest* 128:229–236, 2005
123. Devlin JW, Fong JJ, Fraser GL, et al: Delirium assessment in the critically ill. *Intensive Care Med* 33:929–940, 2007
124. Luetz A, Heymann A, Radtke FM, et al: Different assessment tools for intensive care unit delirium: which score to use? *Crit Care Med* 38:409–418, 2010
125. Hayhurst CJ, Pandharipande PP, Hughes CG: Intensive Care Unit Delirium: A Review of Diagnosis, Prevention, and Treatment. *Anesthesiology* 125:1229–1241, 2016
126. Ely EW, Inouye SK, Bernard GR, et al: Delirium in mechanically ventilated patients: validity and reliability of the confusion assessment method for the intensive care unit (CAM-ICU). *JAMA* 286:2703–2710, 2001
127. Bergeron N, Dubois MJ, Dumont M, et al: Intensive Care Delirium Screening Checklist: evaluation of a new screening tool. *Intensive Care Med* 27:859–864, 2001

128. Barr J, Fraser GL, Puntillo K, et al: Clinical practice guidelines for the management of pain, agitation, and delirium in adult patients in the intensive care unit. *Crit Care Med* 41:263–306, 2013
129. Sessler CN, Gosnell MS, Grap MJ, et al: The Richmond Agitation-Sedation Scale: validity and reliability in adult intensive care unit patients. *Am J Respir Crit Care Med* 166:1338–1344, 2002
130. Boettger S, Nuñez DG, Meyer R, et al: Delirium in the intensive care setting: A reevaluation of the validity of the CAM-ICU and ICDSC versus the DSM-IV-TR in determining a diagnosis of delirium as part of the daily clinical routine. *Palliat Support Care* 15:675–683, 2017
131. Gusmao-Flores D, Salluh JIF, Chalhub RÁ, et al: The confusion assessment method for the intensive care unit (CAM-ICU) and intensive care delirium screening checklist (ICDSC) for the diagnosis of delirium: a systematic review and meta-analysis of clinical studies. *Crit Care* 16:R115, 2012
132. Zaal IJ, Peelen LM, van Dijk D, et al: Development and validation of an eight-step flowchart based on the CAM-ICU: a quick and highly adaptable tool to determine the presence of delirium in ICU patients. *Crit Care* 15:P335, 2011
133. Kotfis K, Śłozowska J, Safranow K, et al: The Practical Use of White Cell Inflammatory Biomarkers in Prediction of Postoperative Delirium after Cardiac Surgery. *Brain Sci* 9, 2019
134. Khwaja A: KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron Clin Pract* 120:c179-84, 2012
135. McIlroy DR, Bellomo R, Billings FT, et al: Systematic review and consensus definitions for the Standardised Endpoints in Perioperative Medicine (StEP) initiative: renal endpoints. *Br J Anaesth* 121:1013–1024, 2018
136. Swaminathan M, Phillips-Bute BG, Conlon PJ, et al: The association of lowest hematocrit during cardiopulmonary bypass with acute renal injury after coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 76:784-91; discussion 792, 2003
137. Takaki S, Shehabi Y, Pickering JW, et al: Perioperative change in creatinine following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass is useful in predicting acute kidney injury: a single-centre retrospective cohort study. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 21:465–469, 2015
138. Zeng Q, Feng J, Zhang X, et al: Urine metabolite changes after cardiac surgery predict acute kidney injury. *Clin Kidney J* 17:sfae221, 2024

139. Ho J, Tangri N, Komenda P, et al: Urinary, Plasma, and Serum Biomarkers' Utility for Predicting Acute Kidney Injury Associated With Cardiac Surgery in Adults: A Meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 66:993–1005, 2015
140. Abe M, Hemmi S, Kobayashi H: How should we treat acute kidney injury caused by renal congestion? *Kidney Res Clin Pract* 42:415–430, 2023
141. Kitani T, Kidokoro K, Nakata T, et al: Kidney vascular congestion exacerbates acute kidney injury in mice. *Kidney Int* 101:551–562, 2022
142. van Gelder IC, Rienstra M, Bunting KV, et al: 2024 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J* 45:3314–3414, 2024
143. Brachmann J, Morillo CA, Sanna T, et al: Uncovering Atrial Fibrillation Beyond Short-Term Monitoring in Cryptogenic Stroke Patients: Three-Year Results From the Cryptogenic Stroke and Underlying Atrial Fibrillation Trial. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 9:e003333, 2016
144. He K, Liang W, Liu S, et al: Long-term single-lead electrocardiogram monitoring to detect new-onset postoperative atrial fibrillation in patients after cardiac surgery. *Front Cardiovasc Med* 9:1001883, 2022
145. Zhang Y, Xu S, Xing W, et al: Robust Artificial Intelligence Tool for Atrial Fibrillation Diagnosis: Novel Development Approach Incorporating Both Atrial Electrograms and Surface ECG and Evaluation by Head-to-Head Comparison With Hospital-Based Physician ECG Readers. *J Am Heart Assoc* 13, 2024
146. Boriani G, Imberti JF, McIntyre WF, et al: Detection and management of postoperative atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting or non-cardiac surgery: a survey by the AF-SCREEN International Collaboration. *Intern Emerg Med*, 2025
147. Sandler N, Kaczmarek E, Itagaki K, et al: Mitochondrial DAMPs Are Released During Cardiopulmonary Bypass Surgery and Are Associated With Postoperative Atrial Fibrillation. *Heart Lung Circ* 27:122–129, 2018
148. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, et al: Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 139:e56-e528, 2019
149. Kashani RG, Sareh S, Genovese B, et al: Predicting postoperative atrial fibrillation using CHA2DS2-VASc scores. *J Surg Res* 198:267–272, 2015

150. Mariscalco G, Biancari F, Zanobini M, et al: Bedside tool for predicting the risk of postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery: the POAF score. *J Am Heart Assoc* 3:e000752, 2014
151. van Oeveren W, Kazatchkine MD, Descamps-Latscha B, et al: Deleterious effects of cardiopulmonary bypass. A prospective study of bubble versus membrane oxygenation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 89:888–899, 1985
152. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, et al: Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med* 304:497–503, 1981
153. Pekna M, Hagman L, Haldén E, et al: Complement activation during cardiopulmonary bypass: effects of immobilized heparin. *Ann Thorac Surg* 58:421–424, 1994
154. Nesargikar PN, Spiller B, Chavez R: The complement system: history, pathways, cascade and inhibitors. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)* 2:103–111, 2012
155. Kyriakides C, Wang Y, Austen WG, et al: Moderation of skeletal muscle reperfusion injury by a sLe(x)-glycosylated complement inhibitory protein. *Am J Physiol Cell Physiol* 281:C224-30, 2001
156. Zhang J-M, An J: Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin* 45:27–37, 2007
157. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, et al: Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta* 1843:2563–2582, 2014
158. Opal SM, DePalo VA: Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 117:1162–1172, 2000
159. Cavaillon JM: Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 47:695–702, 2001
160. Mitchell JD, Grocott HP, Phillips-Bute B, et al: Cytokine secretion after cardiac surgery and its relationship to postoperative fever. *Cytokine* 38:37–42, 2007
161. Nesher N, Frolkis I, Vardi M, et al: Higher levels of serum cytokines and myocardial tissue markers during on-pump versus off-pump coronary artery bypass surgery. *J Card Surg* 21:395–402, 2006
162. Neuhofer C, Wendling J, Dapper F, et al: Endotoxemia and cytokine generation in cardiac surgery in relation to flow mode and duration of cardiopulmonary bypass. *Shock* 16 Suppl 1:39–43, 2001
163. Sablotzki A, Friedrich I, Mühling J, et al: The systemic inflammatory response syndrome following cardiac surgery: different expression of proinflammatory cytokines

and procalcitonin in patients with and without multiorgan dysfunctions. *Perfusion* 17:103–109, 2002

164. Zhao D, Yang R, Liu S, et al: Study on the Characteristics of Early Cytokine Storm Response to Cardiac Surgery. *J Interferon Cytokine Res* 43:351–358, 2023

165. Klein DJ, Briet F, Nisenbaum R, et al: Endotoxemia related to cardiopulmonary bypass is associated with increased risk of infection after cardiac surgery: a prospective observational study. *Crit Care* 15:R69, 2011

166. Riddington DW, Venkatesh B, Boivin CM, et al: Intestinal permeability, gastric intramucosal pH, and systemic endotoxemia in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *JAMA* 275:1007–1012, 1996

167. Riddington DW: Intestinal Permeability, Gastric Intramucosal pH, and Systemic Endotoxemia in Patients Undergoing Cardiopulmonary Bypass. *JAMA* 275:1007, 1996

168. Rocke DA, Gaffin SL, Wells MT, et al: Endotoxemia associated with cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 93:832–837, 1987

169. Bennett-Guerrero E, Grocott HP, Levy JH, et al: A phase II, double-blind, placebo-controlled, ascending-dose study of Eritoran (E5564), a lipid A antagonist, in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 104:378–383, 2007

170. Bouter H, Schippers EF, Luelmo SAC, et al: No effect of preoperative selective gut decontamination on endotoxemia and cytokine activation during cardiopulmonary bypass: a randomized, placebo-controlled study. *Crit Care Med* 30:38–43, 2002

171. Khabar KS, elBarbary MA, Khouqeer F, et al: Circulating endotoxin and cytokines after cardiopulmonary bypass: differential correlation with duration of bypass and systemic inflammatory response/multiple organ dysfunction syndromes. *Clin Immunol Immunopathol* 85:97–103, 1997

172. Guzik TJ, Korb R, Adamek-Guzik T: Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J Physiol Pharmacol* 54:469–487, 2003

173. Zakkar M, Guida G, Suleiman M-S, et al: Cardiopulmonary bypass and oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* 2015:189863, 2015

174. Mitaka C, Hirata Y, Yokoyama K, et al: Relationships of circulating nitrite/nitrate levels to severity and multiple organ dysfunction syndrome in systemic inflammatory response syndrome. *Shock* 19:305–309, 2003

175. Viaro F, Baldo CF, Capellini VK, et al: Plasma nitrate/nitrite (NO_x) is not a useful biomarker to predict inherent cardiopulmonary bypass inflammatory response. *J Card Surg* 23:336–338, 2008
176. Dinarello CA, Gelfand JA, Wolff SM: Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome. *JAMA* 269:1829–1835, 1993
177. Schulte W, Bernhagen J, Bucala R: Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets--an updated view. *Mediators Inflamm* 2013:165974, 2013
178. Cekic C, Linden J: Purinergic regulation of the immune system. *Nat Rev Immunol* 16:177–192, 2016
179. El-Diasty MM, Rodríguez J, Pérez L, et al: Compartmentalization of the Inflammatory Response in the Pericardial Cavity in Patients Undergoing Cardiac Surgery. *Int J Mol Sci* 25, 2024
180. Manuel V, Miana LA, Fonseca-Alaniz MH, et al: Myocardial tissue expression of mRNA and preoperative neutrophil-lymphocyte ratio in children undergoing congenital heart surgery. *Transl Pediatr* 13:248–259, 2024
181. Law RHP, Zhang Q, McGowan S, et al: An overview of the serpin superfamily. *Genome Biol* 7:216, 2006
182. Janciauskiene S, Wrenger S, Immenschuh S, et al: The Multifaceted Effects of Alpha1-Antitrypsin on Neutrophil Functions. *Front Pharmacol* 9:341, 2018
183. Huntington JA, Read RJ, Carrell RW: Structure of a serpin-protease complex shows inhibition by deformation. *Nature* 407:923–926, 2000
184. Ehlers MR: Immune-modulating effects of alpha-1 antitrypsin. *Biol Chem* 395:1187–1193, 2014
185. Moraga F, Janciauskiene S: Activation of primary human monocytes by the oxidized form of alpha1-antitrypsin. *J Biol Chem* 275:7693–7700, 2000
186. Libert C, van Molle W, Brouckaert P, et al: alpha1-Antitrypsin inhibits the lethal response to TNF in mice. *J Immunol* 157:5126–5129, 1996
187. Marcondes AM, Karoopongse E, Lesnikova M, et al: α -1-Antitrypsin (AAT)-modified donor cells suppress GVHD but enhance the GVL effect: a role for mitochondrial bioenergetics. *Blood* 124:2881–2891, 2014
188. Götzfried J, Smirnova NF, Morrone C, et al: Preservation with α 1-antitrypsin improves primary graft function of murine lung transplants. *J Heart Lung Transplant* 37:1021–1028, 2018

189. Al-Omari M, Korenbaum E, Ballmaier M, et al: Acute-Phase Protein α 1-Antitrypsin Inhibits Neutrophil Calpain I and Induces Random Migration. *Mol Med* 17:865–874, 2011
190. Bergin DA, Reeves EP, Meleady P, et al: α -1 Antitrypsin regulates human neutrophil chemotaxis induced by soluble immune complexes and IL-8. *J Clin Invest* 120:4236–4250, 2010
191. Janciauskiene SM, Nita IM, Stevens T: Alpha1-antitrypsin, old dog, new tricks. Alpha1-antitrypsin exerts in vitro anti-inflammatory activity in human monocytes by elevating cAMP. *J Biol Chem* 282:8573–8582, 2007
192. Siebers K, Fink B, Zakrzewicz A, et al: Alpha-1 Antitrypsin Inhibits ATP-Mediated Release of Interleukin-1 β via CD36 and Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Front Immunol* 9:877, 2018
193. Du S, Tian J, Xiao Z, et al: Serum alpha 1-antitrypsin predicts severe acute kidney injury after cardiac surgery. *J Thorac Dis* 11:5053–5062, 2019
194. Karmakar S, Lal G: Role of serotonin receptor signaling in cancer cells and anti-tumor immunity. *Theranostics* 11:5296–5312, 2021
195. Pavlov VA, Tracey KJ: The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain Behav Immun* 19:493–499, 2005
196. Rosas-Ballina M, Tracey KJ: Cholinergic control of inflammation. *J Intern Med* 265:663–679, 2009
197. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, et al: Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 405:458–462, 2000
198. Zivkovic AR, Bender J, Brenner T, et al: Reduced butyrylcholinesterase activity is an early indicator of trauma-induced acute systemic inflammatory response. *J Inflamm Res* 9:221–230, 2016
199. Zivkovic AR, Tourelle KM, Brenner T, et al: Reduced serum cholinesterase activity indicates splenic modulation of the sterile inflammation. *J Surg Res* 220:275–283, 2017
200. Bitzinger DI, Gruber M, Tümmler S, et al: In Vivo Effects of Neostigmine and Physostigmine on Neutrophil Functions and Evaluation of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase as Inflammatory Markers during Experimental Sepsis in Rats. *Mediators Inflamm* 2019:8274903, 2019

201. Al-Barazie RM, Bashir GH, Qureshi MM, et al: Cholinergic Activation Enhances Resistance to Oral Salmonella Infection by Modulating Innate Immune Defense Mechanisms at the Intestinal Barrier. *Front Immunol* 9:551, 2018
202. Fernandez-Cabezudo MJ, Lorke DE, Azimullah S, et al: Cholinergic stimulation of the immune system protects against lethal infection by Salmonella enterica serovar Typhimurium. *Immunology* 130:388–398, 2010
203. Shearer ES, Russell GN: The effect of cardiopulmonary bypass on cholinesterase activity. *Anaesthesia* 48:293–296, 1993
204. Yang Y, Yang X, Yang J: Cholinesterase level is a predictor of systemic inflammatory response syndrome and complications after cardiopulmonary bypass. *Ann Palliat Med* 10:11714–11720, 2021
205. Kitagaki K, Nakanishi M, Ono R, et al: Cholinesterase levels predict exercise capacity in cardiac recipients early after transplantation. *Clin Transplant* 32, 2018
206. Schlake K, Teller J, Hinken L, et al: Butyrylcholinesterase activity in patients with postoperative delirium after cardiothoracic surgery or percutaneous valve replacement- an observational interdisciplinary cohort study. *BMC Neurol* 24, 2024
207. Denning N-L, Aziz M, Gurien SD, et al: DAMPs and NETs in Sepsis. *Front Immunol* 10:2536, 2019
208. Supinski GS, Schroder EA, Callahan LA: Mitochondria and Critical Illness. *Chest* 157:310–322, 2020
209. Naase H, Harling L, Kidher E, et al: Toll-like receptor 9 and the inflammatory response to surgical trauma and cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Surg* 15:137, 2020
210. Mallavia B, Liu F, Lefrançois E, et al: Mitochondrial DNA Stimulates TLR9-Dependent Neutrophil Extracellular Trap Formation in Primary Graft Dysfunction. *Am J Respir Cell Mol Biol* 62:364–372, 2020
211. Jansen MPB, Pulskens WP, Butter LM, et al: Mitochondrial DNA is Released in Urine of SIRS Patients With Acute Kidney Injury and Correlates With Severity of Renal Dysfunction. *Shock* 49:301–310, 2018
212. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, et al: Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature* 464:104–107, 2010
213. Qin C, Gu J, Hu J, et al: Platelets activation is associated with elevated plasma mitochondrial DNA during cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Surg* 11:90, 2016

214. Qin C, Liu R, Gu J, et al: Variation of perioperative plasma mitochondrial DNA correlate with peak inflammatory cytokines caused by cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Surg* 10:85, 2015
215. Wang L, Xie L, Zhang Q, et al: Plasma nuclear and mitochondrial DNA levels in acute myocardial infarction patients. *Coron Artery Dis* 26:296–300, 2015
216. Shang Y, Smith S, Hu X: Role of Notch signaling in regulating innate immunity and inflammation in health and disease. *Protein Cell* 7:159–174, 2016
217. Tanigaki K, Honjo T: Regulation of lymphocyte development by Notch signaling. *Nat Immunol* 8:451–456, 2007
218. Gallenstein N, Tichy L, Weigand MA, et al: Notch Signaling in Acute Inflammation and Sepsis. *Int J Mol Sci* 24, 2023
219. Hildebrand D, Decker SO, Koch C, et al: Host-Derived Delta-Like Canonical Notch Ligand 1 as a Novel Diagnostic Biomarker for Bacterial Sepsis-Results From a Combinational Secondary Analysis. *Front Cell Infect Microbiol* 9:267, 2019
220. Schneck E, Edinger F, Uhle F, et al: Delta-like canonical Notch ligand 1 is predictive for sepsis and acute kidney injury in surgical intensive care patients. *Sci Rep* 12:13355, 2022
221. Moll M, Reichel K, Nurjadi D, et al: Notch Ligand Delta-Like 1 Is Associated With Loss of Vascular Endothelial Barrier Function. *Front Physiol* 12:766713, 2021
222. Norum HM, Michelsen AE, Lekva T, et al: Circulating delta-like Notch ligand 1 is correlated with cardiac allograft vasculopathy and suppressed in heart transplant recipients on everolimus-based immunosuppression. *Am J Transplant* 19:1050–1060, 2019
223. Kjellman A, Akre O, Gustafsson O, et al: Soluble urokinase plasminogen activator receptor as a prognostic marker in men participating in prostate cancer screening. *J Intern Med* 269:299–305, 2011
224. Mustjoki S, Sidenius N, Sier CF, et al: Soluble urokinase receptor levels correlate with number of circulating tumor cells in acute myeloid leukemia and decrease rapidly during chemotherapy. *Cancer Res* 60:7126–7132, 2000
225. Rasmussen LJH, Petersen JEV, Eugen-Olsen J: Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) as a Biomarker of Systemic Chronic Inflammation. *Front Immunol* 12:780641, 2021
226. Desmedt S, Desmedt V, Delanghe JR, et al: The intriguing role of soluble urokinase receptor in inflammatory diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci* 54:117–133, 2017

227. Andersen O, Eugen-Olsen J, Kofoed K, et al: Soluble urokinase plasminogen activator receptor is a marker of dysmetabolism in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *J Med Virol* 80:209–216, 2008
228. Enocsson H, Wetterö J, Skogh T, et al: Soluble urokinase plasminogen activator receptor levels reflect organ damage in systemic lupus erythematosus. *Transl Res* 162:287–296, 2013
229. Koch A, Voigt S, Kruschinski C, et al: Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor is stably elevated during the first week of treatment in the intensive care unit and predicts mortality in critically ill patients. *Crit Care* 15:R63, 2011
230. Rasmussen SR, Nielsen RV, Møgelvang R, et al: Prognostic value of suPAR and hsCRP on acute kidney injury after cardiac surgery. *BMC Nephrol* 22:120, 2021
231. Zhu L, Cai J, Fang J, et al: Nomogram Model for Cardiac Surgery-Associated Acute Kidney Injury Based on Clinical Characteristics Combined with Plasma suPAR. *Int J Gen Med* 17:3181–3192, 2024
232. Koller L, Steinacher E, Hofer F, et al: Soluble urokinase plasminogen activator receptor and survival in elective cardiac surgery. *Eur J Clin Invest* 53:e13953, 2023
233. Borst C, Gründeman PF: Minimally invasive coronary artery bypass grafting: an experimental perspective. *Circulation* 99:1400–1403, 1999
234. Bakaeen FG, Shroyer ALW, Gammie JS, et al: Trends in use of off-pump coronary artery bypass grafting: Results from the Society of Thoracic Surgeons Adult Cardiac Surgery Database. *J Thorac Cardiovasc Surg* 148:856-3, 864.e1; discussion 863-4, 2014
235. Deutsche Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie e.V.: DGTHG-Leistungsstatistik. Verfahrensjahr 2024, 2025. Available at: <https://dgthg.de/inhalt/uploads/2025/05/DGTHG-Leistungsstatistik-2024-free-access.pdf>, [accessed May 27, 2025]
236. Møller CH, Penninga L, Wetterslev J, et al: Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting for ischaemic heart disease. *Cochrane Database Syst Rev*:CD007224, 2012
237. Lamy A, Devereaux PJ, Prabhakaran D, et al: Off-pump or on-pump coronary-artery bypass grafting at 30 days. *N Engl J Med* 366:1489–1497, 2012
238. Razavi AA, Malas J, Salam A, et al: Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting is Overutilized. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 2024

239. Shaefi S, Mittel A, Loberman D, et al: Off-Pump Versus On-Pump Coronary Artery Bypass Grafting-A Systematic Review and Analysis of Clinical Outcomes. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 33:232–244, 2019
240. Al-Ruzzeh S, Hoare G, Marczin N, et al: Off-pump coronary artery bypass surgery is associated with reduced neutrophil activation as measured by the expression of CD11b: a prospective randomized study. *Heart Surg Forum* 6:89–93, 2003
241. Castellheim A, Hoel TN, Videm V, et al: Biomarker profile in off-pump and on-pump coronary artery bypass grafting surgery in low-risk patients. *Ann Thorac Surg* 85:1994–2002, 2008
242. Remadi JP, Rakotoarivelo Z, Marticho P, et al: Prospective randomized study comparing coronary artery bypass grafting with the new mini-extracorporeal circulation Jostra System or with a standard cardiopulmonary bypass. *Am Heart J* 151:198, 2006
243. Zajonz T, Koch C, Schwiddessen J, et al: Minimized Extracorporeal Circulation Is Associated with Reduced Plasma Levels of Free-Circulating Mitochondrial DNA Compared to Conventional Cardiopulmonary Bypass: A Secondary Analysis of an Exploratory, Prospective, Interventional Study. *J Clin Med* 11, 2022
244. Bical OM, Fromes Y, Gaillard D, et al: Comparison of the inflammatory response between miniaturized and standard CPB circuits in aortic valve surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 29:699–702, 2006
245. Svitek V, Lonsky V, Mandak J, et al: No clear clinical benefit of using mini-invasive extracorporeal circulation in coronary artery bypass grafting in low-risk patients. *Perfusion* 24:389–395, 2009
246. Beghi C, Nicolini F, Agostinelli A, et al: Mini-cardiopulmonary bypass system: results of a prospective randomized study. *Ann Thorac Surg* 81:1396–1400, 2006
247. Wiesenack C, Liebold A, Philipp A, et al: Four years' experience with a miniaturized extracorporeal circulation system and its influence on clinical outcome. *Artif Organs* 28:1082–1088, 2004
248. Dinarello CA: Anticytokine Strategies in the Treatment of the Systemic Inflammatory Response Syndrome. *JAMA* 269:1829, 1993
249. Janciauskiene SM, Bals R, Koczulla R, et al: The discovery of α 1-antitrypsin and its role in health and disease. *Respir Med* 105:1129–1139, 2011
250. Antonsen S, Brandslund I, Clemensen S, et al: Neutrophil lysosomal enzyme release and complement activation during cardiopulmonary bypass. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 21:47–52, 1987

251. Warren OJ, Smith AJ, Alexiou C, et al: The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: part 1--mechanisms of pathogenesis. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 23:223–231, 2009
252. Hampel H, Mesulam M-M, Cuello AC, et al: The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain* 141:1917–1933, 2018
253. Adam EH, Haas V, Lindau S, et al: Cholinesterase alterations in delirium after cardiosurgery: a German monocentric prospective study. *BMJ Open* 10:e031212, 2020
254. Cerejeira J, Batista P, Nogueira V, et al: Low preoperative plasma cholinesterase activity as a risk marker of postoperative delirium in elderly patients. *Age Ageing* 40:621–626, 2011
255. John M, Ely EW, Halfkann D, et al: Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in cardiosurgical patients with postoperative delirium. *J Intensive Care* 5:29, 2017
256. Müller A, Olbert M, Heymann A, et al: Relevance of peripheral cholinesterase activity on postoperative delirium in adult surgical patients (CESARO): A prospective observational cohort study. *Eur J Anaesthesiol* 36:114–122, 2019
257. Saha S, Karaca K, Jebran AF, et al: Diagnostic Value of Cholinesterase Activity for the Development of Postoperative Delirium after Cardiac Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 69:693–699, 2021
258. Schmidt K, Zivkovic AR, Thiele M, et al: Point-of-care measured serum cholinesterase activity predicts patient outcome following severe burns. *Burns* 47:863–872, 2021
259. An Y-S, Jin Y, Jin T, et al: Operative and anaesthetic factors influencing on delirium in the intensive care unit: An Analysis of electronic health records. *J Clin Nurs* 28:1327–1335, 2019
260. Brown WR, Moody DM, Challa VR, et al: Longer duration of cardiopulmonary bypass is associated with greater numbers of cerebral microemboli. *Stroke* 31:707–713, 2000
261. Maldonado JR: Delirium pathophysiology: An updated hypothesis of the etiology of acute brain failure. *Int J Geriatr Psychiatry* 33:1428–1457, 2018
262. Worek F, Mast U, Kiderlen D, et al: Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood. *Clin Chim Acta* 288:73–90, 1999
263. Securetec Detektions-Systeme A.G.: Che Check Mobile: Portable Cholinesterase Testing System_military_use_70507_v03_EN_Email.pdf (accessed on 22 July 2023),

2013. Available at: https://www.securetec.net/app/uploads/2018/08/Schnelltest-Bestimmung-Cholinesterase_Brochure_ChE-Enzymtest, [accessed January 30, 2025]
264. Zujalovic B, Mayer B, Hafner S, et al: AChE-activity in critically ill patients with suspected septic encephalopathy: a prospective, single-centre study. *BMC Anesthesiol* 20:287, 2020
265. Kulier A, Levin J, Moser R, et al: Impact of preoperative anemia on outcome in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 116:471–479, 2007
266. Li J, Meng D, Chang C, et al: Risk factors for delirium after coronary artery bypass grafting in elderly patients. *Ann Transl Med* 9:1666, 2021
267. Li MM, Miles S, Callum J, et al: Anémie postopératoire chez la patientèle de chirurgie cardiaque : un compte rendu narratif. *Can J Anaesth* 71:408–421, 2024
268. Marik PE, Bellomo R: Stress hyperglycemia: an essential survival response! *Crit Care* 17:305, 2013
269. Oh AR, Lee DY, Lee S, et al: Association between Preoperative Glucose Dysregulation and Delirium after Non-Cardiac Surgery. *J Clin Med* 13, 2024
270. Park SJ, Oh AR, Lee J-H, et al: Association of preoperative blood glucose level with delirium after non-cardiac surgery in diabetic patients. *Korean J Anesthesiol* 77:226–235, 2024
271. Jasiecki J, Targońska M, Wasąg B: The Role of Butyrylcholinesterase and Iron in the Regulation of Cholinergic Network and Cognitive Dysfunction in Alzheimer's Disease Pathogenesis. *Int J Mol Sci* 22, 2021
272. Brown CH, Grega M, Selnes OA, et al: Length of red cell unit storage and risk for delirium after cardiac surgery. *Anesth Analg* 119:242–250, 2014
273. Lee S-S, Kim J-H, Lee J-J, et al: The Impact of Blood Transfusion in Developing Postoperative Delirium in Patients with Hip Fracture Surgery. *J Clin Med* 12, 2023
274. Mariscalco G, Biancari F, Juvonen T, et al: Red blood cell transfusion is a determinant of neurological complications after cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 20:166–171, 2015
275. Michels B, Holzamer A, Graf BM, et al: Butyrylcholinesterase as a perioperative complication marker in patients after transcatheter aortic valve implantation: a prospective observational study. *BMJ Open* 11:e042857, 2021

276. Formica F, Mariani S, Broccolo F, et al: Systemic and myocardial inflammatory response in coronary artery bypass graft surgery with miniaturized extracorporeal circulation: differences with a standard circuit and off-pump technique in a randomized clinical trial. *ASAIO J* 59:600–606, 2013
277. Diez C, Haneya A, Brünner F, et al: Minimized extracorporeal circulation cannot prevent acute kidney injury but attenuates early renal dysfunction after coronary bypass grafting. *ASAIO J* 55:602–607, 2009
278. Zangrillo A, Garozzo FA, Biondi-Zoccai G, et al: Miniaturized cardiopulmonary bypass improves short-term outcome in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized controlled studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 139:1162–1169, 2010
279. Zhang J, Xu S, Xu Y, et al: Relation of Mitochondrial DNA Copy Number in Peripheral Blood to Postoperative Atrial Fibrillation After Isolated Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting. *Am J Cardiol* 119:473–477, 2017
280. Backes Y, van der Sluijs KF, Mackie DP, et al: Usefulness of suPAR as a biological marker in patients with systemic inflammation or infection: a systematic review. *Intensive Care Med* 38:1418–1428, 2012
281. Ismail A, Hayek SS: Role of Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor in Cardiovascular Disease. *Curr Cardiol Rep* 25:1797–1810, 2023
282. Sudhini YR, Wei C, Reiser J: suPAR: An Inflammatory Mediator for Kidneys. *Kidney Dis (Basel)* 8:265–274, 2022
283. Obeagu EI: The dynamic role of soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in monitoring coagulation dysfunction during COVID-19 progression: a review. *Annals of Medicine & Surgery* 87:635–640, 2025
284. Kellum JA, Lameire N: Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). *Crit Care* 17:204, 2013
285. Angelini GD, Reeves BC, Culliford LA, et al: Conventional versus minimally invasive extra-corporeal circulation in patients undergoing cardiac surgery: A randomized controlled trial (COMICS). *Perfusion*:2676591241258054, 2024
286. Ables JL, Breunig JJ, Eisch AJ, et al: Not(ch) just development: Notch signalling in the adult brain. *Nat Rev Neurosci* 12:269–283, 2011
287. Gavrilaki E, Bousiou Z, Batsis I, et al: Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor (suPAR) and Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) Levels Are Significantly Associated with Endothelial Injury Indices in Adult Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Recipients. *Int J Mol Sci* 25, 2023

288. Gianella S, Letendre SL, Iudicello J, et al: Plasma (1 → 3)-β-D-glucan and suPAR levels correlate with neurocognitive performance in people living with HIV on antiretroviral therapy: a CHARTER analysis. *J Neurovirol* 25:837–843, 2019
289. Roca N, Jatem E, Martín ML, et al: Relationship between soluble urokinase-type plasminogen activator receptor and serum biomarkers of endothelial activation in patients with idiopathic nephrotic syndrome. *Clin Kidney J* 14:543–549, 2021
290. Hölle T, Rehn P, Leventogiannis K, et al: Evaluation of the Novel Sepsis Biomarker Host-Derived Delta-like Canonical Notch Ligand 1-A Secondary Analysis of 405 Patients Suffering from Inflammatory or Infectious Diseases. *Int J Mol Sci* 24, 2023
291. Hildebrand D, Uhle F, Sahin D, et al: The Interplay of Notch Signaling and STAT3 in TLR-Activated Human Primary Monocytes. *Front Cell Infect Microbiol* 8:241, 2018
292. Jin B, Liang Y, Liu Y, et al: Notch signaling pathway regulates T cell dysfunction in septic patients. *Int Immunopharmacol* 76:105907, 2019
293. Joffre J, Hellman J, Ince C, et al: Endothelial Responses in Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 202:361–370, 2020
294. Pan T, Liu Z, Yin J, et al: Notch Signaling Pathway Was Involved in Regulating Programmed Cell Death 1 Expression during Sepsis-Induced Immunosuppression. *Mediators Inflamm* 2015:539841, 2015
295. Venet F, Monneret G: Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nat Rev Nephrol* 14:121–137, 2018
296. Horne KL, Viramontes-Hörner D, Packington R, et al: A comprehensive description of kidney disease progression after acute kidney injury from a prospective, parallel-group cohort study. *Kidney Int* 104:1185–1193, 2023
297. Ortega-Loubon C, Tamayo E, Jorge-Monjas P: Cardiac Surgery-Associated Acute Kidney Injury: Current Updates and Perspectives. *J Clin Med* 11, 2022
298. Srivastava V, D'Silva C, Tang A, et al: The impact of major perioperative renal insult on long-term renal function and survival after cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 15:14–17, 2012
299. Xiao R, Zhou R, Luo M: Relationship between intraoperative blood pressure variability and postoperative acute kidney injury in pediatric cardiac surgery, 2024
300. Liebold A, Albrecht G: Minimized extracorporeal circulation in non-coronary surgery. *J Thorac Dis* 11:S1498-S1506, 2019

301. Squicciarro E, Stasi A, Lorusso R, et al: Narrative review of the systemic inflammatory reaction to cardiac surgery and cardiopulmonary bypass. *Artif Organs* 46:568–577, 2022
302. Doi K, Urata M, Katagiri D, et al: Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in acute kidney injury superimposed on chronic kidney disease after cardiac surgery: a multicenter prospective study. *Crit Care* 17:R270, 2013
303. Jin Z, Hu J, Ma D: Postoperative delirium: perioperative assessment, risk reduction, and management. *Br J Anaesth* 125:492–504, 2020
304. Beckmann A, Meyer R, Eberhardt J, et al: German Heart Surgery Report 2023: The Annual Updated Registry of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 72:329–345, 2024
305. Horneffer PJ, Gardner TJ, Manolio TA, et al: The effects of age on outcome after coronary bypass surgery. *Circulation* 76:V6-12, 1987
306. Ottino GM, Di Summa M, Poletti GA, et al: Coronary artery bypass grafting for unstable angina. Risk factors of operative mortality. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 25:153–157, 1984
307. Sanson G, Khlopenyuk Y, Milocco S, et al: Delirium after cardiac surgery. Incidence, phenotypes, predisposing and precipitating risk factors, and effects. *Heart Lung* 47:408–417, 2018
308. Frenzel E, Wrenger S, Immenschuh S, et al: Acute-phase protein α 1-antitrypsin—a novel regulator of angiopoietin-like protein 4 transcription and secretion. *J Immunol* 192:5354–5362, 2014
309. Hotchkiss RS, Karl IE: The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 348:138–150, 2003
310. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL: Sepsis syndromes: understanding the role of innate and acquired immunity. *Shock* 16:83–96, 2001
311. Adib-Conquy M, Cavaillon J-M: Compensatory anti-inflammatory response syndrome. *Thromb Haemost* 101:36–47, 2009
312. Clere-Jehl R, Mariotte A, Meziani F, et al: JAK-STAT Targeting Offers Novel Therapeutic Opportunities in Sepsis. *Trends Mol Med* 26:987–1002, 2020
313. Zivkovic AR, Schmidt K, Sigl A, et al: Reduced serum butyrylcholinesterase activity indicates severe systemic inflammation in critically ill patients. *Mediators Inflamm* 2015:274607, 2015

314. Rump AF, Schierholz J, Biederbick W, et al: Pseudocholinesterase-activity reduction during cardiopulmonary bypass: the role of dilutional processes and pharmacological agents. *Gen Pharmacol* 32:65–69, 1999
315. Salahudeen MS, Duffull SB, Nishtala PS: Anticholinergic burden quantified by anticholinergic risk scales and adverse outcomes in older people: a systematic review. *BMC Geriatr* 15:31, 2015
316. Hshieh TT, Yang T, Gartaganis SL, et al: Hospital Elder Life Program: Systematic Review and Meta-analysis of Effectiveness. *Am J Geriatr Psychiatry* 26:1015–1033, 2018
317. Inouye SK, Bogardus ST, Baker DI, et al: The Hospital Elder Life Program: a model of care to prevent cognitive and functional decline in older hospitalized patients. Hospital Elder Life Program. *J Am Geriatr Soc* 48:1697–1706, 2000
318. Sarejloo S, Shojaei N, Lucke-Wold B, et al: Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio as prognostic predictors for delirium in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Anesthesiol* 23:58, 2023
319. Wang H, Li L, Ma Y: Platelet-to-lymphocyte ratio a potential prognosticator in acute myocardial infarction: A prospective longitudinal study. *Clin Cardiol* 46:632–638, 2023
320. Dong G, Huang A, Liu L: Platelet-to-lymphocyte ratio and prognosis in STEMI: A meta-analysis. *Eur J Clin Invest* 51:e13386, 2021
321. Chen Y, Chen S, Han Y, et al: Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio are Important Indicators for Predicting in-Hospital Death in Elderly AMI Patients. *J Inflamm Res* 16:2051–2061, 2023
322. Islam MM, Satıcı MO, Eroglu SE: Unraveling the clinical significance and prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio, systemic immune-inflammation index, systemic inflammation response index, and delta neutrophil index: An extensive literature review. *Turk J Emerg Med* 24:8–19, 2024
323. Buonacera A, Stancanelli B, Colaci M, et al: Neutrophil to Lymphocyte Ratio: An Emerging Marker of the Relationships between the Immune System and Diseases. *Int J Mol Sci* 23, 2022
324. Mazzei V, Nasso G, Salamone G, et al: Prospective randomized comparison of coronary bypass grafting with minimal extracorporeal circulation system (MECC) versus off-pump coronary surgery. *Circulation* 116:1761–1767, 2007

325. Wlazeł RN, Szadkowska I, Bartnicki P, et al: Clinical and prognostic usefulness of soluble urokinase plasminogen activator receptor in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 50:339–345, 2018
326. Mossanen JC, Pracht J, Jansen TU, et al: Elevated Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor and Proenkephalin Serum Levels Predict the Development of Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery. *Int J Mol Sci* 18, 2017
327. Lopez MG, Hughes CG, DeMatteo A, et al: Intraoperative Oxidative Damage and Delirium after Cardiac Surgery. *Anesthesiology* 132:551–561, 2020
328. Akinosoglou K, Kotsaki A, Gounaridi I-M, et al: Efficacy and safety of early soluble urokinase plasminogen receptor plasma-guided anakinra treatment of COVID-19 pneumonia: A subgroup analysis of the SAVE-MORE randomised trial. *EClinicalMedicine* 56:101785, 2023
329. Saleh NY, Soliman SE, Aboukoura MA, et al: Role of soluble urokinase plasminogen activator receptor in critically ill children with hospital-acquired pneumonia: an observational study in hospital with controls. *BMJ Paediatr Open* 8, 2024
330. Savva A, Raftogiannis M, Baziaka F, et al: Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) for assessment of disease severity in ventilator-associated pneumonia and sepsis. *J Infect* 63:344–350, 2011
331. Tsai P-K, Tsao S-M, Yang W-E, et al: Plasma Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor Level as a Predictor of the Severity of Community-Acquired Pneumonia. *Int J Environ Res Public Health* 16, 2019
332. Bronicki RA, Hall M: Cardiopulmonary Bypass-Induced Inflammatory Response: Pathophysiology and Treatment. *Pediatr Crit Care Med* 17:S272-8, 2016
333. Lee C-C, Chang C-H, Chen S-W, et al: Preoperative risk assessment improves biomarker detection for predicting acute kidney injury after cardiac surgery. *PLoS One* 13:e0203447, 2018
334. Zhang Y, Zhao H, Su Q, et al: Novel Plasma Biomarker-Based Model for Predicting Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery: A Case Control Study. *Front Med (Lausanne)* 8, 2022
335. Berezin AE, Berezin AA: Biomarkers in Heart Failure: From Research to Clinical Practice. *Ann Lab Med* 43:225–236, 2023
336. Matt P, Carrel T, White M, et al: Proteomics in cardiovascular surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 133:210–214, 2007

337. Mayr M, Zhang J, Greene AS, et al: Proteomics-based development of biomarkers in cardiovascular disease: mechanistic, clinical, and therapeutic insights. *Mol Cell Proteomics* 5:1853–1864, 2006
338. National Association of Community Health Centers: Population Health Management Risk Stratification, 2022. Available at: https://www.nachc.org/wp-content/uploads/2023/04/PHM_Risk-Stratification-AG-Jan-2022.pdf, [accessed March 20, 2025]
339. DeGroat W, Abdelhalim H, Patel K, et al: Discovering biomarkers associated and predicting cardiovascular disease with high accuracy using a novel nexus of machine learning techniques for precision medicine. *Sci Rep* 14:1, 2024
340. Fan R, Qin W, Zhang H, et al: Machine learning in the prediction of cardiac surgery associated acute kidney injury with early postoperative biomarkers. *Front Surg* 10:1048431, 2023
341. Gruendel MS, Brenneisen W, Wollborn J, et al: Perioperative point-of-care-testing of plasmacholinesterases identifies older patients at risk for postoperative delirium: an observational prospective cohort study. *BMC Geriatr* 24:136, 2024

8. Anlagen

Anlage 1

International Immunopharmacology 81 (2020) 106297



Contents lists available at ScienceDirect

International Immunopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/intimp



Does heart surgery change the capacity of α 1-antitrypsin to inhibit the ATP-induced release of monocytic interleukin-1 β ? A preliminary study



A. Agné^{a,*}, K. Richter^a, S. Tumpara^b, A.-L. Sauer^c, F. Beckert^c, S. Wrenger^b, A. Zakrzewicz^a, A. Hecker^a, M. Markmann^c, C. Koch^c, T. Zajonz^c, M. Sander^c, A. Böning^d, W. Padberg^a, S. Janciauskiene^{b,e}, V. Grau^{a,e}

^a Laboratory of Experimental Surgery, Department of General and Thoracic Surgery, Justus-Liebig-University of Giessen, Giessen, Germany

^b Department of Respiratory Medicine, Hannover Medical School, Hannover, Germany

^c Department of Anesthesiology, Intensive Care Medicine and Pain Therapy, Justus-Liebig University of Giessen, Giessen, Germany

^d Department of Heart and Vascular Surgery, Justus-Liebig University of Giessen, Giessen, Germany

^e Member of the German Centre for Lung Research (DZL), Germany

ARTICLE INFO

Keywords:

ATP
Cardiopulmonary bypass
Inflammation
Monocytes
SERPINA1
Systemic inflammation

ABSTRACT

Heart surgery involving cardiopulmonary bypass induces systemic inflammation that is, at least in part, caused by extracellular ATP originating from damaged cells and by proteases secreted by activated neutrophils. The anti-protease α 1-antitrypsin (AAT) forms complexes with several proteases including neutrophil elastase, resulting in a mutual loss of activity. We demonstrated recently that AAT inhibits the ATP-induced release of the pro-inflammatory cytokine interleukin-1 β by human monocytes by a mechanism involving activation of metabotropic functions at nicotinic acetylcholine receptors. Interleukin-1 β importantly contributes to the pathogenesis of sterile inflammatory response syndrome. Thus, AAT might function as an endogenous safeguard against life-threatening systemic inflammation. In this preliminary study, we test the hypothesis that during cardiopulmonary bypass, AAT is inactivated as an anti-protease and as an inhibitor of ATP-induced interleukin-1 β release. AAT was affinity-purified from the blood plasma of patients before, during and after surgery. Lipopolysaccharide-primed human monocytic U937 cells were stimulated with ATP in the presence or absence of patient AAT to test for its inhibitory effect on interleukin-1 β release. Anti-protease activity was investigated via complex formation with neutrophil elastase. The capacity of patient AAT to inhibit the ATP-induced release of interleukin-1 β might be slightly reduced in response to heart surgery and complex formation of patient AAT with neutrophil elastase was unimpaired. We conclude that surgery involving cardiopulmonary bypass does not markedly reduce the anti-inflammatory and the anti-protease activity of AAT. The question if AAT augmentation therapy during heart surgery is suited to attenuate postoperative inflammation warrants further studies *in vivo*.

1. Introduction

Coronary artery bypass graft surgery or valve surgery, in combination with cardiopulmonary bypass (CPB) are life-saving interventions. However, heart surgery involving CPB causes massive cell damage, hemodilution, contact with foreign surfaces, increased shear stress, decreased temperature, and ischemia/reperfusion injury of heart and lung tissue that altogether induce inflammation of varying degrees [1–3]. A serious complication is a systemic inflammation that can be associated with a high morbidity and mortality [3]. No efficient evidence-based single intervention preventing patients from systemic

inflammation is available, which improves the clinical outcome after CPB [4,5]. There are, however, some promising approaches that are already used in diverse combinations, such as minimal-invasive coronary revascularization, minimized extracorporeal circuits, biocompatible surface coating, leukocyte-depleting filters, preoperative aspirin, steroids, protease inhibitors, and complement inhibitors [3,5].

Monocytes, neutrophils and mast cells are activated during heart surgery and concentrations of reactive oxygen species [1,6–8], neutrophil elastase and other proteases increase significantly [1,3,9–13]. In addition, levels of circulating pro-inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-18, tumor necrosis factor (TNF)- α , and high

* Corresponding author at: Justus-Liebig University of Giessen, Department of General and Thoracic Surgery, Laboratory of Experimental Surgery, Feulgenstr. 10-12, D-35392 Giessen, Germany.

E-mail address: Alisa.Agne@chiru.med.uni-giessen.de (A. Agné).

<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106297>

Received 7 January 2020; Received in revised form 31 January 2020; Accepted 5 February 2020
1567-5769/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

mobility group box 1 protein (HMGB1) rise [3,10,14–18]. IL-1 β is of outstanding relevance for the pathogenesis of surgery-associated inflammation, because experimental intravenous injection of IL-1 β into humans induces virtually all symptoms associated with systemic inflammation [19]. However, IL-1 β plays a pivotal role in host defense against infection, and hence, in preventing the progress from sterile systemic inflammation to sepsis [20]. The secretion of IL-1 β often depends on the consecutive occurrence of two danger-associated molecular patterns. Typically, the first signal is a toll-like receptor ligand that induces the expression of pro-IL-1 β and inflammasome components [21]. In the context of different kinds of trauma or ischemia/reperfusion injury, cytoplasm is spilled from damaged cells and the extracellular concentration of ATP can rise dramatically [22]. ATP functions as second danger signal that activates its receptor P2X7 (P2X7R), induces inflammasome assembly, activation of caspase-1, cleavage of pro-IL-1 β , and a swift release of mature IL-1 β [23].

The serine protease inhibitor α 1-antitrypsin (AAT, *SERPINA1*) [24] is a part of the endogenous safety system that counters virtually all the above described mechanisms. AAT is mainly produced by the liver and is present in concentrations ranging from 0.9 to 1.75 mg/ml in the blood plasma of healthy persons [25]. In response to inflammation, AAT levels can increase up to fourfold [26]. The interaction of AAT with proteases results in a mutual inactivation, during which covalent complexes are formed [27,28]. In addition, AAT functions as a scavenger of oxygen radicals, which also inactivate the anti-protease function of AAT [29,30]. In animal models, AAT protects from ischemia-reperfusion injury, rejection islet allografts, graft-versus-host-disease, rheumatoid arthritis, TNF- α /endotoxin induced lethality, and even exerts anti-bacterial effects [31–34]. The pro-inflammatory effects of the endotoxin lipopolysaccharide (LPS), a cell wall constituent of Gram-negative bacteria, are attenuated by AAT [35,36]. Furthermore, AAT regulates the expression of chemokines such as IL-8, chemotaxis and cell adhesion [37,38]. It reduces the expression of toll-like receptor 4 and of pro-inflammatory cytokines (IL-1, TNF- α), and up-regulates anti-inflammatory mediators such as IL-10 and IL-1 receptor antagonist [39].

Recently, we discovered that AAT efficiently inhibits the ATP-induced maturation and secretion of IL-1 β by LPS-primed human monocytes [40]. Signaling of AAT involves the scavenger receptor CD36, activation of phospholipase A2 β and the release of a yet unidentified cholinergic factor of low molecular mass. This factor functions as a nicotinic agonist that induces metabotropic signaling at monocytic nicotinic acetylcholine receptors inhibiting the P2X7R [40]. Thereby, the ATP-mediated induction of NLRP3 (NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3) inflammasome assembly is impaired, and hence, IL-1 β maturation and release are drastically reduced [40].

In the context of CPB-supported heart surgery, perioperative application of AAT might be protective. In this preliminary study, we test the hypothesis that the protective potential of endogenous AAT is impaired due to surgery-induced functional AAT deficiency. We investigate anti-inflammatory and anti-protease functions of isolated patient AAT before, during and shortly after CPB-supported heart surgery.

2. Methods

2.1. CPB patients

The study was approved by the ethics committee of the medical faculty Giessen, Germany (No. 30/16) and performed in accordance with the Helsinki Declaration. Written informed consent was given by each patient or patient's legal representative. Patients were a sub-population of a single center prospective observational pilot study (DRKS, German Clinical Trials Register number 00010959). Patient characteristics (n = 5) are summarized in Table 1. Included were male and female patients aged above 18 with an indication for CPB-supported coronary artery bypass surgery and an expected surgery time

Table 1

Patient characteristics (n = 5).

Age (years)	70 (52–75)
Sex male n (%)	4 (80)
BMI	24.5 (23.1–35.8)
History of... n (%)	
hypertension	5 (1 0 0)
acute myocardial infarction	1 (20)
stroke	1 (20)
hepatic insufficiency	0
smoking (n/%)	3 (60)
Laboratory findings	
WBC (x 1000/ μ l)	8 (6.6–10.2)
Hb (g/dl)	13.5 (12.7–14.6)
platelets (x 1000/ μ l)	246 (217–360)
INR	1 (0.9–1.1)
fibrinogen (g/l)	4 (3.9–4.0)
aPTT (sec)	27 (22–30)
creatinine (mg/dl)	0.8 (0.7–1)
troponine I (μ g/l)	0.015 (0.01–0.14)
C-reactive protein (mg/dl)	0.6 (0.5–10.6)

Values are shown as median and interquartile ranges or as n-number and percentage (%). aPTT, activated partial thromboplastin time; BMI, body mass index; CK, creatin kinase; INR, international normalized ratio; WBC, white blood cell count.

above 2 h. Patients with the need for valve surgery, arrhythmia, pregnancy, participation in another interventional study, infectious or autoimmune diseases, immunosuppressive or -modulating medication, a left ventricular ejection fraction below 30%, and renal dysfunction (KDIGO > 2) were excluded. Blood was taken 15 min after induction of anesthesia, 15 and 60 min after starting CPB, and 15 min after termination of CPB. Anesthesia, surgical procedures and CPB were performed according to a standardized local protocol.

2.2. Purification of AAT

AAT was purified from human heparinized blood plasma by affinity chromatography using Alpha-1 Antitrypsin Select (GE Healthcare Bio-Sciences, Uppsala, Sweden) as indicated by the provider and Poly-Prep® Chromatography Columns (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). The buffer of the eluate was exchanged to PBS (Gibco, Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL) by three rounds of ultrafiltration (Amicon® Ultra Centrifugal Filters, cut-off of 10 kDa; Merck, Darmstadt, Germany). The protein concentration of the eluate was measured using the BCA Protein Assay Kit (Pierce™, Rockford, IL) according to the instructions of the supplier. To control affinity purification, unpurified plasma, flow through of the affinity column, washing fraction, the eluate, and a sample obtained during stripping of the affinity matrix were investigated by gel electrophoresis and Western blotting.

2.3. U937 cell culture and stimulation

Cultivation and stimulation of U937 cells was performed essentially as described before [41]. Human monocytic U937 cells were provided by the German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (Braunschweig, Germany) and cultivated at 37 °C, 5% CO₂, in RPMI 1640 medium (Gibco) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS Superior, Biochrome, Berlin, Germany) and 2 mM glutamine (Glutamax®, Gibco). Cells were adjusted to a density of 1 × 10⁶ cells per ml, primed with 1 μ g/ml LPS from *Escherichia coli* (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Germany; L2654) for 5 h and stimulated with 100 μ M 2'-(3'-O-(4-benzoylbenzoyl)adenosine 5'-triphosphate (BzATP, Jena Bioscience, Jena, Germany) for 30 min in the presence or absence of different concentrations (2 μ g/ml – 1 mg/ml) of purified AAT. Thereafter, cell-free cell culture supernatants were collected and stored at –20 °C until measurement of IL-1 β and lactate dehydrogenase (LDH).

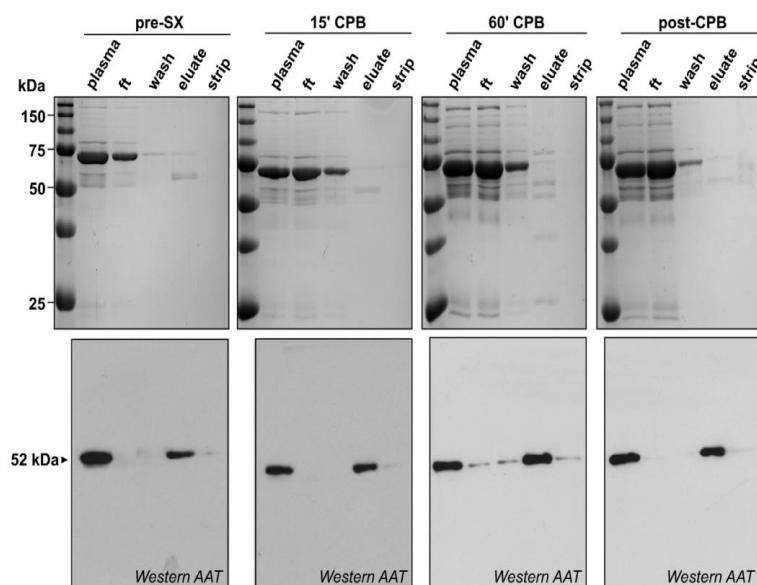


Fig. 1. Purification of α 1-antitrypsin (AAT) from the blood of patients undergoing cardiac surgery involving cardiopulmonary bypass (CPB). Blood was drawn at different time-points before surgery (pre-SX), during CPB (15' CPB, 60' CPB), and after CPB (post-CPB), and AAT was purified from the plasma by affinity chromatography. Unpurified plasma, flow through of the affinity column (ft), washing fraction (wash), the eluate, and a sample obtained during stripping of the affinity matrices (strip) were separated by SDS polyacrylamide (10%) gel electrophoreses along with molecular mass marker proteins and stained with Brilliant Blue. Western blots of the same samples were stained using antibodies that specifically detect AAT with an apparent molecular mass about 52 kDa. Representative results from one out of five patients are depicted (P-3).

2.4. ELISA

The IL-1 β concentration in cell culture supernatants was measured by the highly sensitive human Quantikine ImmunoassayTM (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) according to the manufacturer's instructions. The AAT ELISA (Abbexa[®], Cambridge, United Kingdom) was performed on blood plasma.

2.5. LDH

Cell death was estimated by measuring the cytoplasmic house-keeping protein LDH in cell culture supernatants using the Non-Radioactive Cytotoxicity AssayTM (Promega, Madison, WI, USA) according to the manufacturer's instructions. The viability of the U937 cells was not impaired with values between 98.6 and 100 % in any condition tested.

2.6. AAT / protease complex formation

After purification of AAT, the protein concentration was determined using the Micro BCA protein assay kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MS, USA). AAT purified from patients was incubated with human neutrophil elastase (Merck Millipore, Darmstadt, Germany) at a molar ratio of 1:2 in 100 mM Tris/HCl, 500 mM NaCl, pH 7.4, for 30 min at 37 $^{\circ}$ C. Thereafter, samples were mixed with double-concentrated SDS sample buffer, heated to 90 $^{\circ}$ C for 5 min and separated by gel electrophoresis.

2.7. Electrophoresis and Western blotting

To control AAT purification and to analyze purified AAT, samples were separated by SDS polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE, 10%) along with dual color precision plus protein standards (Bio-Rad, Hercules, CA) and transferred to Immobilon polyvinylidene difluoride membranes (Millipore, Billerica, MA). Membranes were blocked with 5% bovine serum albumin (Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Germany) in PBS and incubated with primary antibodies (goat anti-AAT 1:20,000; Bethyl, A80-122A, Montgomery, AL) in blocking solution as described before [40]. PBS supplemented with 0.01% Tween-20 was used for washing steps and appropriate horse radish peroxidase-labelled antibodies to goat immunoglobulins (Agilent Dako, 1:5,000).

Blots were developed using Lumi-Light substrate (Roche, Mannheim, Germany) and High Performance Chemiluminescence Films (GE Healthcare).

2.8. Statistical analyses

Data were analyzed with the IBM SPSS statistics software (Version 25, IBM, Armonk, NY, USA) or GraphPad Prism[®] software (Version 6, GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Values were compared, where applicable, by the nonparametric Kruskal-Wallis test, followed by the Mann-Whitney rank-sum test. Analysis of the dose-response relationship has been performed with R (Version 3.5.2.) by applying the function *drm* and the Weibull 2 model.

3. Results

3.1. Purification of patient AAT before, during and after CPB

Patients, who did not suffer from serious comorbidities, underwent conventional CPB-supported coronary artery bypass surgery in a highly standardized way according to the same local protocol (Table 1). None of the patients developed postoperative symptoms of a systemic inflammation or sepsis. Blood plasma was obtained from five patients undergoing heart surgery at the following time points: before surgery, 15 and 60 min after starting CPB, and 15 min after the end of CPB ($n = 5$, each). AAT was isolated by affinity chromatography, and all fractions obtained during purification were separated by SDS-PAGE, stained with Brilliant Blue or subjected to Western blotting to control for the efficiency of the purification method (Fig. 1). The pattern of proteins in the plasma samples obtained at different time points during surgery did not differ (Fig. 1). Western blotting revealed a single immunopositive band with an apparent molecular mass of about 52 kDa. A strong immunoreactive band exclusively appeared in unpurified plasma samples and in the eluates of the column, suggesting that purification was successful (Fig. 1). No pronounced differences were seen at the different time points investigated and the protein concentrations of the eluate fractions did not significantly change (data not shown).

3.2. AAT-mediated inhibition of BzATP-induced IL-1 β release

We demonstrated recently, that AAT efficiently and dose-

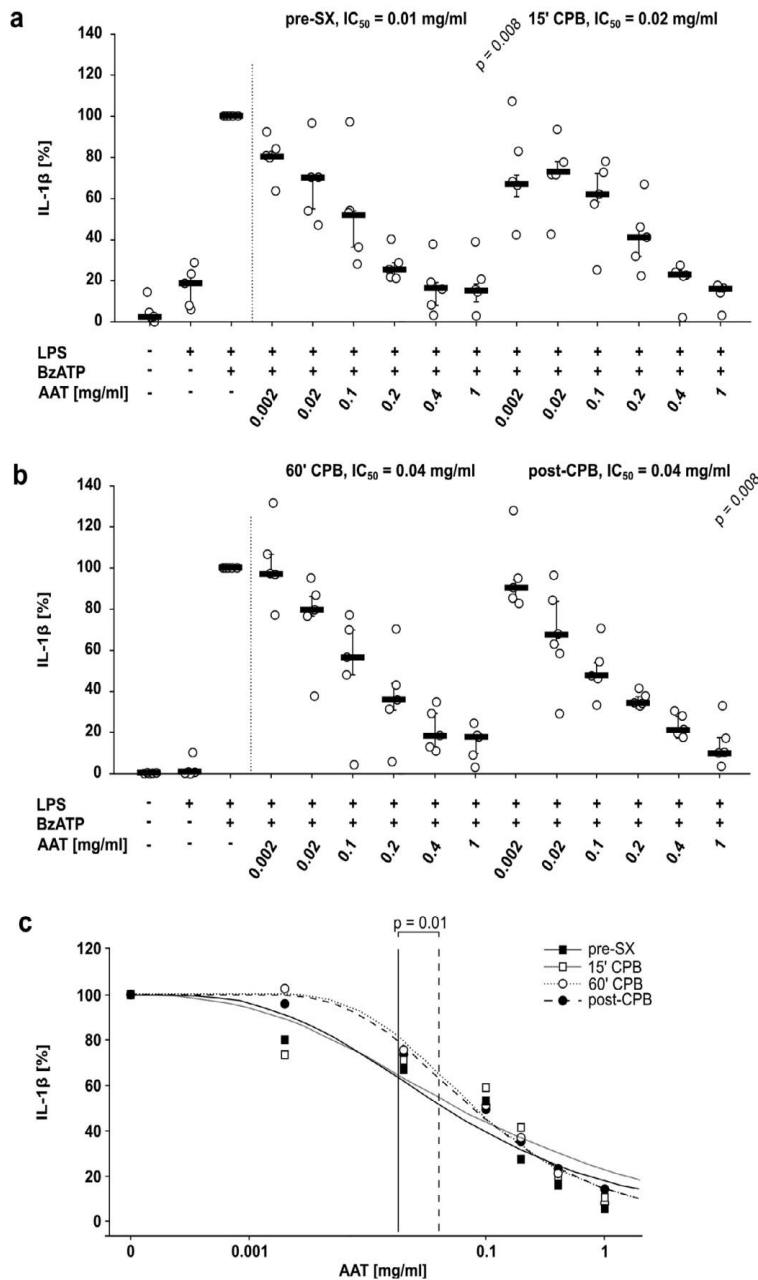


Fig. 2. α 1-antitrypsin (AAT)-mediated inhibition of ATP-induced IL-1 β release. Patient blood was drawn from five patients at different time-points before surgery (15' pre-SX), during cardiopulmonary bypass (15' CPB, 60' CPB) and after CPB (post-CPB), and AAT was purified from the plasma by affinity chromatography ($n = 5$, each). Human monocytic U937 cells were primed with lipopolysaccharide (LPS, 1 μ g/ml) for 5 h and stimulated with 2'-(3')-O-(4-benzoylbenzoyl) adenosine-5'-triphosphate (BzATP, 100 μ M) for another 30 min, in the presence or absence of different concentrations of patient AAT. IL-1 β released to the supernatant was measured after 30 min by ELISA. The IL-1 β values of cells treated with LPS and BzATP were set to 100%; all other values were calculated accordingly. (a, b) Data are presented as individual data points; bar represents median; whiskers encompass the 25th to 75th percentile. Experimental groups were compared by Kruskal Wallis test. To avoid multiple testing, only data obtained in the presence of 1 mg/ml AAT obtained before and after CPB were compared to data from cells treated with LPS and BzATP alone; Mann Whitney rank sum test. (c) The dose-response analysis has been performed by applying the Weibull 2 model.

independently inhibit the release of IL-1 β by LPS-primed human monocytic U937 cells induced by BzATP, an efficient agonist of P2X7R [40]. The concentration of LPS (1 μ g/ml) was tested and used in previous studies [40–46]. Here, we investigated the capacity of purified patient AAT to inhibit the BzATP-induced release of monocytic IL-1 β . As expected [41], untreated and LPS-primed U937 cells released only low amounts of IL-1 β , whereas addition of BzATP to LPS-primed cells induced the release of IL-1 β (33 – 44 pg/ml, median 36 pg/ml, $n = 5$; Fig. 2a, b). AAT obtained from patients before surgery, 15 and 60 min after starting CPB, and 15 min after termination of CPB dose-dependently and efficiently inhibited the BzATP-mediated IL-1 β release (Fig. 2a, b). Further analyses of the dose-response relationships revealed that the IC_{50} values did not change within 15 min of CPB

($p = 0.88$), whereas a small but statistically significant decrease in the inhibitory function of AAT was measured 60 min after starting CPB (Fig. 2c; preoperative IC_{50} 0.02 mg/ml, 60 min IC_{50} 0.04 mg/ml; $p = 0.003$). This minor difference was still visible in postoperative CPB patients ($p = 0.01$).

3.3. Anti-protease activity

To investigate the anti-protease activity of AAT, AAT purified from the blood of CPB patients was incubated with neutrophil elastase and the formation of covalent complexes by AAT and neutrophil elastase was visualized by SDS-PAGE under reducing conditions. Gels were either stained with Brilliant Blue, or followed by Western blotting using

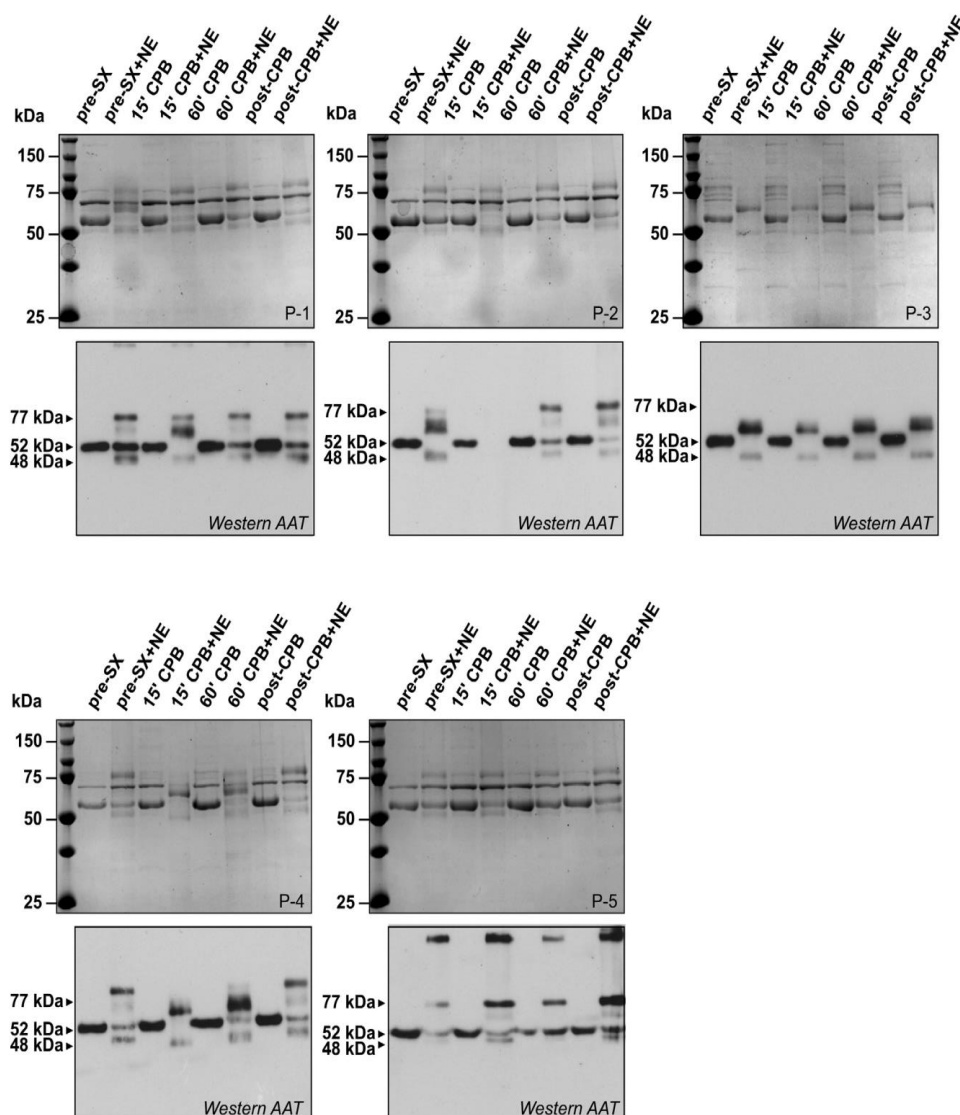


Fig. 3. Anti-protease activity of patient α 1-antitrypsin (AAT). AAT was purified from the blood plasma of five patients undergoing cardiac surgery involving cardiopulmonary bypass (CPB). Plasma was obtained at different time-points before surgery (pre-SX), during CPB (15' CPB, 60' CPB), and after CPB (post-CPB), and incubated with neutrophil elastase (NE). Thereafter, samples were heated under reducing conditions and separated by SDS polyacrylamide (10%) gel electrophoresis along with molecular mass marker proteins and stained with Brilliant Blue. In addition, Western blots of the same samples were probed with polyclonal antibodies that specifically detect AAT (Bethyl laboratories). Immunopositive bands with an apparent molecular mass of about 52 kDa correspond to AAT, bands with a mass of about 77 kDa correspond to AAT/NE complexes and bands with a mass of about 48 kDa to cleaved AAT.

polyclonal antibodies directed to AAT (Fig. 3). Complexes of AAT and neutrophil elastase formed at all time points, indicating that AAT is active before, during and after CPB (Fig. 3). The bands at an apparent molecular mass of about 67 kDa seen in all Brilliant Blue-stained gels most probably correspond to contaminations with serum albumin.

4. Discussion

In the present pilot study, we neither found a marked reduction of the inhibitory function of purified patient AAT on the BzATP-induced release of monocytic IL-1 β nor an impairment of its anti-protease function.

We recently described a mechanism by which AAT inhibits the ATP-induced release of IL-1 β by human monocytes [40]. As this mechanism

might be impaired in response to heart surgery involving CPB and result in an increased risk for the development of postoperative systemic inflammation, the effect of purified CPB patient AAT was tested on LPS-primed U937 stimulated with BzATP. The patient AAT investigated was efficiently purified by affinity chromatography, both regarding purity and yield. In line with our previous results, patient AAT obtained before, during and after surgery, dose-dependently and efficiently inhibited the ATP-induced IL-1 β release by LPS-primed human monocytic U937 cells *in vitro*. IC₅₀ values seemed to be significantly higher 60 min after starting CPB ($p = 0.003$, $n = 5$) and after terminating CPB ($p = 0.01$, $n = 5$) compared to preoperative values. However, as fitting equations cannot always be reliably used, when low n -numbers are investigated, these results should be interpreted with care. As patient AAT levels most probably did not drop below 0.5 mg/ml, a

concentration that strongly inhibited IL-1 β release *in vitro*, the biomedical relevance of this finding is unclear.

To test for its anti-protease function, CPB patient AAT was incubated with neutrophil elastase followed by SDS-PAGE in combination with protein staining and Western blotting. In all AAT preparations covalent AAT/neutrophil elastase complexes were detected, suggesting that most of the anti-protease function of AAT is preserved during heart surgery involving CPB. These results obtained in the Giessen laboratory were confirmed in a separate laboratory in Hannover using slightly different protocols (not shown). In the same line, no changes in AAT complexes were detected by native gel electrophoresis (not shown). In contrast to our results, AAT complexed with neutrophil elastase was reported to increase strongly between the end of CPB and 240 min after surgery [47], a period of time that was not investigated in our study.

This preliminary study has numerous limitations that should be taken into consideration. Among the known anti-inflammatory effects of AAT, we only investigated the inhibition of the ATP-induced release of monocytic IL-1 β , a mechanism that we deem to be of eminent relevance in the context of CPB and major surgery in general. The patient number is low and this study mainly encompasses the “early” (15 and 60 min after starting CPB) and only the very beginning of the “late” phase (15 min after CPB) of the inflammatory response to CPB. During the “early” phase, inflammation is mainly triggered by the contact of the blood with the foreign surfaces of the CPB machine and surgical trauma that is expected to release ATP to the extracellular space, whereas the late phase is dominated by ischemia-reperfusion injury (IRI) and endotoxemia [48]. We assume that 15 min after the termination of CPB the pathogenesis of IRI is only initiated and endotoxemia is expected to play at best a minor role. None of the patients included in this study developed a systemic inflammation or sepsis, but it would be very interesting to investigate if AAT from patients suffering from severe post-operative inflammation differ from those with a favorable outcome. Finally, we do not know if the observed effects are mainly due to heart surgery, due to CPB or to a combination thereof. In the light of these limitations, the study should be regarded as a preliminary study and future studies on larger cohorts and more post-operative time points are warranted.

We conclude that heart surgery involving CPB does neither markedly reduce the activity of AAT inhibiting ATP-mediated IL-1 β release, nor the anti-protease activity of patient AAT. The question if AAT augmentation therapy during heart surgery involving CPB is suited to attenuate postoperative inflammation deserves further studies *in vivo*.

CRedit authorship contribution statement

A. Agné: Validation, Formal analysis, Investigation, Writing - review & editing, Visualization. **K. Richter:** Supervision, Writing - review & editing. **S. Tumpara:** Investigation, Validation. **A.-L. Sauer:** Investigation. **F. Beckert:** Investigation. **S. Wrenger:** Investigation, Validation, Methodology, Formal analysis. **A. Zakrzewicz:** Supervision, Validation. **A. Hecker:** Resources. **M. Markmann:** Formal analysis, Visualization. **C. Koch:** Supervision, Resources, Writing - review & editing. **T. Zajonz:** Supervision, Resources. **M. Sander:** Resources. **A. Böning:** Resources. **W. Padberg:** Conceptualization, Resources. **S. Janciauskiene:** Conceptualization, Methodology, Resources, Writing - review & editing, Supervision. **V. Grau:** Conceptualization, Methodology, Resources, Writing - original draft, Formal analysis, Supervision, Funding acquisition, Project administration.

Declaration of Competing Interest

The authors declared that there is no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors thank Sigrid Wilker, Sabine Stumpf and Kathrin Petri

(Department of General and Thoracic Surgery, Laboratory of Experimental Surgery, Justus-Liebig-University Giessen) for excellent technical support as well as Sandeep Salipalli (Hannover Medical School, Hannover, Germany) for teaching the method of AAT purification. V.G. (82DZL005A1) and S.J. (82DZL002A1) were funded by grants from the German Center for Lung Research (DZL).

References

- [1] J.R.S. Day, K.M. Taylor, The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass, *Int. J. Surg. (Lond. England)* 3 (2) (2005) 129–140.
- [2] R. Prondzinsky, A. Knüpfer, H. Loppnow, et al., Surgical trauma affects the proinflammatory status after cardiac surgery to a higher degree than cardiopulmonary bypass, *J. Thoracic Cardiovasc. Surg.* 129 (4) (2005) 760–766.
- [3] O.J. Warren, A.L. Watret, K.L. de Wit, et al., The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: part 2—anti-inflammatory therapeutic strategies, *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 23 (3) (2009) 384–393.
- [4] R.M. Roumen, T. Hendriks, J. van der Ven-Jongekrijg, et al., Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure, *Ann. Surg.* 218 (6) (1993) 769–776.
- [5] R.C. Landis, J.R. Brown, D. Fitzgerald, et al., Attenuating the systemic inflammatory response to adult cardiopulmonary bypass: a critical review of the evidence base, *J. Extra-corporeal Technol.* 46 (3) (2014) 197–211.
- [6] J.E. Millar, J.P. Fanning, C.I. McDonald, et al., The inflammatory response to extracorporeal membrane oxygenation (ECMO): a review of the pathophysiology, *Critical Care (Lond. England)* 20 (1) (2016) 387.
- [7] S. Currelo, C. Ceconi, F. de Gili, et al., Oxidative stress during reperfusion of human hearts: potential sources of oxygen free radicals, *Cardiovasc. Res.* 29 (1) (1995) 118–125.
- [8] M. Zakkar, R. Ascione, A.F. James, et al., Inflammation, oxidative stress and post-operative atrial fibrillation in cardiac surgery, *Pharmacol. Ther.* 154 (2015) 13–20.
- [9] A.-H. Kiessling, F.W. Guo, Y. Gokdemir, et al., The influence of selective pulmonary perfusion on the inflammatory response and clinical outcome of patients with chronic obstructive pulmonary disease undergoing cardiopulmonary bypass, *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 18 (6) (2014) 732–739.
- [10] P. Stassano, L. Di Tommaso, M. Monaco, et al., Myocardial revascularization by left ventricular assisted beating heart is associated with reduced systemic inflammatory response, *Ann. Thorac. Surg.* 87 (1) (2009) 46–52.
- [11] U. Boeken, P. Feindt, H.D. Schulte, et al., Elastase release following myocardial ischemia during extracorporeal circulation (ECC) – marker of ongoing systemic inflammation? *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 50 (3) (2002) 136–140.
- [12] O.M. Frass, F. Buhling, M. Tager, et al., Antioxidant and antiprotease status in peripheral blood and BAL fluid after cardiopulmonary bypass, *Chest* 120 (5) (2001) 1599–1608.
- [13] P. Jönsson, Cardiopulmonary bypass causes release of leukocyte proteinase-3, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 56 (8) (1996) 721–723.
- [14] M. H. Bernardi, H. Rinoesl, K. Dragosits et al., “Effect of hemoabsorption during cardiopulmonary bypass surgery - a blinded, randomized, controlled pilot study using a novel adsorbent,” *Critical care (London, England)*, vol. 20, p. 96, 2016.
- [15] Z. Zhang, Y. Wu, Y. Zhao, et al., Dynamic changes in HMGB1 levels correlate with inflammatory responses during cardiopulmonary bypass, *Experimen. Therapeut. Med.* 5 (5) (2013) 1523–1527.
- [16] A. Sablotzki, I. Friedrich, J. Mühling, et al., The systemic inflammatory response syndrome following cardiac surgery: different expression of proinflammatory cytokines and procalcitonin in patients with and without multiorgan dysfunctions, *Perfusion* 17 (2) (2002) 103–109.
- [17] N. Hayashida, H. Tomoeda, T. Oda, et al., Inhibitory effect of milrinone on cytokine production after cardiopulmonary bypass, *Ann. Thorac. Surg.* 68 (5) (1999) 1661–1667.
- [18] M. Tsuchida, H. Watanabe, T. Watanabe, et al., Effect of cardiopulmonary bypass on cytokine release and adhesion molecule expression in alveolar macrophages. Preliminary report in six cases, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156 (3 Pt 1) (1997) 932–938.
- [19] C.A. Dinarello, Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome, *JAMA: J. Am. Med. Assoc.* 269 (14) (1993) 1829.
- [20] W. Schulte, J. Bernhagen, R. Bucala, Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets—an updated view, *Mediators Inflamm.* 2013 (2013) 165974.
- [21] F. Martinon, A. Mayor, J. Tschopp, The inflammasomes: guardians of the body, *Annu. Rev. Immunol.* 27 (2009) 229–265.
- [22] C. Cekic, J. Linden, Purinergic regulation of the immune system, *Nat. Rev. Immunol.* 16 (3) (2016) 177–192.
- [23] C.A. Dinarello, Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family, *Annu. Rev. Immunol.* 27 (2009) 519–550.
- [24] R.H.P. Law, Q. Zhang, S. McGowan, et al., An overview of the serpin superfamily, *Genome Biol.* 7 (5) (2006) 216.
- [25] S.M. Janciauskiene, R. Bals, R. Koczulla, et al., The discovery of α 1-antitrypsin and its role in health and disease, *Respir. Med.* 105 (8) (2011) 1129–1139.
- [26] S. Janciauskiene, Acute phase proteins, *InTech, Croatia*, 2013.
- [27] S. Janciauskiene, S. Wrenger, S. Immenschuh, et al., The multifaceted effects of α 1-antitrypsin on neutrophil functions, *Front. Pharmacol.* 9 (2018) 341.
- [28] J.A. Huntington, R.J. Read, R.W. Carrell, Structure of a serpin-protease complex

- shows inhibition by deformation, *Nature* 407 (6806) (2000) 923–926.
- [29] M.R. Ehlers, Immune-modulating effects of alpha-1 antitrypsin, *Biol. Chem.* 395 (10) (2014) 1187–1193.
 - [30] F. Moraga, S. Janciauskiene, Activation of primary human monocytes by the oxidized form of alpha1-antitrypsin, *J. Biol. Chem.* 275 (11) (2000) 7693–7700.
 - [31] A.M. Cantin, D.E. Woods, Aerosolized prolactin suppresses bacterial proliferation in a model of chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160 (4) (1999) 1130–1135.
 - [32] C. Libert, W. van Molle, P. Brouckaert et al., Alpha1-Antitrypsin inhibits the lethal response to TNF in mice, *J. Immunol. (Baltimore, Md. : 1950)*, vol. 157, no. 11, pp. 5126–5129, 1996.
 - [33] A.M. Marcondes, E. Karopongse, M. Lesnikova, et al., α -1-Antitrypsin (AAT)-modified donor cells suppress GVHD but enhance the GVL effect: a role for mitochondrial bioenergetics, *Blood* 124 (18) (2014) 2881–2891.
 - [34] J. Götzfried, N.F. Smirnova, C. Morrone, et al., Preservation with α 1-antitrypsin improves primary graft function of murine lung transplants, *J. Heart Lung Transplant. : Offic. Publ. Int. Soc. Heart Transplant.* 37 (8) (2018) 1021–1028.
 - [35] S. Janciauskiene, S. Larsson, P. Larsson, et al., Inhibition of lipopolysaccharide-mediated human monocyte activation, in vitro, by alpha1-antitrypsin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 321 (3) (2004) 592–600.
 - [36] I. Nita, C. Hollander, U. Westin, et al., Prolactin, a pharmaceutical preparation of purified human alpha1-antitrypsin, blocks endotoxin-mediated cytokine release, *Respir. Res.* 6 (2005) 12.
 - [37] M. Al-Omari, E. Korenbaum, M. Ballmaier et al., Acute-phase protein alpha1-antitrypsin inhibits neutrophil calpain I and induces random migration, *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, vol. 17, 9–10, pp. 865–874, 2011.
 - [38] D.A. Bergin, E.P. Reeves, P. Meleady, et al., α -1 Antitrypsin regulates human neutrophil chemotaxis induced by soluble immune complexes and IL-8, *J. Clin. Investig.* 120 (12) (2010) 4236–4250.
 - [39] S.M. Janciauskiene, I.M. Nita, T. Stevens, Alpha1-antitrypsin, old dog, new tricks. Alpha1-antitrypsin exerts in vitro anti-inflammatory activity in human monocytes by elevating cAMP, *J. Biol. Chem.* 282 (12) (2007) 8573–8582.
 - [40] K. Siebers, B. Fink, A. Zakrzewicz, et al., Alpha-1 Antitrypsin Inhibits ATP-Mediated Release of Interleukin-1beta via CD36 and Nicotinic Acetylcholine Receptors, *Front. Immunol.* 9 (2018) 877.
 - [41] A. Hecker, M. Kullmar, S. Wilker, et al., Phosphocholine-modified macromolecules and canonical nicotinic agonists inhibit ATP-induced IL-1beta release, *J. Immunol. (Baltimore, Md. 1950)* 195 (5) (2015,) 2325–2334.
 - [42] S. Backhaus, A. Zakrzewicz, K. Richter, et al., Surfactant inhibits ATP-induced release of interleukin-1 β via nicotinic acetylcholine receptors, *J. Lipid Res.* 58 (6) (2017) 1055–1066.
 - [43] A.-L. Amati, A. Zakrzewicz, R. Siebers, et al., Chemokines (CCL3, CCL4, and CCL5) Inhibit ATP-Induced Release of IL-1 β by Monocytic Cells, *Mediators Inflamm.* 2017 (2017) 1434872.
 - [44] A. Zakrzewicz, K. Richter, A. Agné, et al., Canonical and novel non-canonical cholinergic agonists inhibit ATP-induced release of monocytic interleukin-1 β via different combinations of nicotinic acetylcholine receptor subunits α 7, α 9 and α 10, *Front. Cell. Neurosci.* 11 (2017) 189.
 - [45] S. D. Hiller, S. Heldmann, K. Richter et al., “ β -Nicotinamide Adenine Dinucleotide (β -NAD) Inhibits ATP-Dependent IL-1 β Release from Human Monocytic Cells,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 4, 2018.
 - [46] K. Richter, S. Sagawe, A. Hecker, et al., C-Reactive protein stimulates nicotinic acetylcholine receptors to control atp-mediated monocytic inflammasome activation, *Front. Immunol.* 9 (2018) 1604.
 - [47] S. Antonsen, I. Brandslund, S. Clemensen, et al., Neutrophil lysosomal enzyme release and complement activation during cardiopulmonary bypass, *Scand. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 21 (1) (1987) 47–52.
 - [48] O.J. Warren, A.J. Smith, C. Alexiou, et al., The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: part 1—mechanisms of pathogenesis, *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 23 (2) (2009) 223–231.



Article

Potentials of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Alterations in On-Pump Coronary Artery Bypass Surgery in Postoperative Delirium: An Observational Trial

Thomas S. Zajonz ^{1,*}, Christian Kunzemann ¹, Anna Lena Schreiner ¹, Frauke Beckert ¹, Emmanuel Schneck ¹, Andreas Boening ², Melanie Markmann ¹, Michael Sander ¹ and Christian Koch ¹

¹ Department of Anesthesiology, Operative Intensive Care Medicine and Pain Therapy, University Hospital of Giessen and Marburg, Justus Liebig University of Giessen, 35392 Giessen, Germany; christian.kunzemann@chiru.med.uni-giessen.de (C.K.); anna-; frauke.beckert@chiru.med.uni-giessen.de (F.B.); emmanuel.schneck@chiru.med.uni-giessen.de (E.S.); melanie.markmann@chiru.med.uni-giessen.de (M.M.); michael.sander@chiru.med.uni-giessen.de (M.S.); christian.koch@chiru.med.uni-giessen.de (C.K.)

² Department of Cardiac and Vascular Surgery, University Hospital of Giessen and Marburg, Justus Liebig University of Giessen, 35392 Giessen, Germany; andreas.boening@chiru.med.uni-giessen.de

* Correspondence: thomas.zajonz@chiru.med.uni-giessen.de; Tel.: +49-64198544401

Abstract: Cardiac surgery is regularly associated with postoperative delirium (POD), affected by neuro-inflammation and changes in cholinergic activity. Therefore, this prospective observational study aimed to evaluate whether pre- and perioperative changes in blood acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) activity were associated with POD development in patients undergoing isolated elective coronary artery bypass graft (CABG) surgery. It included 93 patients. Pre- and postoperative blood AChE and BChE activities were measured with photometric rapid-point-of-care-testing. The Intensive Care Delirium Screening Checklist and the Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit were used to screen patients for POD. POD developed in 20 patients (21.5%), who were older ($p = 0.003$), had higher EuroSCOREs ($p \leq 0.001$), and had longer intensive care unit stays ($p < 0.001$). On postoperative day one, BChE activity decreased from preoperative values more in patients with (31.9%) than without (23.7%) POD (group difference $p = 0.002$). Applying a cutoff of $\geq 32.0\%$ for BChE activity changes, receiver operating characteristic analysis demonstrated a moderate prediction capability for POD (area under the curve = 0.72, $p = 0.002$). The risk of developing POD was 4.31 times higher with a BChE activity change of $\geq 32.0\%$ ($p = 0.010$). Monitoring the pre- to postoperative reduction in BChE activity might be a clinically practicable biomarker for detecting patients at risk of developing POD after CABG surgery.

Keywords: intensive care; postoperative delirium; cardiac surgery; preoperative patient evaluation and improvement; cardiopulmonary bypass; postoperative care



Citation: Zajonz, T.S.; Kunzemann, C.; Schreiner, A.L.; Beckert, F.; Schneck, E.; Boening, A.; Markmann, M.; Sander, M.; Koch, C. Potentials of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Alterations in On-Pump Coronary Artery Bypass Surgery in Postoperative Delirium: An Observational Trial. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 5245. <https://doi.org/10.3390/jcm12165245>

Academic Editor: Antonio Miceli

Received: 23 June 2023

Revised: 31 July 2023

Accepted: 9 August 2023

Published: 11 August 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Delirium represents an acute and fluctuating disturbance of cerebral function associated with changes in consciousness and attention. It may be classified according to various features, such as predominant motor activity (hypoactive, hyperactive, or mixed) or etiology (hypoxia, sepsis, sedative exposure, or metabolic dysfunction) [1]. It increases morbidity and mortality, considerably impacting public health costs [2,3].

Postoperative delirium (POD) is common in cardiac surgery: its incidence approaches 40%, increasing with age [2,4].

The POD diagnosis is still confirmed by clinical tests without predictive potential [5,6]. POD development after cardiac surgery is influenced by patient factors, including age, mental health, and neurological status, and procedural factors, such as surgical trauma, extracorporeal circulation duration, and anesthetic management, resulting in neurotransmitter dysregulation and cerebral network dysconnectivity [2,4,7–10].

The neuronal and non-neuronal cholinergic system is pivotal in neurological and immunological signal transduction in the bidirectional communication between central and peripheral neuronal circuits, immune cells and cytokines, neuro-endocrine hormonal systems, and gut microbiota and their metabolites [11]. The high density of cholinergic synapses in the thalamus, striatum, limbic system, and neocortex suggests that cholinergic transmission is likely critically important for consciousness, memory, learning, attention, and other higher brain functions [12]. Based on the bi-directional cross-talk between the central nervous system and peripheral neuronal circuits, cholinergic homeostasis can be disturbed by immunologic and inflammatory stressors in the context of surgical interventions.

Changes in the cholinergic system, its activity, and POD development have been demonstrated in various settings, including cardiac surgery [13–18]. However, those results are inconsistent regarding the importance of the two primary investigated CHE subtypes—acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE)—and the influence of preoperative and perioperative activity patterns on POD development.

For example, John et al. [13] found no difference in AChE and BChE activity in cardio-surgical patients with or without POD, while Adam et al. [17] promoted the theory that the cholinergic deficit hypothesis may be of importance for POD development. However, it should be noted that both studies examined non-uniform surgical intervention groups.

This study aimed to examine whether pre- and perioperative changes in blood AChE and BChE activity were associated with POD in a patient group with a uniform surgical intervention. We examined a prolonged analysis period until the seventh postoperative day. Furthermore, we aimed to identify potential cofactors affecting POD after isolated CABG surgery.

2. Materials and Methods

This observational trial included 100 patients at the University Hospital of Giessen and was registered in the German Clinical Trials Register (trial registration: DRKS00010959). Local ethics committee approval was obtained (Justus-Liebig-University Giessen, Giessen, Germany; approval number AZ: 30/16). Written informed consent was obtained from all patients. The study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki [19]. The methods and results are presented according to the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) guidelines [20].

2.1. Subjects

Patients were enrolled between September 2016 and January 2020. All patients underwent elective CABG surgery and postoperative care in the intensive care unit (ICU). Inclusion criteria were age ≥ 18 years, elective on-pump CABG surgery, and the ability to communicate in German or English. Exclusion criteria included: missing consent, denial of participation, pregnancy, preoperative atrial fibrillation, severe bradycardia (< 60 bpm; types: sinus bradycardia, atrial fibrillation with low frequency, nodal rhythm, and second- or third-degree atrioventricular block), acute infection before surgery, pre-existing autoimmune disease, immunomodulatory medication, left ventricular ejection fraction $< 30\%$, and renal insufficiency (Kidney Disease Improving Global Outcome score > 2). We also excluded patients with pseudocholinesterase deficiency, preoperative delirium (screened using the Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit [CAM-ICU] and/or Intensive Care Delirium Screening Checklist [ICDSC]), cognitive dysfunction (e.g., history of schizophrenia, other severe psychiatric conditions, or dementia with inability to answer the CAM-ICU or ICDSC in an adequate manner), and recent or persistent neurologic impairment (e.g., acute cerebral infarction, intracranial bleeding, or acute meningitis in the last three months prior to study inclusion leading to an inability to answer the CAM-ICU or ICDSC).

2.2. Preoperative Assessment

Each patient was initially examined the evening before surgery. A questionnaire-based history was obtained to survey somatic (age, sex, weight, and body mass index) and medical (comorbidities including atrial fibrillation, chronic obstructive pulmonary disease [COPD], and diabetes mellitus type II; American Society of Anesthesiologists [ASA] physical status; New York Heart Association classification; and smoking habits, alcohol consumption, drug abuse, and medication addiction) factors. The Euroscore was calculated with the help of the EuroSCORE calculator provided by the Royal Papworth Hospital [21]. The initial examination comprised screening for delirium using the ICDSC and CAM-ICU.

2.3. Quantification of AChE and BChE

A preoperative baseline analysis of AChE and BChE activities was performed immediately after the clinical examination and peripheral intravenous line placement, as well as the consecutive seven postoperative days. Whole blood samples (10 µL) were drawn from this peripheral intravenous catheter and analyzed using the ChE Check Mobile System (Securetec Detektions-Systeme AG, Neubiberg, Germany). Analysis of AChE and BChE activity was performed by following the procedural steps according to manufacturer instructions (for detailed description, see [22,23]). The other laboratory data were derived from clinical routine laboratory blood sampling.

2.4. Intraoperative Assessment

The following data were recorded: duration of anesthesia, ventilation, surgery, cardiopulmonary bypass (CPB), and aortic cross-clamping; anesthesia method; drugs used; and transfusions.

2.5. Postoperative Assessment

All patients were transferred to the ICU under mechanical ventilation. Then, a resident with experience using the applied delirium screening tests and the ChE activity analyzer performed the following examinations. After extubation, POD development was monitored for seven days using the ICDSC and CAM-ICU. A patient with a positive result with either instrument was considered to have POD. Testing for POD was performed on postoperative days 1–7. An investigator performed all examinations to rule out bias under the supervision of the principal investigator and the attending intensive care physicians. They based their assessment on the ICD-10 criteria [24]. Sedation status was examined using the Richmond Agitation-Sedation Scale: patients with a score ≤ -2 were excluded from testing and reevaluated after four hours. After POD testing was completed, AChE and BChE activities were analyzed identically to preoperative sampling. Postoperative pain was routinely measured using the Visual Analog Scale at every observation point. Other recorded data included duration of mechanical ventilation, length of ICU and hospital stay, in-hospital mortality, and blood transfusion; the other laboratory data were derived from clinical routine laboratory blood sampling (alkaline phosphatase [ALP, range 40–130 U/L], alanine transaminase [ALT, normal range 10–50 U/L], C-reactive protein [CRP, normal range <0.5 mg/L], gamma-glutamyltransferase [GGT, 10–66 U/L], hemoglobin A1c [HBA1c, normal range <5.6%], glucose [normal range 60–110 mg/dL], hemoglobin [normal range 13.5–17.2 g/dL], thrombocytes [normal range 150–370 G/L], erythrocytes [normal range 4.3–5.8 G/L], hematocrit [normal range 0.39–0.51%], and mean corpuscular hemoglobin concentration [normal range 27–33.5 G/L]).

2.6. Statistical Analysis

Data were entered into an Excel database (Microsoft, Redmond, WA, USA) and mean, standard deviation, median, and IQR were subsequently calculated for POD+/POD-. Data distribution was evaluated with the Shapiro-Wilk's test. Differences between groups were compared by Student's *t*-test or Wilcoxon test according to normal distribution for numerical data and by Fisher's exact test for categorical data. Postoperative BChE and AChE activity

measurements are expressed as percentages relative to the preoperative values (set as 100%). Differences in absolute BChE and AChE activities were compared between groups using analyses of variance with post hoc Tukey's honestly significant difference tests. The true positive (TPR; sensitivity) and false positive (FPR = 1–TPR; specificity) rates with different cutoffs for the decrease in BChE activity were plotted as a receiver operating characteristic (ROC) curve, where each point represents a sensitivity/specificity pair corresponding to a particular cutoff. The threshold value was determined by optimal Youden index. ROC analysis was performed to calculate diagnostic accuracy using the ROCit package (version 2.1.1, R Core Team, <https://www.r-project.org/>, accessed on 16 June 2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) in R. A $p < 0.05$ was considered statistically significant. Logistic regression analysis was used to infer the significance of influence of BCHE and AChE levels with occurrence of POD and, subsequently, Fisher test was used to examine the different distribution of BCHE values that dropped below certain thresholds among the POD– and POD+ group. ORs were retrieved from Fisher Test analysis. All analyses were performed using R Statistical Software (version 4.0.4; R Core Team 21, <https://www.r-project.org/>, accessed on 16 June 2023).

3. Results

3.1. Patient Sample

After assessing 100 patients for study eligibility, 3 were excluded because of pre-existing delirium, and 4 declined to participate. Therefore, 93 patients were included for analysis.

3.2. Baseline Characteristics

All patients received balanced anesthesia with propofol/etomidate, pancuronium, sufentanil, and sevoflurane/isoflurane. Most participants were male (87.1%). Eight patients (8.6%) had a history of cerebral infarction without persistent neurological impairment. Five patients had a history of psychiatric disorder (5.4% depression, post-traumatic stress disorder, or obsessive–compulsive disorder). No drug or medication abuse was reported. Thirty-one patients (33.3%) reported regular alcohol consumption. ASA physical status classification was III or IV in 92.5% of patients.

3.3. Incidence of Delirium

POD developed in 20 patients (21.5%). CAM-ICU and ICDSC results were consistent in 94.6% of patients. In five patients (5.4%), CAM-ICU differed from the ICDSC results. In these cases, the attending intensivist diagnosed or ruled out POD based on ICD-10 classification. POD developed primarily on the first postoperative day (Figure 1).

3.4. Intergroup Differences

3.4.1. Preoperative Variables

Patients who developed POD (POD+) were significantly older ($p = 0.003$) and had a higher EuroSCORE ($p < 0.001$) than those without POD (POD–). The proportion of patients with type II diabetes mellitus was significantly higher in the POD+ than in the POD– group ($p = 0.008$). HbA1c ($p = 0.003$) and blood glucose ($p = 0.039$) levels were significantly higher in the POD+ than in the POD– group. Group-wise patient characteristics are shown in Table 1. Other blood parameters did not differ significantly in the POD+ and POD– group (Table 2).

Table 1. Group-wise baseline patient characteristics.

Characteristic	POD+ (n = 20)	POD− (n = 73)	p-Value
Age (years)	71.5 (63.8–76.3)	64 (56–71)	0.003
Female sex	3 (15.0)	9 (12.3)	0.717
Body mass index (kg/m ²)	28.9 (25.7–32.4)	29.4 (27–32.1)	0.581
Atrial fibrillation	3 (15.0)	19 (26.0)	0.385
COPD	5 (25.0)	6 (8.2)	0.054
DM II	13 (65.0)	22 (30.1)	0.008
EuroSCORE	1.4 (1.2–1.8)	0.9 (0.7–1.2)	<0.001
ASA-PSCS			
II	0	7 (9.6)	-
III	19 (95.0)	57 (78.1)	-
IV	1 (5.0)	9 (12.3)	-

Values are presented as medians with interquartile ranges or numbers with percentages. Key: POD, postoperative delirium; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; DM II, diabetes mellitus type II; ASA-PSCS, American Society of Anesthesiologists Physical Status Classification System, roman numerals represent a graduation for the risk classification of surgical patients (increasing from I to IV).

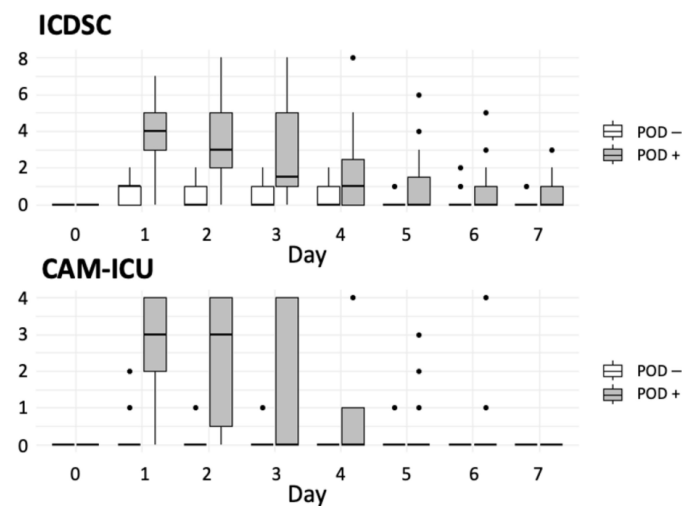


Figure 1. Chart demonstrating the recorded points of the used screening tools at the study time points. Abbreviations: CAM-ICU, confusion assessment method-intensive care unit; ICDSC, intensive care delirium screening checklist; POD, postoperative delirium.

3.4.2. Intraoperative Variables

Intraoperative hemoglobin ($p = 0.016$), thrombocyte count ($p = 0.042$), and GGT level ($p = 0.018$) were significantly lower in the POD+ than in the POD− group (Table 2). CPB ($p < 0.001$), aortic cross-clamping ($p = 0.011$), and intraoperative ventilation ($p < 0.001$) durations were significantly longer in the POD+ than in the POD− group. The anesthesia and surgery durations did not differ significantly between the groups (Table 3).

Table 2. Group-wise perioperative laboratory findings.

Characteristic	POD+	POD−	p-Values
Preoperative			
ALT (U/L)	21 (17.0–32.5)	25.5 (17.75–43.0)	0.289
GGT (U/L)	26.5 (19.0–39.5)	34.0 (25.0–48.25)	0.161
HbA1c (%)	6.5 (6.0–7.0)	5.8 (5.5–6.4)	0.003
Glucose (mg/dL)	164 (154.0–199.0)	102.5 (92.3–126.5)	0.039
Intraoperative			
Hb (g/dL)	10.0 (9.3–11.2)	11.1 (10.0–12.2)	0.016
Thrombocytes ($\times 10^6$ /L)	157.5 (106.0–167.0)	169 (140.25–205.5)	0.042
GGT (U/L)	13 (10.8–21.3)	12 (16.5–34.0)	0.018
Postoperative			
Hb (g/dL)	97.5 (89.5–104.5)	109 (97.0–117.0)	0.002
Erythrocytes ($\times 10^6$ / μ L)	3.3 (2.9–3.5)	3.6 (3.2–3.9)	0.009
Hematocrit (%)	0.30 (0.26–0.32)	0.32 (0.28–0.34)	0.016
MCHC (g/dL)	336.5 (328.8–339.3)	341 (334.0–347.0)	0.002
Thrombocytes ($\times 10^6$ /L)	173.5 (121.8–196.0)	187.0 (160.0–220.0)	0.015
GGT (U/L)	20 (12.0–28.0)	24.0 (20.5–33.5)	0.076
ALP (U/L)	41 (35.0–44.0)	54.5 (43.5–63.8)	0.009

Values are presented as medians with interquartile ranges or numbers with percentages. Key: POD, postoperative delirium; ALT, alanine aminotransferase; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase; HbA1c, human glycated hemoglobin; Hb, hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin; ALP, alkaline phosphatase; RBC, red blood cell; CPB, cardiopulmonary bypass; LOS-ICU, length of stay in the intensive care unit; LOS-Hospital, length of stay in the hospital.

Table 3. Group-wise surgical and anesthetic characteristics.

Characteristic	POD+ (n = 20)	POD− (n = 73)	p-Values
Surgical and anesthetic characteristics			
CPB-time (min)	107.0 (93.3–117.0)	77.0 (66.8–90.0)	<0.001
Cross-clamp time (min)	71.0 (55.5–80.3)	53.0 (45.0–67.0)	0.011
Anesthesia duration (min)	298.5 (261.0–327.0)	262.0 (245.0–303.0)	0.024
Surgery duration (min)	223.0 (195.8–238.9)	192.5 (164.0–225.0)	0.046
RBC transfusion during observation period (mL)	450.0 (0.0–600.0)	0.0 (0.0–0.0)	<0.001
Ventilation duration (h)	20.8 (17.0–24.2)	12.3 (9.4–16.6)	<0.001
LOS-ICU (d)	2.9 (5.2–7.2)	1.1 (0.9–2.0)	<0.001
LOS-Hospital (d)	11.0 (9.3–13.8)	10.0 (8.0–12.0)	0.125
In-hospital mortality	0	0	-

Values are presented as medians with interquartile ranges or numbers with percentages. Key: CPB, cardiopulmonary bypass; ICU, intensive care unit; LOS, length of stay; POD, postoperative delirium; RBC, red blood cell concentrate.

3.4.3. Postoperative Variables

Erythrocyte count ($p = 0.009$), hemoglobin concentration ($p = 0.002$), mean corpuscular hemoglobin concentration ($p = 0.002$), thrombocyte count ($p = 0.015$), and hematocrit ($p = 0.016$) were significantly lower in the POD+ than in the POD− group. The red blood cell transfusion volume was significantly higher in the POD+ than in the POD− group ($p < 0.001$).

ALP ($p = 0.009$) levels were significantly lower in the POD+ than in the POD− group, whereas GGT levels did not differ significantly ($p = 0.076$). Ventilation duration ($p < 0.001$) and ICU stay length ($p < 0.001$) were significantly longer in the POD+ than in the POD− group (Table 3). The CRP level and leucocyte count did not differ significantly between groups.

3.4.4. AchE and BChE Activity

Preoperative BChE and AChE activities did not differ significantly between the POD+ (BChE = 3158.5 [3018.3–3512.1] U/g Hb; AChE = 42.6 [40.3–47.4] U/g Hb) and POD− (BChE = 3180.9 (2822.9–3472.1) U/g Hb; AChE = 45.1 [42.3–48.3] U/g Hb) groups.

BChE activity decreased significantly from preoperative values in both groups on postoperative day one. BChE activity decreased significantly to 2,189.3 (1917.5–2364.9) U/g Hb in the POD+ group ($p \leq 0.001$; decrease = 31.9%) and 2,312.3 (2093.5–2725.3) U/g Hb in the POD− group ($p \leq 0.001$; decrease = 23.7%). The decrease in BChE activity was significantly more pronounced in the POD+ group than in the POD− group ($p = 0.002$; Figure 2).

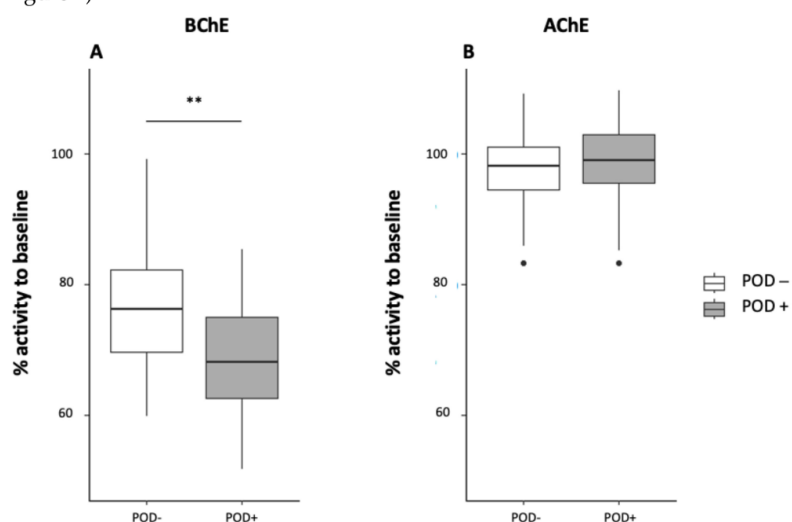


Figure 2. Butyrylcholinesterase (BChE) (A) and acetylcholinesterase (AChE) activity (B) on postoperative day one shown as a percentage of baseline activity measured before surgery. Key: **, $p = 0.002$.

BChE activity was lower in the POD+ than in the POD− group throughout the postoperative period. Averaged across all days, the mean BChE activity was significantly lower in the POD+ group than in the POD− group ($p < 0.001$). The decrease in BChE activity was not synchronized between groups, which reached their lowest levels on different days.

The mean difference in daily mean BChE activity between groups was 187.9 [135.1–201.4] U/g Hb. After surgery, the median BChE activity was consistently below the physiological threshold (2300–7000 U/g Hb) in the POD− group from postoperative day two onwards. The BChE activity nadir in the POD+ and POD− groups occurred on postoperative day four (1745.7 [1576.6–2021.5] and 1935.8 [1726.4–2192.6] U/g Hb, respectively; $p = 0.101$).

The decrease in BChE activity below preoperative activity levels persisted until the end of the observation period in the POD+ (2013.3 [1646.8–2262.9] U/g Hb) and POD− (2157.7 [1869.2–2434.3] U/g Hb) groups (Figure 3A).

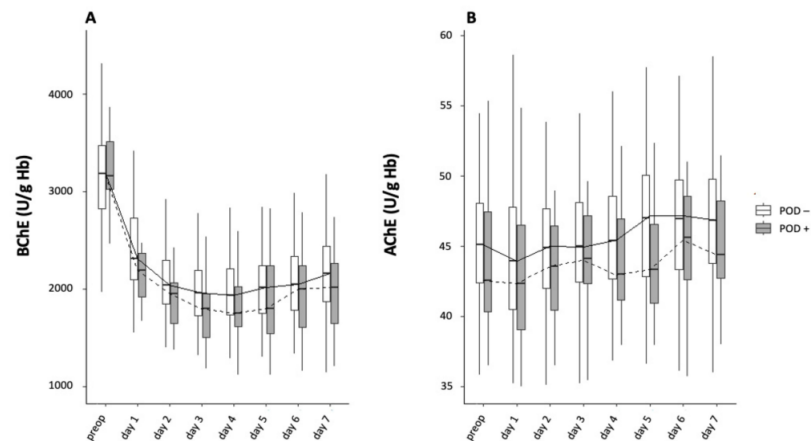


Figure 3. BChE (A) and AChE (B) activity preoperative and on postoperative days 1–7.

In the POD+ group, BChE activity showed a mean maximum decrease of 44% below preoperative levels on postoperative day three, with a consistent decrease in BChE activity of >40% below preoperative levels until day six. In the POD– group, BChE activity reached a minimum level of 38% on postoperative day three before slightly increasing from day four onward.

AChE activity decreased to a nadir on postoperative day one in both the POD+ (42.3 [39.1–46.5] U/g Hb) and POD– (43.9 [40.3–47.9] U/g Hb) groups ($p = 1.000$), then increased on postoperative day two (43.6 [40.4–46.5] and 45.0 [42.0–47.8] U/g Hb, respectively; $p = 1.000$; Figure 3B). At the end of the observation period, AChE activity had surpassed baseline activity in both groups (44.4 [42.7–48.2] and 46.8 [43.7–49.9] U/g Hb, respectively; $p = 1.000$; Figure 3B).

The decrease in BChE activity from preoperative to postoperative day one represents a potential model for predicting POD development. The area under the ROC curve (AUC), a measure of how well this parameter could distinguish between POD+ and POD– patients, was 0.72 ($p = 0.002$; Figure 4), indicating an adequate level of POD prediction.

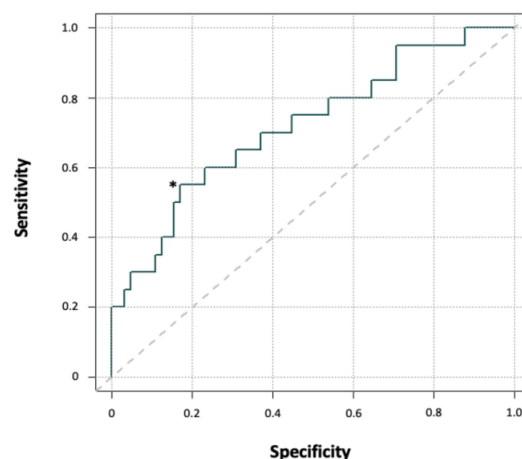


Figure 4. Receiver operating characteristic curve for BChE activity on postoperative day one as a predictor of POD. Key: *, optimal cut-off point that optimizes the differentiating ability when equal weight is given to sensitivity and specificity.

A BChE activity decrease of $\geq 32\%$ was the optimal cutoff for predicting POD (best Youden index = 1.39 with sensitivity = 0.84, specificity = 0.55). The risk of developing POD was 4.31 times higher for patients with a BChE activity decrease of $\geq 32\%$ from preoperative baseline ($p = 0.01$). Further, the relative drop in BChE activity compared to baseline activity was associated with an increased occurrence of POD (Table 4). Analogous to BChE activity, the AUC of the AChE activity drop was calculated, which, however, was non-significant (AUC 0.54, $p = 0.86$). For this reason, an optimal threshold was not determinable.

Table 4. Odd's ratios for the development of POD dependent on the relative drop of butyrylcholinesterase.

Timepoint	Drop to Baseline (%)	Odd 's Ratio	<i>p</i> -Values
Day 1	20	3.89 (0.81–37.62)	0.08
Day 1	25	3.62 (1.10–14.22)	0.02
Day 1	30	3.88 (1.24–12.86)	0.01
Day 1	35	4.66 (1.18–18.77)	0.01
Day 1	40	16.27 (1.48–844.38)	0.01
Day 1	45	N.A.	0.01
Day 2	20	N.A.	0.57
Day 2	25	N.A.	0.03
Day 2	30	2.52 (0.63–14.80)	0.26
Day 2	35	1.90 (0.62–6.32)	0.31
Day 2	40	5.47 (1.71–18.63)	0.002
Day 2	45	5.51 (1.22–26.45)	0.01
Day 3	20	N.A.	1.0
Day 3	25	N.A.	0.33
Day 3	30	2.78 (0.34–129.17)	0.45
Day 3	35	5.90 (1.25–13.11)	0.01
Day 3	40	3.66 (1.15–13.11)	0.02
Day 3	45	3.58 (0.95–13.28)	0.04

Key: N.A., not applicable.

4. Discussion

This study found a significant association between postoperative alterations in BChE activity and POD occurrence. The BChE activity decreased from preoperative baseline values on postoperative day one, and its degree was highly associated with POD development. The mean postoperative BChE activity throughout the study period was significantly lower in POD+ patients than in POD− patients and below physiological thresholds. However, neither preoperative nor postoperative AChE activity was associated with POD occurrence.

The overall incidence of POD in our study was 21.5%, consistent with previous reports [13,15–17]. Previous studies have demonstrated that changes in cholinergic activity patterns are associated with POD occurrence in different scenarios. However, implementing diagnostic biomarkers is often impractical for clinical applications since changes in biomarker patterns occur at different time points and often have no predictive value. Saha et al. [18] presented a promising approach for transferring point-of-care (POC) CHE analysis for POD into clinical practice, investigating the diagnostic value of CHE activity on POD development after mixed cardiac surgery. They identified a postoperative decrease in CHE activity of $>50\%$ as an independent risk factor for POD development, which could easily be applied to stratify patients with an increased POD risk profile. Since Saha et al.

analyzed CHE activity with a laboratory assay instead of a POC measurement in a mixed cardiac surgery cohort, the results cannot be directly compared with those in our study.

This study identified a postoperative decrease in BChE activity from baseline to be strongly predictive of POD development. The most distinctive decrease occurred within the first 24 h after surgery and was significantly greater in the POD+ group than in the POD− group (31.9% vs. 23.7%, $p = 0.002$). A greater postoperative BChE activity decrease was also associated with higher odds of POD in our cohort. Therefore, POC analysis of BChE activity may be a promising marker for the early detection of cardiosurgical patients at risk for POD as a direct, easy-to-apply assay in inpatient treatment without the risk of time- or storage-related measurement errors.

Cholinergic non-neuronal-immune interactions are involved in the endogenous response to sterile and non-sterile inflammation. Changes in CHE subtype activities differ depending on the influencing factor. A rapid decrease in BChE activity was described as a physiological response to sterile inflammation after surgery and trauma, while a delayed decrease in BChE activity was described in response to sepsis [25–27]. In contrast, AChE activity is downregulated as part of the antimicrobial immune response and results in the control of bacterial proliferation [28,29].

Our analysis of AChE activity did not show pronounced changes during the investigation period, and AChE activity remained within reference ranges in both the POD+ and POD− groups. Simultaneously, we observed a comparable postoperative inflammatory response in the POD+ and POD− groups, measured by the leucocyte count, CRP level, and procalcitonin, and no observed sepsis during the study period. These results suggest that non-septic inflammation after CPB does not cause pronounced changes in AChE activity, and a stable postoperative course of AChE activity could be a possible biomarker for excluding acute septic encephalopathy as the cause of POD. These results are supported by Zujalovic et al., who observed decreased AChE activity in septic ICU patients, while non-septic ICU patients, even those with delirium or cognitive impairment, did not show altered AChE activity [30]. They described that the longitudinal measurement of AChE activity over several consecutive days revealed a change from baseline only in septic patients with suspected sepsis-associated encephalopathy (SAE). Therefore, AChE activity was suitable for differentiating SAE from other causes of delirium. AChE activity at the end of the observation period surpassed preoperative baseline values, consistent with the literature [13,17], contradicting a sepsis impact.

In summary, our data indicate that AChE activity is unsuitable for identifying POD in non-septic post-cardiac surgery patients. Other comparable studies reported disparate results. John et al. [13] described stable postoperative AChE activity, while Adam et al. [17] described a significant postoperative decrease associated with POD development. Unlike John et al. and Adam et al., who analyzed cholinergic activity in mixed cardiac surgery, this study analyzed only elective on-pump CABG surgery. Prolonged cross-clamp times and pre-existing variations in the cholinergic system or inflammatory status might have influenced these results.

Cerejeira et al. [15] and Adam et al. [17] described reduced preoperative cholinergic activities in patients developing POD. We observed similar preoperative cholinergic activity in the POD+ and POD− groups that were within physiological thresholds [13]. Preoperative cholinergic activity can be affected by age, malnutrition, physical capacity, inflammatory status, and individual CHE genotype [31,32]. Therefore, identifying specific reasons for preoperative reduced cholinergic activity is difficult. Due to its explorative study design, this analysis cannot offer explanations for its findings. Even though the study cohort was homogenous, conclusions should be drawn with great caution due to several confounders influencing the AChE- and/or BChE-activity, such as the etiology of the pre-existing diseases, the type of performed interventions, and the progress of the clinical conditions. Beyond, studies have so far failed to determine whether changes in the AChE- and/or BChE-activity are causative with the emergence of POD. Based on this, only assumptions can be made for the drop in BChE with simultaneously stable AChE activities.

For a long time, the physiological role of BChE remained unclear, leading to its declaration as an “orphan enzyme”. This assumption was drawn because of the knowledge that genetic mutations eliminating BChE activity do not result in a cognitive dysfunction [33]. In summary, BChE was assumed not to play a relevant role in human physiology; however, recent studies changed this assumption. Besides metabolizing exogenous bioactive esters in the diet or in medicines, BChE regulates ghrelin activity, which is important for the stress response, neural circuitry, substantial inactivation, and unusually high levels of internalization [34,35]. Ghrelin is also involved in the regulation of the psychosocial status, memory, and learning [36].

The affection and modulation of BChE activity and therefore a potential dysregulation of the stress response and neuronal activity might be relevant in the development of POD. On the other hand, until today, the role of AChE in this context is still unknown.

Falling BChE activities with primary stable AChE activities were described in various settings. For example, John et al. analyzed cholinergic activity levels after cardiac surgery with POD. They showed that AChE increased and BChE decreased within the first 3 days after surgery. The authors supposed that the perioperative change in AChE and BChE activity might possibly be explained by an interaction of AChE and BChE and the use of a CPB [13]. Contrary, Michels et al. [37] presented data showing that BChE activity decreased also significantly after transapical aortic valve implantation, an operative procedure without the use of CPB. This finding contradicts the hypothesis that the release of micro-RNAs during CPB is modulating cholinergic homeostasis. Independently of cardiac surgery, micro-RNAs are known to increase AChE activity with a subsequent deterioration in BChE activity [38]. Another explanation might be the way in which AChE and BChE are transported in the blood. While AChE is bound to erythrocytes, BChE is produced in the liver and released into the plasma where the enzyme is dissolved. Since CPB influences both erythrocytes and the plasma volume, it might influence the concentration of both enzymes. Last, the discrepancies in the mentioned studies might also be attributed to different assays for measuring enzyme activities and considerable differences in the study design. In conclusion, our results indicate that intraoperative variables during cardiac surgery affect cholinergic homeostasis rather than preoperative factors.

In our study, POD+ patients were older, had higher EuroSCOREs, and had higher incidences of type II diabetes mellitus and a trend toward COPD. In addition, the POD+ group had prolonged periods of CPB and aortic cross-clamping. Therefore, regional cerebral hypoperfusion and inflammatory activation may have been more common in this group, as described previously [7,10].

The generation of cerebral microembolism during and after CPB might be associated with regional cerebral hypoperfusion [7,39,40], which can derive from gas bubbles, biological aggregates (i.e., coagulated thrombus), or inorganic debris (i.e., disrupted calcified plaques) [41]. The “wash-in” of these small fragments can result in a silent ischemia not resulting in a clinical stroke but in subclinical damage. POD has been discussed as one of the potential consequences of microembolism; however, currently, the scientific community remains undecided on its influence on cognitive impairment after cardiac surgery because most studies were too underpowered to prove a relationship [42–44].

Moreover, the POD+ group had a lower hemoglobin level (anemia) before and during surgery and a higher volume of transfused RBCs. These factors have previously been described as POD risk factors in cardiosurgical patients [13,17,45,46], supporting the validity of the overall data set. Intraoperative blood loss might be a surrogate for surgical complexity, duration, and/or complications that may increase POD risk [47]. The POD+ group had longer ventilation durations and ICU stay lengths, as described in previous studies [2,48]. Unlike other studies [2,13,49,50], we observed no difference in hospital stay length.

Our study had some limitations. It was conducted in a single center and comprised only cardiosurgical patients. CHE deficiency syndromes represent a potential confounder in studies of perioperative cholinergic disturbance. However, their effect is unclear. In addition, while polymorphisms and mutations in AChE and BChE are common in the

general population [51], their impact on BChE and AChE activities after cardiac surgery is unknown. Variations in CHE genotypes in Alzheimer's disease have been associated with differences in disease phenotype [32]. Future studies should consider analyzing these potential confounders. Last, sample size calculation was not feasible because the study displayed a sub-study of a prospective study with different primary study parameters. This study's strengths include examining preoperative baseline CHE activities and using patient questionnaires to determine POD. Moreover, activities were measured at a consistent time every day for seven days after surgery to analyze the temporal development of POD.

We did not analyze the anticholinergic effect of perioperative medications as presented in the Anticholinergic Cognitive Burden Scale [52]. Intraoperative drug administration was standardized and not adapted for this study. It has been previously verified that the applied pharmacological agents do not inhibit cholinergic activity at therapeutic serum concentrations [53,54]. Furthermore, we considered the medication regime in the ICU as not adjustable. Certain medications, even those with an elevated anticholinergic burden, cannot be replaced because alternatives do not exist. Medical therapy was used to optimize individual clinical status.

The prevention of POD, even with the possibility of the early identification of patients with an increased risk profile, represents a complex and challenging task.

According to current international guidelines on the management of POD, the role of the prevention of POD should be emphasized in daily clinical practice.

The hemostasis of cholinesterase plays a significant role in the development of POD, which is also supported by this study. Therefore, its prevention should be addressed carefully. First, anticholinergic medication should be avoided. This includes anesthesia-related drugs (i.e., atropine) but also the patients' daily medications. Particularly, patients receiving a polypharmaceutic regime should be managed with caution regarding their anticholinergic load [54,55]. Second, the benefit of cholinesterase inhibitors can be discussed. Even though this study showed a potential relationship between BChE and the development of POD, it was not able to support the use of cholinesterase inhibitors, which have been described as beneficial by some studies. Contrary, more recent studies, including a meta-analysis, were not able to show a therapeutic effect and one study even resulted in a harming effect induced by rivastigmin [56,57].

Preventive strategies also utilize non-pharmacologic multicomponent initiatives.

One of the most non-pharmacologic consistently effective delirium prevention strategies involves cognitive orientation, social support, sleep protocol implementation, assistance with nutrition and mobilization, and education for health-care staff, and is found in the Hospital Elder Life Program (HELP) [58], significantly reducing delirium incidence, risk of falls, and health-care costs [59].

Further studies should address the interaction of CHE subtypes in septic and sterile inflammation and variations in CHE genotypes. In addition, they should investigate potential alterations in cholinergic receptors responsive to perioperative stress. Future large-scale studies are warranted.

5. Conclusions

After CABG surgery, POD development was associated with an early decrease in BChE but not AChE activity. Intraoperative rather than preoperative factors appear to be the primary interfering factors in cholinergic homeostasis. An early pre- to postoperative BChE reduction analysis may represent a practicable tool in clinical POD risk stratification. Our results support previous findings and foster the current concept of cholinergic disruption and the cholinergic deficit hypothesis in POD development.

Author Contributions: Conceptualization: T.S.Z., C.K. (Christian Koch), and M.S.; methodology: T.S.Z., C.K. (Christian Koch), and M.S.; software: M.M.; validation: T.S.Z., C.K. (Christian Koch), and M.S.; formal analysis: T.S.Z. and M.M.; investigation: T.S.Z., C.K. (Christian Koch), A.L.S., F.B., E.S., and C.K. (Christian Kunzemann); resources: T.S.Z. and C.K. (Christian Koch); data curation: T.S.Z. and M.M.; original draft preparation: T.S.Z., C.K. (Christian Koch), and M.S.; visualization: T.S.Z. and M.M.; supervision: A.B. and M.S.; project administration: T.S.Z., C.K. (Christian Kunzemann), and C.K. (Christian Koch); funding acquisition: T.S.Z., C.K. (Christian Koch), and M.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the State of Hessen, Germany, and the University Hospital of Giessen and Marburg, Hessen, Germany (§2 of the Cooperation Agreement). The funder did not influence the study design, data collection, analysis, publication decision, or manuscript preparation.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the Declaration of Helsinki and approved by the local Ethics Committee of the University of Giessen (Justus-Liebig-University Giessen, Giessen, Germany; approval number AZ: 30/16) for studies involving humans.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The datasets used in this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Acknowledgments: We thank Ilona Magel, Katja Weissmueller, Matthias Wollbrueck, and the entire nursing staff of the Cardiosurgical Department for their continuous support throughout the study period. We thank Securetec and Koehler Chemie for providing the device for measuring acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Wilson, J.E.; Mart, M.F.; Cunningham, C.; Shehabi, Y.; Girard, T.D.; MacLulich, A.M.J.; Slooter, A.J.C.; Ely, E.W. Delirium. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2020**, *6*, 90. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Jones, D.; Matalanis, G.; Mårtensson, J.; Robbins, R.; Shaw, M.; Seevanayagam, S.; Cowie, D.; Bellomo, R. Predictors and Outcomes of Cardiac Surgery-Associated Delirium. A Single Centre Retrospective Cohort Study. *Heart Lung Circ.* **2019**, *28*, 455–463. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Klein Klouwenberg, P.M.C.; Zaal, I.J.; Spitoni, C.; Ong, D.S.Y.; van der Kooij, A.W.; Bonten, M.J.M.; Slooter, A.J.C.; Cremer, O.L. The attributable mortality of delirium in critically ill patients: Prospective cohort study. *BMJ* **2014**, *349*, g6652. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Cereghetti, C.; Siegemund, M.; Schaedelin, S.; Fassl, J.; Seeberger, M.D.; Eckstein, F.S.; Steiner, L.A.; Goettel, N. Independent Predictors of the Duration and Overall Burden of Postoperative Delirium After Cardiac Surgery in Adults: An Observational Cohort Study. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* **2017**, *31*, 1966–1973. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. American Geriatrics Society. Abstracted clinical practice guideline for postoperative delirium in older adults. *J. Am. Geriatr. Soc.* **2015**, *63*, 142–150. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Adamis, D.; Rooney, S.; Meagher, D.; Mulligan, O.; McCarthy, G. A comparison of delirium diagnosis in elderly medical inpatients using the CAM, DRS-R98, DSM-IV and DSM-5 criteria. *Int. Psychogeriatr.* **2015**, *27*, 883–889. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Brown, W.R.; Moody, D.M.; Challa, V.R.; Stump, D.A.; Hammon, J.W. Longer duration of cardiopulmonary bypass is associated with greater numbers of cerebral microemboli. *Stroke* **2000**, *31*, 707–713. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Zaal, I.J.; Devlin, J.W.; Peelen, L.M.; Slooter, A.J.C. A systematic review of risk factors for delirium in the ICU. *Crit. Care Med.* **2015**, *43*, 40–47. [\[CrossRef\]](#)
9. An, Y.-S.; Jin, Y.; Jin, T.; Hur, E.Y.; Lee, S.-M. Operative and anaesthetic factors influencing on delirium in the intensive care unit: An Analysis of electronic health records. *J. Clin. Nurs.* **2019**, *28*, 1327–1335. [\[CrossRef\]](#)
10. Maldonado, J.R. Delirium pathophysiology: An updated hypothesis of the etiology of acute brain failure. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **2018**, *33*, 1428–1457. [\[CrossRef\]](#)
11. Karmakar, S.; Lal, G. Role of serotonin receptor signaling in cancer cells and anti-tumor immunity. *Theranostics* **2021**, *11*, 5296–5312. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Hampel, H.; Mesulam, M.-M.; Cuello, A.C.; Farlow, M.R.; Giacobini, E.; Grossberg, G.T.; Khachaturian, A.S.; Vergallo, A.; Cavedo, E.; Snyder, P.J.; et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain* **2018**, *141*, 1917–1933. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. John, M.; Ely, E.W.; Halfkann, D.; Schoen, J.; Sedemund-Adib, B.; Klotz, S.; Radtke, F.; Stehr, S.; Hueppe, M. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in cardiosurgical patients with postoperative delirium. *J. Intensive Care* **2017**, *5*, 29. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Schmidt, K.; Zivkovic, A.R.; Thiele, M.; Horter, J.; Brenner, T.; Weigand, M.A.; Kleinschmidt, S.; Hofer, S. Point-of-care measured serum cholinesterase activity predicts patient outcome following severe burns. *Burns* **2021**, *47*, 863–872. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

15. Cerejeira, J.; Batista, P.; Nogueira, V.; Firmino, H.; Vaz-Serra, A.; Mukaetova-Ladinska, E.B. Low preoperative plasma cholinesterase activity as a risk marker of postoperative delirium in elderly patients. *Age Ageing* **2011**, *40*, 621–626. [CrossRef] [PubMed]
16. Müller, A.; Olbert, M.; Heymann, A.; Zahn, P.K.; Plaschke, K.; von Dossow, V.; Bitzinger, D.; Barth, E.; Meister, M.; Kranke, P.; et al. Relevance of peripheral cholinesterase activity on postoperative delirium in adult surgical patients (CESARO): A prospective observational cohort study. *Eur. J. Anaesthesiol.* **2019**, *36*, 114–122. [CrossRef] [PubMed]
17. Adam, E.H.; Haas, V.; Lindau, S.; Zacharowski, K.; Scheller, B. Cholinesterase alterations in delirium after cardiac surgery: A German monocentric prospective study. *BMJ Open* **2020**, *10*, e031212. [CrossRef]
18. Saha, S.; Karaca, K.; Jebran, A.F.; Waezi, N.; Ort, K.; Brandes, I.; Hagl, C.; Niehaus, H. Diagnostic Value of Cholinesterase Activity for the Development of Postoperative Delirium after Cardiac Surgery. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* **2021**, *69*, 693–699. [CrossRef]
19. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* **2013**, *310*, 2191–2194. [CrossRef]
20. von Elm, E.; Altman, D.G.; Egger, M.; Pocock, S.J.; Gøtzsche, P.C.; Vandenbroucke, J.P. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: Guidelines for reporting observational studies. *J. Clin. Epidemiol.* **2008**, *61*, 344–349. [CrossRef]
21. Nashef, S.; Ali, J.; Smith, C.; Saxton, D.; Maxine, T.; Tadd, P. The Official Site: EuroSCORE: European System for Cardiac Operative Risk Evaluation. Available online: <https://www.euroscore.org/index.php?id=1> (accessed on 18 July 2023).
22. Worek, F.; Mast, U.; Kiderlen, D.; Diepold, C.; Eyer, P. Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood. *Clin. Chim. Acta* **1999**, *288*, 73–90. [CrossRef]
23. Securetec Detektions-Systeme, A.G. Che Check Mobile: Portable Cholinesterase Testing System. 2013. Available online: https://www.securetec.net/app/uploads/2018/08/Schnelltest-Bestimmung-Cholinesterase_Brochure_ChE_Enzymtest_military_use_70507_v03_EN_Email.pdf (accessed on 22 July 2023).
24. ICD-10-CM: The Complete Official Codebook, 2019th ed.; American Medical Association: Chicago, MI, USA, 2018; ISBN 9781622027736.
25. Zivkovic, A.R.; Bender, J.; Brenner, T.; Hofer, S.; Schmidt, K. Reduced butyrylcholinesterase activity is an early indicator of trauma-induced acute systemic inflammatory response. *J. Inflamm. Res.* **2016**, *9*, 221–230. [CrossRef] [PubMed]
26. Zivkovic, A.R.; Tourelle, K.M.; Brenner, T.; Weigand, M.A.; Hofer, S.; Schmidt, K. Reduced serum cholinesterase activity indicates splenic modulation of the sterile inflammation. *J. Surg. Res.* **2017**, *220*, 275–283. [CrossRef] [PubMed]
27. Bitzinger, D.I.; Gruber, M.; Tümmeler, S.; Malsy, M.; Seyfried, T.; Weber, F.; Redel, A.; Graf, B.M.; Zausig, Y.A. In Vivo Effects of Neostigmine and Physostigmine on Neutrophil Functions and Evaluation of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase as Inflammatory Markers during Experimental Sepsis in Rats. *Mediat. Inflamm.* **2019**, *2019*, 8274903. [CrossRef]
28. Fernandez-Cabezudo, M.J.; Lorke, D.E.; Azimullah, S.; Mechkarska, M.; Hasan, M.Y.; Petroianu, G.A.; al-Ramadi, B.K. Cholinergic stimulation of the immune system protects against lethal infection by Salmonella enterica serovar Typhimurium. *Immunology* **2010**, *130*, 388–398. [CrossRef] [PubMed]
29. Al-Barazie, R.M.; Bashir, G.H.; Qureshi, M.M.; Mohamed, Y.A.; Al-Sbiei, A.; Tariq, S.; Lammers, W.J.; al-Ramadi, B.K.; Fernandez-Cabezudo, M.J. Cholinergic Activation Enhances Resistance to Oral Salmonella Infection by Modulating Innate Immune Defense Mechanisms at the Intestinal Barrier. *Front. Immunol.* **2018**, *9*, 551. [CrossRef] [PubMed]
30. Zujalovic, B.; Mayer, B.; Hafner, S.; Balling, F.; Barth, E. AChE-activity in critically ill patients with suspected septic encephalopathy: A prospective, single-centre study. *BMC Anesthesiol.* **2020**, *20*, 287. [CrossRef]
31. Zimmer, K.R.; Lencina, C.L.; Zimmer, A.R.; Thiesen, F.V. Influence of physical exercise and gender on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity in human blood samples. *Int. J. Environ. Health Res.* **2012**, *22*, 279–286. [CrossRef]
32. Lane, R.M.; He, Y. Butyrylcholinesterase genotype and gender influence Alzheimer’s disease phenotype. *Alzheimers. Dement.* **2013**, *9*, e1–e73. [CrossRef]
33. Brimijoin, S.; Tye, S. Favorable Impact on Stress-Related Behaviors by Modulating Plasma Butyrylcholinesterase. *Cell Mol. Neurobiol.* **2017**, *38*, 7–12. [CrossRef]
34. Mear, Y.; Enjalbert, A.; Thirion, S. GHS-R1a constitutive activity and its physiological relevance. *Front. Neurosci.* **2013**, *7*, 87. [CrossRef] [PubMed]
35. Stengel, A.; Wang, L.; Taché, Y. Stress-related alterations of acyl and desacyl ghrelin circulating levels: Mechanisms and functional implications. *Peptides* **2011**, *32*, 2208–2217. [CrossRef] [PubMed]
36. Gahete, M.D.; Córdoba-Chacón, J.; Kineman, R.D.; Luque, R.M.; Castaño, J.P. Role of ghrelin system in neuroprotection and cognitive functions: Implications in Alzheimer’s disease. *Peptides* **2011**, *32*, 2225–2228. [CrossRef] [PubMed]
37. Michels, B.; Holzamer, A.; Graf, B.M.; Bredthauer, A.; Petermichl, W.; Müller, A.; Zausig, Y.A.; Bitzinger, D.I. Butyrylcholinesterase as a perioperative complication marker in patients after transcatheter aortic valve implantation: A prospective observational study. *BMJ Open* **2021**, *11*, e042857. [CrossRef] [PubMed]
38. Nadorp, B.; Soreq, H. Predicted overlapping microRNA regulators of acetylcholine packaging and degradation in neuroinflammation-related disorders. *Front. Mol. Neurosci.* **2014**, *7*, 9. [CrossRef] [PubMed]
39. Rudolph, J.L.; Babikian, V.L.; Treanor, P.; Pochay, V.E.; Wigginton, J.B.; Crittenden, M.D.; Marcantonio, E.R. Mi-croemboli are not associated with delirium after coronary artery bypass graft surgery. *Perfusion* **2009**, *24*, 409–415. [CrossRef] [PubMed]

40. Bokeriia, L.A.; Golukhova, E.Z.; Breskina, N.Y.; Polunina, A.G.; Davydov, D.M.; Begachev, A.V.; Kazanovskaya, S.N. Asymmetric cerebral embolic load and postoperative cognitive dysfunction in cardiac surgery. *Cerebrovasc. Dis.* **2007**, *23*, 50–56. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
41. Blauth, C.I. Macroemboli and microemboli during cardiopulmonary bypass. *The Annals of Thoracic Surgery* **1995**, *59*, 1300–1303. [\[CrossRef\]](#)
42. Martin, K.K.; Wigginton, J.B.; Babikian, V.L.; Pochay, V.E.; Crittenden, M.D.; Rudolph, J.L. Intraoperative cerebral high-intensity transient signals and postoperative cognitive function: A systematic review. *Am. J. Surg.* **2009**, *197*, 55–63. [\[CrossRef\]](#)
43. Patel, N.; Minhas, J.S.; Chung, E.M.L. Intraoperative Embolization and Cognitive Decline After Cardiac Surgery: A Systematic Review. *Semin. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* **2016**, *20*, 225–231. [\[CrossRef\]](#)
44. Kruis, R.W.J.; Vlasveld, F.A.E.; van Dijk, D. The (un)importance of cerebral microemboli. *Semin. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* **2010**, *14*, 111–118. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Behrends, M.; DePalma, G.; Sands, L.; Leung, J. Intraoperative Blood Transfusions are Associated with Early Postoperative Delirium in Older Patients. *J. Am. Geriatr. Soc.* **2013**, *61*, 365–370. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Kunz, J.V.; Spies, C.D.; Bichmann, A.; Sieg, M.; Mueller, A. Postoperative anaemia might be a risk factor for postoperative delirium and prolonged hospital stay: A secondary analysis of a prospective cohort study. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0229325. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Whitlock, E.L.; Behrends, M. Blood Transfusion and Postoperative Delirium. *Curr. Anesthesiol. Rep.* **2015**, *5*, 24–32. [\[CrossRef\]](#)
48. Habeeb-Allah, A.; Alshraideh, J.A. Delirium post-cardiac surgery: Incidence and associated factors. *Nurs. Crit. Care* **2021**, *26*, 150–155. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Maniar, H.S.; Lindman, B.R.; Escallier, K.; Avidan, M.; Novak, E.; Melby, S.J.; Damiano, M.S.; Lasala, J.; Quader, N.; Rao, R.S.; et al. Delirium after surgical and transcatheter aortic valve replacement is associated with increased mortality. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **2016**, *151*, 815–823.e2. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Salluh, J.I.F.; Wang, H.; Schneider, E.B.; Nagaraja, N.; Yenokyan, G.; Damluji, A.; Serafim, R.B.; Stevens, R.D. Outcome of delirium in critically ill patients: Systematic review and meta-analysis. *BMJ* **2015**, *350*, h2538. [\[CrossRef\]](#)
51. Hasin, Y.; Avidan, N.; Bercovich, D.; Korczyn, A.D.; Silman, I.; Beckmann, J.S.; Sussman, J.L. Analysis of genetic polymorphisms in acetylcholinesterase as reflected in different populations. *Curr. Alzheimer Res.* **2005**, *2*, 207–218. [\[CrossRef\]](#)
52. Carnahan, R.M.; Lund, B.C.; Perry, P.J.; Culp, K.R.; Pollock, B.G. The relationship of an anticholinergic rating scale with serum anticholinergic activity in elderly nursing home residents. *Psychopharmacol. Bull.* **2002**, *36*, 14–19.
53. Rump, A.F.E.; Schierholz, J.; Biederbick, W.; Theisohn, M.; Diefenbach, C.; Abel, M.; Börner, U.; Buzello, W.; Klaus, W. Pseudocholinesterase-Activity Reduction during Cardiopulmonary Bypass. *Gen. Pharmacol. Vasc. Syst.* **1999**, *32*, 65–69. [\[CrossRef\]](#)
54. Salahudeen, M.S.; Duffull, S.B.; Nishtala, P.S. Anticholinergic burden quantified by anticholinergic risk scales and adverse outcomes in older people: A systematic review. *BMC Geriatr.* **2015**, *15*, 31. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
55. Carnahan, R.M.; Lund, B.C.; Perry, P.J.; Pollock, B.G.; Culp, K.R. The Anticholinergic Drug Scale as a measure of drug-related anticholinergic burden: Associations with serum anticholinergic activity. *J. Clin. Pharmacol.* **2006**, *46*, 1481–1486. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
56. Van Eijk, M.M.J.; Roes, K.C.B.; Honing, M.L.H.; Kuiper, M.A.; Karakus, A.; van der Jagt, M.; Spronk, P.E.; van Gool, W.A.; van der Mast, R.C.; Kesecioglu, J.; et al. Effect of rivastigmine as an adjunct to usual care with haloperidol on duration of delirium and mortality in critically ill patients: A multicentre, double-blind, placebo-controlled randomised trial. *Lancet* **2010**, *376*, 1829–1837. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
57. Burry, L.; Hutton, B.; Williamson, D.R.; Mehta, S.; Adhikari, N.K.; Cheng, W.; Ely, E.W.; Egerod, I.; Fergusson, D.A.; Rose, L. Pharmacological interventions for the treatment of delirium in critically ill adults. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2019**, *9*, CD011749. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
58. Inouye, S.K.; Bogardus, S.T.; Baker, D.I.; Leo-Summers, L.; Cooney, L.M. The Hospital Elder Life Program: A model of care to prevent cognitive and functional decline in older hospitalized patients. *Hospital Elder Life Program. J. Am. Geriatr. Soc.* **2000**, *48*, 1697–1706. [\[CrossRef\]](#)
59. Hsieh, T.T.; Yang, T.; Gartaganis, S.L.; Yue, J.; Inouye, S.K. Hospital Elder Life Program: Systematic Review and Meta-analysis of Effectiveness. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **2018**, *26*, 1015–1033. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



OPEN ACCESS

EDITED BY
Hendrik Tevaearai Stahel,
University Hospital of Bern, Switzerland

REVIEWED BY
Aleksandar R. Zivkovic,
Heidelberg University, Germany
Danielle Ni Chroinin,
Liverpool Hospital/South Western Sydney
Clinical School, Australia

*CORRESPONDENCE
Fabian Edinger
✉ Fabian.edinger@chiru.med.uni-giessen.de

RECEIVED 03 July 2024
ACCEPTED 26 November 2024
PUBLISHED 06 December 2024

CITATION
Zajonz TS, Edinger F, Markmann M, Gräb K,
Sander M, Kunzemann C, Koch C and
Schneck E (2024) Optimization of the cardiac
delirium index by including age, decrease in
butyrylcholinesterase activity, preoperative
HbA1c, and postoperative hemoglobin levels:
results of a secondary analysis of a prospective
observational study.
Front. Cardiovasc. Med. 11:1459268.
doi: 10.3389/fcvm.2024.1459268

COPYRIGHT
© 2024 Zajonz, Edinger, Markmann, Gräb,
Sander, Kunzemann, Koch and Schneck. 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.

Optimization of the cardiac delirium index by including age, decrease in butyrylcholinesterase activity, preoperative HbA1c, and postoperative hemoglobin levels: results of a secondary analysis of a prospective observational study

Thomas S. Zajonz, Fabian Edinger*, Melanie Markmann,
Katrin Gräb, Michael Sander, Christian Kunzemann,
Christian Koch and Emmanuel Schneck

Department of Anaesthesiology, Operative Intensive Care Medicine and Pain Therapy, University Hospital of Giessen, Justus-Liebig University Giessen, Giessen, Germany

Introduction: Postoperative delirium (POD) after cardiac surgery significantly affects the perioperative morbidity and mortality. Butyrylcholinesterase (BChE) is an enzyme primarily produced in the liver, which plays a crucial role in the hydrolysis of acetylcholine outside of neuronal synapses, referred to as extraneuronal hydrolysis. The integration of BChE activity into the cardiac delirium (CARDEL) index might increase its predictive power for identifying POD after cardiac surgery. Therefore, the primary aim of this study was to assess the applicability of the CARDEL index and determine whether integrating the BChE activity enables optimization of the predictive model.

Methods: This secondary analysis of a prospective observational study included patients undergoing elective coronary artery bypass graft surgery. BChE activity is expressed in units per liter (U/L), while the BChE drop refers to the percentage decrease in BChE activity from pre- to postoperative levels. POD risk factors were identified using multivariate regression analysis. The predictive power of the CARDEL index and an optimized model including BChE was calculated with receiver operating characteristic (ROC) analysis.

Results: Of 93 included patients, 20 (21.5%) developed POD. Elevated preoperative HbA1c [OR 2.5 (1.2–4.8), $p = 0.01$], a decrease in BChE activity [%], OR 1.1 (1.0–1.2), $p = 0.04$, age [1 (0.94–1.1), $p = 0.55$], and a postoperative hemoglobin change [OR 0.86 (0.78–0.96), $p < 0.001$] were identified as independent risk factors for POD. While the CARDEL index showed a moderate prediction of POD [AUCROC of 0.74 (0.60–0.87)], the optimization including BChE resulted in a significant prognostic improvement: AUCROC of 0.84 (0.72–0.94, $p < 0.001$).

Conclusion: Despite the small size of this derivation cohort, this study identified elevated HbA1c as the strongest risk factor for the development of POD, followed by a decrease in BChE activity, postoperative anemia, and age, respectively. By including these parameters to the CARDEL index, its predictive power for the identification of POD significantly improved in this derivation cohort. Moving forward, integrating these findings into clinical practice could enhance early risk stratification and targeted intervention for patients at high risk of POD. Therefore, further research should evaluate these results in a larger, external cohort.

KEYWORDS

biomarker, postoperative delirium, cardiac surgery, cardiac artery bypass graft surgery, cholinergic system

Introduction

Delirium represents an acute and fluctuating disturbance of cerebral function associated with changes in consciousness and attention (1, 2). It is classified by various features, such as predominant motor activity (hypoactive, hyperactive, or mixed) or etiology (hypoxia, sepsis, sedative exposure, or metabolic dysfunction). Different phenotypes can be subdivided, with hyper- and hypoactive symptoms or their combinations, while some patients show an acute change in cognition that does not meet the full criteria for delirium and is described as subsyndromal delirium (3).

Particularly after cardiac surgery, postoperative delirium (POD) presents a common complication that severely impairs the patients' well-being and significantly increases their perioperative morbidity and mortality as well as health care costs (4, 5). The incidence of POD in cardiac surgical patients varies from 16% to nearly 60%, depending on age, pre-existing cerebrovascular disease and cognitive function, procedural factors (e.g., extent of surgical trauma, duration of extracorporeal circulation), and anesthetic management (6–8). Although numerous underlying pathomechanisms of POD following cardiac surgery have been identified, most are not yet fully understood.

In addition to the neuroinflammatory hypothesis, the neurotransmitter hypothesis represents one of the most widely accepted pathophysiological models for cognitive disturbances. It centers on an imbalance of neurotransmitters such as dopamine, acetylcholine, and serotonin in the brain. Specifically, disturbances in butyrylcholinesterase (BChE) activity can lead to a deficiency of acetylcholine in humans, as BChE plays a key role in regulating acetylcholine levels by hydrolyzing it in non-neuronal tissues (9, 10). While acetylcholinesterase primarily functions at neuronal synapses, BChE contributes to the breakdown of acetylcholine in peripheral tissues and plays a modulatory role in overall cholinergic signaling (11, 12). It is primarily expressed in the liver. In the context of POD, emerging evidence suggests that alterations in BChE activity may influence cholinergic dysregulation, contributing to the cognitive disturbances seen in delirium or other dementia-related diseases (13–16). Alongside other studies, own data showed alterations in the BChE activity, which were predictive of POD in cardiac

surgical patients (17–19). However, although a recent study ($n=237$) confirmed a decrease in BChE activity after cardiac surgery, it was not an independent risk factor for POD development (20). The authors of this study assumed that the BChE activity resembles a surrogate parameter for the patient's overall condition rather than a specific diagnostic tool for POD. Thus, it might be rational to combine the BChE activity with a clinical tool such as the CARDEL index for distinguishing POD after cardiac surgery.

While biomarkers of neuroinflammation are promising, they are often compromised by the immunomodulatory effects of cardiopulmonary bypass (CPB), and the use of clinical scores is limited due to necessary postoperative analgesia and sedation (3, 4, 21–23). This dilemma could be resolved by combining biomarkers and clinical scoring tools that consider relevant patient characteristics (e.g., age), which might optimize risk stratification for POD, even in sedated, uncooperative, and ventilated patients. In this context, Kotfis et al. stated that a lower preoperative platelet-to-white-blood-cell ratio (PWR) correlated well with POD after cardiac surgery ($n=968$). Consequently, they introduced the cardiac delirium index (CARDEL index) including the PWR, age, and HbA1c and demonstrated a sufficient predictive power (AUC of 0.742) for the occurrence of POD following cardiac surgery (21). However, the CARDEL index has not yet been reevaluated and it has not yet been analyzed in combination with the drop of BChE activity.

The primary aim of this study is to assess the applicability of the CARDEL index in a cohort of patients undergoing elective on-pump cardiac surgery. Furthermore, the secondary aim is to determine whether integrating the BChE activity enables optimization of the predictive model.

Methods

Study design

This study presents a secondary analysis of an observational study including 100 cardiac surgical patients at the University Hospital of Giessen and was registered in the German Clinical Trials Register (trial registration: DRKS00010959). The aim of

the primary study was to evaluate whether pre- and perioperative changes in blood acetylcholinesterase and BChE activity were associated with POD development in patients undergoing isolated elective coronary artery bypass graft (CABG) surgery (17). Local ethics committee approval was obtained (Justus Liebig University Giessen, Giessen, Germany; approval number AZ: 30/16). Written informed consent was obtained from all patients. The study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki (24). The methods and results are presented according to the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) guidelines (25).

Subjects

Patients were recruited between September 2016 and January 2020 and included those undergoing elective coronary artery bypass graft (CABG) surgery and postoperative intensive care unit (ICU) treatment. Overall, 100 patients were originally included in the study. Three patients were excluded due to pre-existing delirium, while four declined to participate; therefore, 93 patients were included for analysis. Inclusion criteria included age ≥ 18 years, elective on-pump CABG surgery, and the ability to communicate in German or English. Patients were excluded in case of missing consent, denial of participation, pregnancy, preoperative atrial fibrillation, severe bradycardia (<60 bpm; types: sinus bradycardia, atrial fibrillation with low frequency, nodal rhythm, and second- or third-degree atrioventricular block), acute infection before surgery, pre-existing autoimmune disease, immunomodulatory medication, left ventricular ejection fraction $<30\%$, and renal insufficiency (Kidney Disease Improving Global Outcome score >2). Further exclusion criteria were pseudocholinesterase deficiency, preoperative delirium [screened using the Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit [CAM-ICU] and/or Intensive Care Delirium Screening Checklist [ICDSC]], cognitive dysfunction (e.g., history of schizophrenia, other severe psychiatric conditions, or dementia with inability to adequately answer the CAM-ICU or ICDSC), and recent or persistent neurological impairment (e.g., acute cerebral infarction, intracranial bleeding, or acute meningitis in the last three months prior to study inclusion leading to inability to answer the CAM-ICU or ICDSC).

Identification of delirium

All patients received a standardized perioperative anesthetic and hemodynamic treatment, which is described in detail in the primary study publication (17). Prior to surgery, patients were asked to perform the ICDSC and CAM-ICU tests to achieve a baseline assessment. Postoperatively, POD development was monitored for seven days by applying the ICDSC and CAM-ICU daily during the observational period. One investigator performed all examinations under the supervision of the principal investigator and the attending intensive care physicians to exclude investigator bias. Sedation status was examined using

the Richmond Agitation-Sedation Scale: Patients with a score of ≤ -2 were excluded from testing and reevaluated after four hours. Patients with a positive result with either score were considered to have POD [as shown in the primary study (17)]. In the daily ICU routine, CAM-ICU and RASS were used for detecting POD.

BChE measurements

Preoperative baseline analysis of BChE activity was performed after the clinical examination prior to surgery, while postoperative measurements included one analysis on each consecutive day for seven days after surgery. Whole blood samples ($10\ \mu\text{L}$) were drawn from a peripheral intravenous catheter and analyzed using the ChE Check Mobile System (Securetec Detektions-Systeme AG, Neubiberg, Germany). The BChE activity was analyzed by following the procedural steps according to the manufacturer's instructions [for a detailed description, see (26, 27)]. The enzyme kinetics of BChE was determined photometrically with a modified spectrophotometric Ellman assay (26). BChE activities are measured at 470 nm and are normalized to 37°C . The results of BChE activity measurements are expressed in units per liter (U/L), while the BChE drop refers to the percentage decrease in BChE activity from pre- to postoperative levels.

All other laboratory data originate from clinical routine laboratory blood sampling.

Statistical analysis

Descriptive analysis included the calculation of median and interquartile ranges. Any operative or postoperative ratios refer to the preoperative values. Numerical values were tested for normal distribution using the Shapiro test, and tests for statistically significant differences between the POD- and POD+ groups were applied accordingly with the Student's *t*-test or Wilcoxon test. Since red blood cell concentrates (RBC) can influence plasma BChE activity, their correlation with BChE levels was analyzed using Pearson correlation analysis (28).

The CARDEL index provided by Kotfis et al. was used with the beta coefficients given as well as adapted by retrieving beta coefficients for the present data set (21). It included the following items in its formula:

$$\text{CARDEL Index} = 0.108 \times \text{Age} + 0.341 \times \text{HbA1C} - 0.049 \times \text{PWR}$$

The CARDEL index adapted to our data was used for graphical display and comparisons.

The predictive power of the CARDEL index was calculated by receiver operating characteristic (ROC) and quantified with the area under the curve (AUCROC). Confidence intervals for the AUC were calculated with the "bootstrap" method and $n = 2000$. The results of the BChE measurements were added to the

variable set for the CARDEL index, and the AUCROC was calculated accordingly.

Logistic regression was performed, and statistically significant variables from this univariate analysis were additionally included to compose other multivariable models to identify influencing parameters for optimizing the CARDEL index. Different models were calculated, and the statistical significance of the resulting models was determined by comparisons with the null model. Variables were included according to the parameter's significance and ease of measurement.

Subsequently, indices were calculated based on the different models according to the respective resulting beta coefficients. The statistical significance of the difference in indices between the POD- and POD+ groups was determined with a *t*-test. Statistical significance was assumed with *p*-values below 0.05.

Due to the study design, it was illogical to perform a sample size calculation in advance, as this was a secondary analysis of a prospective study after patient recruitment had been completed. Thus, the number of patients could not be adjusted.

All analyses were performed using R Statistical Software (version 4.3.2, 2023-10-31, R Core Team 21, <https://www.r-project.org/>).

Results

Baseline characteristics

Table 1 shows the patient characteristics [as previously shown in the primary study (17)]. An assessment regarding neurological and psychiatric diseases was performed; it revealed that eight patients (8.6%) had a history of cerebral infarction without persistent neurological impairment, and five patients had a history of psychiatric disorder (5.4% depression, post-traumatic stress disorder, or obsessive-compulsive disorder). No patient

suffered from dementia and no drug or medication abuse was reported, while 31 patients (33.3%) reported regular alcohol consumption. As demonstrated in the original publication, liver enzymes did not differ between patients with and without POD (17). No patient suffered from a severe liver disease ($\geq$ Child A). No patient died during the study period.

Onset of delirium

In summary, 20 patients (21.5%) developed POD, of whom 94.6% showed consistent CAM-ICU and ICDSC results. In five patients (5.4%), the CAM-ICU and ICDSC results differed, leading to a clinical diagnosis based on the ICD-10 classification. As shown in the primary paper, most patients developed POD within the first 24 postoperative hours.

BChE activity

While preoperative BChE activity did not differ between patients with and without POD, it demonstrated significant differences at the postoperative time point (POD+: BChE activity preoperative 3,158.5 [3,018.3–3,512.1] U/L vs. BChE activity postoperative 2,189.3 [1,917.5–2,364.9] U/L; POD-: BChE activity preoperative 3,180.9 [2,822.9–3,472.1] U/L vs. BChE activity postoperative 2,312.3 [2,093.5–2,725.3] U/L; *p*-value <0.001 for intergroup difference at the postoperative time point; Figure 1).

BChE activity (U/L) showed a negative correlation with the amount of RBC administered, although the data exhibited high variability (correlation coefficient: -0.26 , adjusted R^2 : 0.06, $p=0.01$). In summary, 10 out of 20 (50%) patients with POD received RBCs, while 15 out of 73 (20.5%) patients without POD were treated with them. Patients with POD received more RBC compared to patients without POD [median of absolute amount RBC; POD+: 450.0 [0–600] ml; POD-: 0 [0] ml].

TABLE 1 Baseline characteristics of POD+ and POD- patient groups.

Characteristic	POD+ (<i>n</i> =20)	POD- (<i>n</i> =73)	<i>p</i> - value
Age (years)	71.5 (63.8–76.3)	64 (56–71)	0.003
Female sex	3 (15.0)	9 (12.3)	0.717
Caucasian (%)	20 (100)	73 (100)	n.a.
Body mass index (kg/m ²)	28.9 (25.7–32.4)	29.4 (27–32.1)	0.581
Atrial fibrillation	3 (15)	19 (26)	0.385
COPD	5 (25)	6 (8.2)	0.054
DM II	13 (65)	22 (30.1)	0.008
EuroSCORE	1.4 (1.2–1.8)	0.9 (0.7–1.2)	<0.001
ASA-PSCS			0.30
II	0	7 (9.6)	–
III	19 (95.0)	57 (78.1)	–
IV	1 (5.0)	9 (12.3)	–
Duration of ventilation (h)	20.8 (17.0–24.2)	12.3 (9.4–16.6)	<0.001
LOS-ICU (d)	2.9 (5.2–7.2)	1.1 (0.9–2.0)	<0.001
LOS-Hospital (d)	11.0 (9.3–13.8)	10.0 (8.0–12.0)	0.125

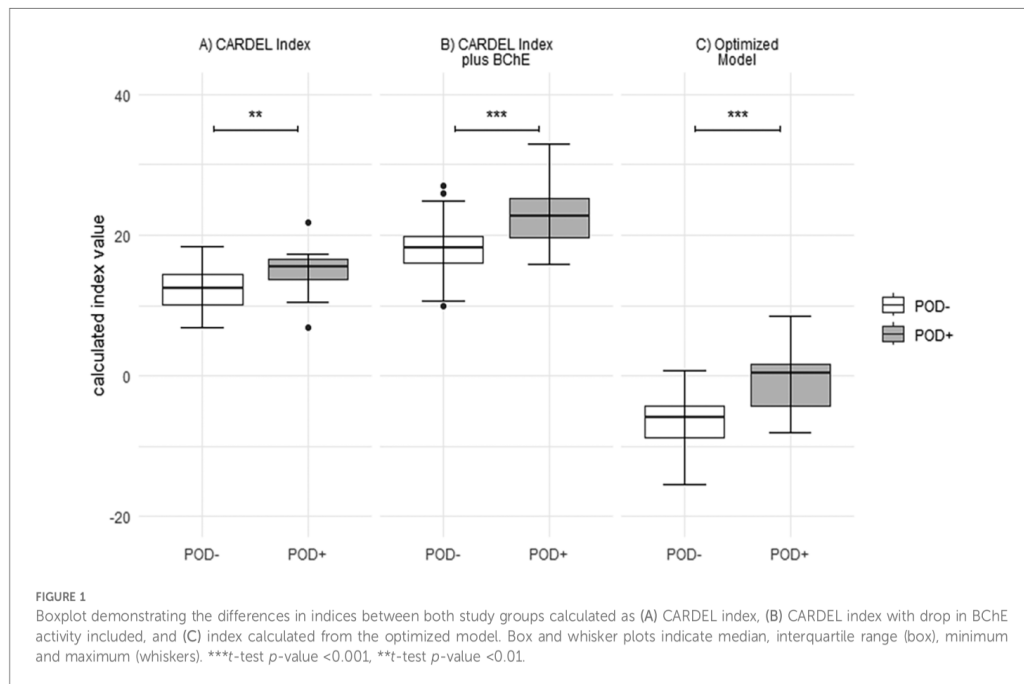
Numerical variables are accompanied by medians and IQRs, with categorical data presented as percentages. ASA-PSCS, American Society of Anesthesiologists—physical status classification system; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; DM II, diabetes mellitus type II; IQR, interquartile range; POD = postoperative delirium.

Assessment of the CARDEL index

Overall, the original CARDEL index and the CARDEL index adapted to our data differed significantly between the study groups (original: POD- 8.75 [8–9.5] vs. POD+ 9.9 [9.2–10.2], $p<0.003$; adapted: POD- 12.4 [10.1–14.5] vs. POD+ 15.6 [13.6–16.6], $p<0.01$; in 14 of the POD- patients and two patients in the POD+ group, the CARDEL index was not calculable due to missing HbA1c values; Table 2, Figure 1). The CARDEL index (both original and adapted) had moderate predictive power for predicting POD [AUCROC original 0.74 [0.61–0.86] and adapted 0.74 [0.60–0.87]; Figure 1].

Optimization of the CARDEL index

Since the predictive performance of the CARDEL index was only moderate, we included the decrease in BChE activity, which



improved the index's performance [AUC = 0.80 [0.67–0.91], POD- 18.2 [16.0–19.9] vs. POD+ 22.7 [19.7–25.3], p < 0.001].

Univariate analysis was used to identify additional risk factors for POD development (Figure 2, Table 2). However, with our data set, the PWR could not be confirmed as an associated factor for the occurrence of POD.

Instead, any decrease in red-blood-cell-related parameters appeared to impact the POD risk (Figure 2, Table 2). Consequently, we included these parameters in a multivariable logistic regression analysis and excluded the PWR. The most potent parameters regarding POD prediction were age, HbA1c [OR 2.5 (1.2–4.8), p = 0.01], relative decrease in BChE activity [in %, OR 1.1 (1.0–1.2), p = 0.04], and the postoperative proportion of hemoglobin [OR 0.86 (0.78–0.96), p < 0.001], and these were consequently included in the optimized model.

The formula for calculating an index according to this optimized model is:

$$\begin{aligned} \text{Idx} = & 0.11 \times \text{age}[y] + 0.29 \times \text{pre HbA1c} + 0.26 \\ & \times \text{drop in BChE activity [\%]} - 0.28 \\ & \times \text{proportion of Hb post OP [\%]} \end{aligned}$$

Table 3 shows the characteristics of the model. The comparative ROC for the indices calculated as described shows an improved potential for predicting POD with an AUCROC of 0.84 (0.72–0.94, p < 0.001) for the optimized index (Figure 3, Table 4). The sensitivity and specificity of the optimized model were 0.61 and 0.93, with an accuracy of 0.86.

The multivariable model has been corrected for age [1 (0.94–1.1), p = 0.55] which is not an independent risk factor [AUC without age = 0.83 (0.72–0.93)].

Discussion

This prospective study evaluated the CARDEL index in a homogenous cohort of patients undergoing elective CABG surgery. Despite the small study size of this derivation cohort and the lack of an external validation the study offers two main findings: First, it showed that the predictive power of the original and adapted CARDEL index for detecting POD is only moderate and can be optimized. In its original configuration, it showed only an AUCROC of 0.74. Second, multivariate regression analysis confirmed most parameters of the CARDEL index but also excluded the PWR as an independent risk factor for POD development. Instead, the inclusion of the drop in the BChE activity in an optimized model showed an increase in the predictive power of the score [AUCROC 0.84 (0.72–0.94)].

Our study's focus on a homogenous cohort of low-risk CABG patients, characterized by shorter cross-clamp times and standardized perioperative management, likely contributed to the relatively low POD incidence compared to studies including higher-risk patient groups such as those undergoing valvular surgery. As POD impacts the patient's outcome and quality of life, it is important to implement preventive strategies to avoid POD and to predict POD as accurately as possible to treat it early and effectively. Thus, the CARDEL index was designed only

TABLE 2 Results of univariate analysis.

	Odds ratio (unadjusted)	Confidence interval	p-value
Age (years)	1.08	1.02–1.15	<0.01
Hb1Ac (%)	1.53	1.03–2.28	<0.05
BChE activity (U/L Hb)			
Preoperative BChE	1.000	0.999–1.001	0.77
Postoperative BChE	0.998	0.997–1.00	<0.05
Pre- to postoperative BChE drop (%)	1.12	1.04–1.19	<0.01
Postoperative BChE proportion (%)	0.90	0.84–0.96	<0.01
Platelets (giga/L)			
Preoperative platelet count	0.99	0.99–1.00	0.12
Intraoperative platelet count	0.99	0.98–1.00	<0.05
Postoperative platelet count	0.99	0.97–1.00	<0.05
Postoperative proportion of platelets (%)	1.00	0.98–1.02	0.81
Hemoglobin (g/dl)			
Preoperative hemoglobin	1.02	0.98–1.05	0.34
Intraoperative hemoglobin	0.95	0.92–0.99	<0.05
Postoperative hemoglobin	0.95	0.91–0.99	<0.05
Postoperative proportion of hemoglobin (%)	0.90	0.84–0.96	<0.01
Hematocrit (Vol%)			
Preoperative hematocrit	1.09	0.95–1.25	0.22
Intraoperative hematocrit	0.91	0.80–1.05	0.20
Postoperative hematocrit	0.87	0.76–1.00	< 0.05
Postoperative proportion of hematocrit (%)	0.91	0.85–0.97	< 0.01
Erythrocytes count (tera/L)			
Preoperative erythrocyte count	1.31	0.47–3.66	0.60
Intraoperative erythrocyte count	0.45	0.15–1.32	0.15
Postoperative erythrocyte count	0.28	0.09–0.89	<0.05
Postoperative proportion of erythrocytes (%)	0.91	0.85–0.97	<0.01
WBC count (giga/L)			
Preoperative WBC count	1.07	0.88–1.31	0.51
Intraoperative WBC count	0.96	0.86–1.06	0.39
Postoperative WBC count	0.91	0.79–1.05	0.19
Postoperative proportion of WBC (%)	0.99	0.98–1.00	<0.05
Platelet-to-WBC ratio			
Preoperative Platelet-to-WBC ratio	0.96	0.92–1.01	0.15
Intraoperative Platelet-to-WBC ratio	0.97	0.89–1.05	0.44
Postoperative Platelet-to-WBC ratio	0.97	0.94–1.01	0.13
Pre- to postoperative change of platelet-to-WBC ratio (%)	1.005	0.99–1.02	0.56

BChE, butyrylcholinesterase; WBC, white blood cells.

with parameters available prior to surgery. Even though this approach is useful, in our study, it only achieved sufficient prediction of POD, although the study collectives were comparable regarding the performed surgery and basic characteristics of the study collective (21). Moreover, calculating the CARDEL index resulted in a very similar prognostic power compared to our data (both 0.74). Recently, another study derived from the same study group evaluated the CARDEL index as a prognostic score but showed an AUCROC of only 0.664 for predicting POD (29). The incidence of POD was higher in our study [own results: 20.5%, Kotfis et al.: 13.3%, Lechowicz et al.: 14.9% (21, 29)], but most importantly, we were unable to confirm the PWR as the strongest risk factor for POD. This may be due to several reasons. First, the PWR represents a surrogate for the patient's general condition rather than their

neuroinflammatory status and can vary between individuals. For example, in contrast to our study, Kotfis et al. also included patients with acute myocardial infarction, which can influence blood cell ratios due to the endothelial inflammatory response (21, 30–32). Moreover, several other factors could have influenced the PWR in the study collectives, such as other pre-existing diseases or ICU treatment. Second, standardization of PWR measurements is lacking. This affects not only the analysis techniques but also reference ranges. Since both studies investigating the CARDEL index originate from the same department, their analytics will be identical; however, they may differ from our laboratory. Finally, whether PWR or other ratios such as platelet-to-lymphocyte or platelet-to-neutrophil should be used in the context of neuroinflammation remains widely discussed because lymphocytes and neutrophils might be more

specific for an inflammatory response (33, 34). For example, a recent meta-analysis of 11,579 critically ill patients did not include the PWR but only the platelet-to-lymphocyte and platelet-to-neutrophil ratios (35). In this analysis, the platelet-to-neutrophil ratio was prognostic for delirium, while the platelet-to-lymphocyte ratio failed. Overall, blood cell ratios might contribute to detecting POD but are probably insufficiently specific for single use as a predictive biomarker.

Based on our previous study showing that a drop in BChE activity correlated well with the onset of POD, we assumed that this might improve the prediction of the CARDEL index and demonstrate an increase in the AUC to 0.80. Finally, we reviewed our data with regression analysis and identified elevated HbA1c, a decrease in BChE activity, and a postoperative change in hemoglobin as risk factors for POD development, which we

included in our prediction model and achieved an AUC of 0.84 with a sensitivity and specificity of 0.61 and 0.93, respectively. It is well-documented that anemia during cardiac surgery is associated with POD development (7, 36, 37). For example, the IPDACS study showed that the risk for POD increased more than fourfold when patients suffered from anemia (7). Furthermore, diabetes also presents a known risk factor for POD, although it is not yet determined whether diabetes or hyperglycemia contribute most to POD development (38–40). Thus, it was unsurprising that anemia and diabetes were also identified as risk factors for POD in our study. However, the risk of developing POD in diabetic patients (quantified with HbA1c) was similar to findings from a study by Kotfis et al. ($n = 3,178$), which reported an odds ratio of 1.269 (95% CI: 1.161–1.387, $p < 0.001$) (41). In contrast, a large cohort study of 25,532 Korean cardiac surgical patients revealed that acute hyperglycemia, but not chronic hyperglycemia, increased the risk for POD (39). The underlying reasons for these controversial findings are still not fully understood. While acute hyperglycemia may cause neuroinflammation, making patients more vulnerable to POD, those with chronic hyperglycemia might have developed protective cellular responses (42).

This is particularly relevant because all parameters were available immediately after surgery, enabling early and accurate prediction of POD, which may compensate for the limitation of not having all parameters available preoperatively. BChE might present a promising target as a prognostic biomarker for POD. Alongside other studies, the underlying observational study of this secondary analysis showed alterations in the BChE activity that were predictive of POD in cardiac surgical patients (17–19). Conversely, a recent study by Schlake et al. did not show a relationship between the BChE activity and POD after cardiac surgery, although this activity decreased significantly postoperatively (20). A possible explanation might lie in the differences between the included patients. While we included only patients undergoing CABG, Schlake et al. included various types of cardiac surgical patients with and without the use of CPB. Because CPB leads to a strong inflammatory response, it significantly influences the onset of POD and might also impact the drop in BChE activity. Although no difference between patients with and without CPB was identified regarding the onset

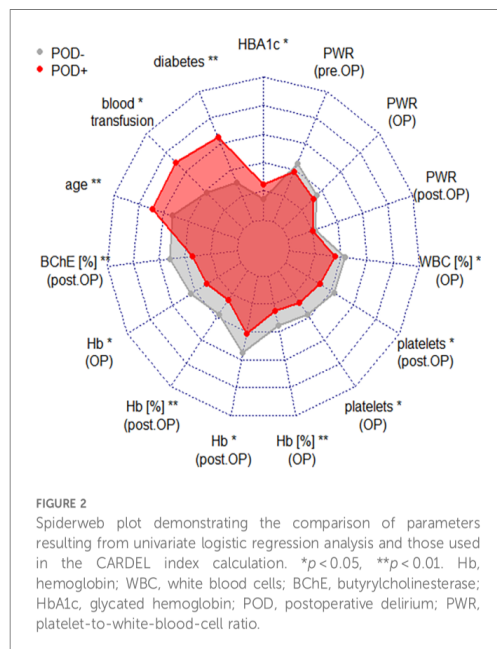


TABLE 3 Indices and contributing parameters are given as medians and IQRs; p -values are given for two-group tests regarding the presence of POD results from t -tests or wilcox tests accordingly.

	POD+	POD –	p -value 2-group-test
CARDEL index	9.9 [9.19–10.17]	8.75 [8–9.49]	0.0026
CARDEL index adapted	15.57 [13.63–16.55]	12.37 [10.13–14.45]	0.0060
Age	71.5 [63.75–76.25]	64 [56–71]	0.0033
Preoperative HbA1c	6.55 [6.03–7.3]	5.85 [5.6–6.6]	0.0046
Preoperative PWR	26.67 [22.07–34.03]	31.72 [25.52–36.67]	0.0756
Extended CARDEL index	22.67 [19.66–25.28]	18.16 [15.96–19.86]	0.0002
Decrease in BChE activity (%)	31.82 [25.05–37.42]	23.82 [17.84–30.25]	0.0018
Index for optimized model	0.41 [–4.25–1.56]	–6 [–8.89–4.23]	2.8×10^{-5}
Proportion Of Post OP Hb (%)	66.44 [61.82–75.74]	73.13 [69.82–80.85]	0.0029

The CARDEL index was calculated with beta coefficients given by kotfis et al., whereas for the adapted CARDEL index, beta coefficients inferred from our data set were used for the adapted CARDEL index. BChE, butyrylcholinesterase; POD, postoperative delirium; PWR, platelet-to-white-blood-cell ratio.

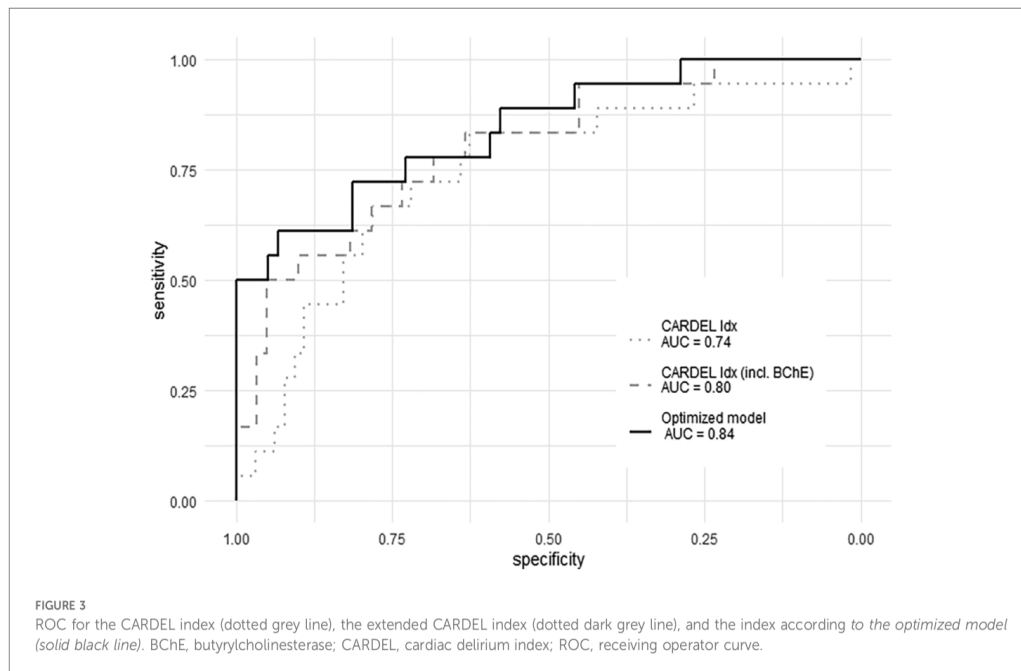


TABLE 4 Multivariate analysis—optimized model with AUC 0.84 [0.72–0.94] ($p < 0.001$).

Variables of the optimized model	beta coefficient	OR	p-value
age	0.11	1 [0.94–1.1]	0.55
preoperative HbA1c	0.29	2.5 [1.2–4.8]	0.01
decrease in BChE activity (%)	0.27	1.1 [1.0–1.2]	0.03
postoperative hemoglobin proportion (%)	−0.31	0.86 [0.78–0.96]	0.0045

AUC, area under the curve.

of POD, this phenomenon is well-known (4, 22). Further, the cause of BChE drop must be discussed. Since cardiac surgery can influence the liver function and, therefore, also the synthesis of BChE, dynamics of liver enzymes must be taken into account. In this study, liver enzymes did not differ between patients with and without patients and stayed overall in a normal range. For this reason, it is unlikely that disturbances of the liver function influenced the BChE activity. Another possible influencing factor on BChE activity are RBC. Even though BChE is mainly found in the plasma and acetylcholinesterase in red blood cells, the activity of BChE is also strongly correlated to the amount of the red blood cell count (28). Even though BChE is primarily found in the plasma and acetylcholinesterase in red blood cells, the activity of BChE is also strongly correlated to the amount of the RBC count. It is therefore possible that RBC transfusion might influence the BChE activity. In fact, the amount of RBC transfusion was higher in patients with POD raising the question how this finding might interact with the significant decrease of BChE activity in patients with POD. Since it is known that RBC

transfusions modulate inflammatory reactions, and systemic inflammation is associated with a decrease in BChE activity (43–46), there may be a connection between RBC transfusions and the development of POD, as has been described in previous studies (47–49). Finally, it is notable that Schlake et al. did not measure the drop in BChE activity in the first two days after surgery, while our study only included measurements of the very early stages of the BChE activity (immediately after surgery and at day 1). Therefore, the BChE activity might already have been regenerated in the study by Schlake et al., which would explain the statistically non-significant differences. Moreover, two other studies did not show a prognostic value of BChE; however, the study designs differed from our study. While John et al. did not include preoperative values and therefore could not show a perioperative drop in BChE activity (18), Michels et al. used a composite endpoint (POD, acute renal failure, pneumonia, and arrhythmia) (50). Overall, these contradicting results underline the need for studies with larger numbers of patients and clearly defined target parameters (e.g., drop in BChE activity).

This study features some important limitations. First, due to its design as a secondary analysis, we could not increase the number of included patients. Therefore, no sample size calculations were performed. This led to a small sample size in the derivation cohort, which needs to be reevaluated through external validation. Second, although we attempted to reduce influencing factors, it remains possible that chronic health conditions might have influenced the BChE activity. For example, cholinesterase deficiency syndromes, genetic variants, polymorphisms and mutations in BChE activity represent a potential confounder in studies on perioperative cholinergic disturbance (51). Future

studies should include an assessment of frailty to describe the patients' status more thoroughly. Next, although all surgeries were performed during the daytime, the circadian rhythm might still have influenced BChE plasma levels. Third, the anticholinergic effects of the given drugs cannot be excluded; however, these patients underwent a highly standardized surgery and anesthesia, making them comparable with a simultaneously very low drug-related anticholinergic burden (52). Although the exclusion criteria (e.g., autoimmune diseases, severe psychiatric disorders) and anesthetic management were designed to minimize the risk of exposure to such medications, it cannot be ruled out that some drugs may have still influenced BChE activity. For instance, five patients were treated with antidepressant medications, which may have influenced BChE levels. Due to the secondary analysis design of the study, this limitation could not be avoided. Finally, in 14 of the POD- patients and two of the POD+ group, the CARDEL index was not calculable due to missing HbA1c values.

Conclusion

In summary, this study identified an elevated HbA1c as the strongest risk factor for the development of POD followed by the decrease in BChE activity and postoperative anemia, respectively age. Furthermore, the predictive power of the CARDEL index was significantly improved by including these factors. The PWR was not associated with the onset of POD after cardiac surgery, while point-of-care measurement of BChE activity enhanced the predictive quality of the CARDEL index. All parameters of the optimized prognostic model are easily available within the first 24 h after surgery, making the score potentially useful for early risk assessment. It could support conversations with patients and families by providing an early, individualized risk assessment for POD in the postoperative period. However, it must be highlighted that this study is based on a small derivation cohort and did not yet undergo external validation.

Data availability statement

The original contributions presented in the study are included in the article/supplementary material, further inquiries can be directed to the corresponding author.

Ethics statement

The studies involving humans were approved by Medical Ethics Committee of Giessen. The studies were conducted in accordance with the local legislation and institutional

requirements. The participants provided their written informed consent to participate in this study.

Author contributions

TZ: Conceptualization, Data curation, Formal Analysis, Investigation, Methodology, Project administration, Supervision, Validation, Visualization, Writing – original draft. FE: Conceptualization, Methodology, Validation, Writing – original draft. MM: Data curation, Formal Analysis, Methodology, Software, Visualization, Writing – original draft. KG: Investigation, Writing – original draft. MS: Conceptualization, Supervision, Writing – original draft. CKu: Data curation, Investigation, Writing – original draft. CKo: Conceptualization, Project administration, Supervision, Writing – original draft. ES: Conceptualization, Formal Analysis, Investigation, Methodology, Supervision, Validation, Writing – original draft.

Funding

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

Acknowledgments

On behalf of all authors, we would like to thank our colleagues in surgical and anesthesiological nursing for their consistently excellent support and cooperation, without which the realization of clinical studies and the advancement of medical progress would not be possible.

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.

References

- Aldecoa C, Bettelli G, Bilotta F, Sanders RD, Audisio R, Borozdina A, et al. European Society of Anaesthesiology evidence-based and consensus-based guideline on postoperative delirium. *Eur J Anaesthesiol.* (2017) 34(4):192–214. doi: 10.1097/EJA.0000000000000594
- Jin Z, Hu J, Ma D. Postoperative delirium: perioperative assessment, risk reduction, and management. *Br J Anaesth.* (2020) 125(4):492–504. doi: 10.1016/j.bja.2020.06.063
- Sanson G, Khlopenyuk Y, Milocco S, Sartori M, Dreas L, Fabiani A. Delirium after cardiac surgery. Incidence, phenotypes, predisposing and precipitating risk factors, and effects. *Heart Lung.* (2018) 47(4):408–17. doi: 10.1016/j.hrtlung.2018.04.005
- O'Neal JB, Shaw AD. Predicting, preventing, and identifying delirium after cardiac surgery. *Periop Med.* (2016) 5(1):7. doi: 10.1186/s13741-016-0032-5
- Salluh JIF, Wang H, Schneider EB, Nagaraja N, Yenokyan G, Damluji A, et al. Outcome of delirium in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. *Br Med J.* (2015) 350(3):h2538. doi: 10.1136/bmj.h2538
- Smulter N, Lingehall HC, Gustafson Y, Olofsson B, Engström KG. Delirium after cardiac surgery: incidence and risk factors. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* (2013) 17(5):790–6. doi: 10.1093/icvts/ivt323
- Kazmierski J, Kowman M, Banach M, Fendler W, Okonski P, Banys A, et al. Incidence and predictors of delirium after cardiac surgery: results from the IPDACS study. *J Psychosom Res.* (2010) 69(2):179–85. doi: 10.1016/j.jpsychores.2010.02.009
- Gosselt ANC, Slooter AJC, Boere PRQ, Zaal JJ. Risk factors for delirium after on-pump cardiac surgery: a systematic review. *Crit Care.* (2015) 19(1):1–8. doi: 10.1186/s13054-014-0721-8
- Darvesh S, Hopkins DA, Geula C. Neurobiology of butyrylcholinesterase. *Nat Rev Neurosci.* (2003) 4(2):131–8. doi: 10.1038/nrn1035
- Maldonado JR. Delirium pathophysiology: an updated hypothesis of the etiology of acute brain failure. *Int J Geriatr Psychiatry.* (2018) 33(11):1428–57. doi: 10.1002/gps.4823
- Sun T, Zhen T, Harakandi CH, Wang L, Guo H, Chen Y, et al. New insights into butyrylcholinesterase: pharmaceutical applications, selective inhibitors and multitarget-directed ligands. *Eur J Med Chem.* (2024) 275:116569. doi: 10.1016/j.ejmech.2024.116569
- Lockridge O. Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. *Pharmacol Ther.* (2015) 148:34–46. doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.011
- Jahangir S, Allala M, Khan AS, Muyolema Arce VE, Patel A, Soni K, et al. A review of biomarkers in delirium superimposed on dementia (DSD) and their clinical application to personalized treatment and management. *Cureus.* (2023) 15(5):e38627. doi: 10.7759/cureus.38627
- Zhao B, Ni Y, Tian X. Low plasma cholinesterase activity is associated with postoperative delirium after noncardiac surgery in elderly patients: a prospective observational study. *Psychosomatics.* (2019) 60(2):190–196. doi: 10.1016/j.psych.2018.06.014
- Müller A, Olbert M, Heymann A, Zahn PK, Plaschke K, Von Dossow V, et al. Relevance of peripheral cholinesterase activity on postoperative delirium in adult surgical patients (CESARO): a prospective observational cohort study. *Eur J Anaesthesiol.* (2019) 36(2):114–122. doi: 10.1097/EJA.0000000000000888
- Gruendel MS, Brenneisen W, Wollborn J, Haaker G, Meersch M, Gurlit S, et al. Perioperative point-of-care-testing of plasmacholinesterases identifies older patients at risk for postoperative delirium: an observational prospective cohort study. *BMC Geriatr.* (2024) 24(1):136. doi: 10.1186/s12877-023-04627-1
- Zajonz TS, Kunzemann C, Schreiner AL, Beckert F, Schneek E, Boening A, et al. Potentials of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase alterations in on-pump coronary artery bypass surgery in postoperative delirium: an observational trial. *J Clin Med.* (2023) 12(16):5245. doi: 10.3390/jcm12165245
- John M, Ely EW, Halfkann D, Schoen J, Sedemund-Adib B, Klotz S, et al. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in cardiothoracic patients with postoperative delirium. *J Intensive Care.* (2017) 5(1):29. doi: 10.1186/s40560-017-0224-1
- Adam EH, Haas V, Lindau S, Zacharowski K, Scheller B. Cholinesterase alterations in delirium after cardiac surgery: a German monocentric prospective study. *BMJ Open.* (2020) 10(1):e031212. doi: 10.1136/bmjopen-2019-031212
- Schlake K, Teller J, Hinken L, Laser H, Lichtinghagen R, Schäfer A, et al. Butyrylcholinesterase activity in patients with postoperative delirium after cardiothoracic surgery or percutaneous valve replacement: an observational interdisciplinary cohort study. *BMC Neurol.* (2024) 24(1):80. doi: 10.1186/s12883-024-03580-9
- Kotfis K, Ślowska J, Safranow K, Szylińska A, Listewnik M. The practical use of white cell inflammatory biomarkers in prediction of postoperative delirium after cardiac surgery. *Brain Sci.* (2019) 9(11):308. doi: 10.3390/brainsci9110308
- Lopez MG, Hughes CG, DeMatteo A, O'Neal JB, McNeil JB, Shotwell MS, et al. Intraoperative oxidative damage and delirium after cardiac surgery. *Anesthesiology.* (2020) 132(3):551–61. doi: 10.1097/ALN.0000000000003016
- Lindroth H, Bratzke L, Purvis S, Brown R, Coburn M, Mrkobrada M, et al. Systematic review of prediction models for delirium in the older adult inpatient. *BMJ Open.* (2018) 8(4):e019223. doi: 10.1136/bmjopen-2017-019223
- World Medical Association. World medical association declaration of Helsinki. *JAMA.* (2013) 310(20):2191. doi: 10.1001/jama.2013.281053
- von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Göttsche PC, Vandenbroucke JP. The strengthening of reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol.* (2008) 61(4):344–9. doi: 10.1016/j.jclinepi.2007.11.008
- Worek F, Mast U, Kiderlen D, Diepold C, Eyer P. Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood. *Clin Chim Acta.* (1999) 288(1–2):73–90. doi: 10.1016/S0009-8981(99)00144-8
- Securetec Detection-Systems AG. ChE check mobile: portable cholinesterase testing system. Neubiberg: Securetec Detection-Systems AG (2013). Available online at: https://www.securetec.net/app/uploads/2018/08/Schnelltest-Bestimmung-Cholinesterase_Brochure_ChE_Enzymtest_military_use_70507_v03_EN_Email.pdf (accessed December 02, 2024).
- Jasiecki J, Targońska M, Wasąg B. The role of butyrylcholinesterase and iron in the regulation of cholinergic network and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease pathogenesis. *Int J Mol Sci.* (2021) 22(4):2033. doi: 10.3390/ijms22042033
- Lechowicz K, Szylińska A, Listewnik M, Drożdżal S, Tomka N, Rotter I, et al. Cardiac delirium index for predicting the occurrence of postoperative delirium in adult patients after coronary artery bypass grafting. *Clin Interv Aging.* (2021) 16:487–95. doi: 10.2147/CIA.S302526
- Wang H, Li L, Ma Y. Platelet-to-lymphocyte ratio a potential prognosticator in acute myocardial infarction: a prospective longitudinal study. *Clin Cardiol.* (2023) 46(6):632–8. doi: 10.1002/clc.24002
- Dong G, Huang A, Liu L. Platelet-to-lymphocyte ratio and prognosis in STEMI: a meta-analysis. *Eur J Clin Invest.* (2021) 51(3):e13386. doi: 10.1111/eci.13386
- Chen Y, Chen S, Han Y, Xu Q, Zhao X. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio are important indicators for predicting in-hospital death in elderly AMI patients. *J Inflamm Res.* (2023) 16:2051–61. doi: 10.2147/JIR.S411086
- Islam MM, Satici MO, Eroglu SE. Unraveling the clinical significance and prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio, systemic immune-inflammation index, systemic inflammation response index, and delta neutrophil index: an extensive literature re. *Turk J Emerg Med.* (2024) 24(1):8–19. doi: 10.4103/tjem.tjem_198_23
- Buonacera A, Stancanelli B, Colaci M, Malatino L. Neutrophil to lymphocyte ratio: an emerging marker of the relationships between the immune system and diseases. *Int J Mol Sci.* (2022) 23(7):3636. doi: 10.3390/ijms23073636
- Sarejloo S, Shojai N, Lucke-Wold B, Zelmanovich R, Khanzadeh S. Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio as prognostic predictors for delirium in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Anesthesiol.* (2023) 23(1):58. doi: 10.1186/s12871-023-01997-2
- Kulier A, Levin J, Moser R, Rumpold-Seitlinger G, Tudor IC, Snyder-Ramos SA, et al. Impact of preoperative anemia on outcome in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Circulation.* (2007) 116(5):471–9. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.653501
- Li MM, Miles S, Callum J, Lin Y, Karkouti K, Bartosko J. Postoperative anemia in cardiac surgery patients: a narrative review. *Can J Anaesth.* (2023) 71(3):408–421. doi: 10.1007/s12630-023-02650-9
- Li J, Meng D, Chang C, Fu B, Xie C, Wu Z, et al. Risk factors for delirium after coronary artery bypass grafting in elderly patients. *Ann Transl Med.* (2021) 9(22):1666. doi: 10.21037/atm-21-5160
- Park SJ, Oh AR, Lee J-H, Yang K, Park J. Association of preoperative blood glucose level with delirium after non-cardiac surgery in diabetic patients. *Korean J Anesthesiol.* (2024) 77(2):226–235. doi: 10.4097/kja.23301
- Oh AR, Lee DY, Lee S, Lee J-H, Yang K, Choi B, et al. Association between preoperative glucose dysregulation and delirium after non-cardiac surgery. *J Clin Med.* (2024) 13(4):932. doi: 10.3390/jcm13040932
- Kotfis K, Szylińska A, Listewnik M, Brykczynski M, Ely EW, Rotter I. Diabetes and elevated preoperative hba1c level as risk factors for postoperative delirium after cardiac surgery: an observational cohort study. *Neuropsychiatr Dis Treat.* (2019) 15:511–521. doi: 10.2147/NDT.S196973
- Marik PE, Bellomo R. Stress hyperglycemia: an essential survival response!. *Crit Care.* (2013) 17(2):305. doi: 10.1186/cc12514
- Remy KE, Hall MW, Cholette J, Juffermans NP, Nicol K, Doctor A, et al. Mechanisms of red blood cell transfusion-related immunomodulation. *Transfusion (Paris).* (2018) 58(3):804–815. doi: 10.1111/trf.14488
- Zivkovic AR, Schmidt K, Sigl A, Decker SO, Brenner T, Hofer S. Reduced serum butyrylcholinesterase activity indicates severe systemic inflammation in critically ill patients. *Mediators Inflamm.* (2015) 2015:274607. doi: 10.1155/2015/274607

45. Lampón N, Hermida-Cadahia EF, Riveiro A, Tutor JC. Association between butyrylcholinesterase activity and low-grade systemic inflammation. *Ann Hepatol.* (2012) 11(3):356–363. doi: 10.1016/S1665-2681(19)30932-9
46. Hod EA, Zhang N, Sokol SA, Wojczyk BS, Francis RO, Ansaldi D, et al. Transfusion of red blood cells after prolonged storage produces harmful effects that are mediated by iron and inflammation. *Blood.* (2010) 115(21):4284–4292. doi: 10.1182/blood-2009-10-245001
47. Mariscalco G, Biancari F, Juvonen T, Zanobini M, Cottini M, Banach M, et al. Red blood cell transfusion is a determinant of neurological complications after cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* (2015) 20(2):166–171. doi: 10.1093/icvts/ivu360
48. Brown CH, Grega M, Selnes OA, McKhann GM, Shah AS, Laflam A, et al. Length of red cell unit storage and risk for delirium after cardiac surgery. *Anesth Analg.* (2014) 119(2):242–250. doi: 10.1213/ANE.0000000000000134
49. Lee S-S, Kim J-H, Lee J-J, Kwon Y-S, Seo E-M. The impact of blood transfusion in developing postoperative delirium in patients with hip fracture surgery. *J Clin Med.* (2023) 12(14):4696. doi: 10.3390/jcm12144696
50. Michels B, Holzamer A, Graf BM, Bredthauer A, Petermichl W, Müller A, et al. Butyrylcholinesterase as a perioperative complication marker in patients after transcatheter aortic valve implantation: a prospective observational study. *BMJ Open.* (2021) 11(7):e042857. doi: 10.1136/bmjopen-2020-042857
51. Lane RM, He Y. Butyrylcholinesterase genotype and gender influence Alzheimer's disease phenotype. *Alzheimers Dement.* (2013) 9(2):e1–73. doi: 10.1016/j.jalz.2010.12.005
52. Hilmer SN, Gnjjidic D. The anticholinergic burden: from research to practice. *Aust Prescr.* (2022) 45(4):118–20. doi: 10.18773/austprescr.2022.031



Article

Minimized Extracorporeal Circulation Is Associated with Reduced Plasma Levels of Free-Circulating Mitochondrial DNA Compared to Conventional Cardiopulmonary Bypass: A Secondary Analysis of an Exploratory, Prospective, Interventional Study

Thomas Zajonz ^{1,†}, Christian Koch ^{1,2,*,†} , Jan Schwiddessen ¹, Melanie Markmann ¹ , Matthias Hecker ³, Fabian Edinger ¹ , Götz Schmidt ¹ , Andreas Boening ⁴ , Michael Sander ^{1,2} and Emmanuel Schneck ^{1,2}



Citation: Zajonz, T.; Koch, C.; Schwiddessen, J.; Markmann, M.; Hecker, M.; Edinger, F.; Schmidt, G.; Boening, A.; Sander, M.; Schneck, E. Minimized Extracorporeal Circulation Is Associated with Reduced Plasma Levels of Free-Circulating Mitochondrial DNA Compared to Conventional Cardiopulmonary Bypass: A Secondary Analysis of an Exploratory, Prospective, Interventional Study. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 2994. <https://doi.org/10.3390/jcm11112994>

Academic Editors: Natascha Sommer and Oleg Pak

Received: 3 April 2022

Accepted: 23 May 2022

Published: 25 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

- ¹ Department of Anesthesiology, Operative Intensive Care Medicine and Pain Therapy, University Hospital of Giessen and Marburg, 35392 Giessen, Germany; thomaszajonz@hotmail.de (T.Z.); jan.schwiddessen@chiru.med.uni-giessen.de (J.S.); melanie.markmann@chiru.med.uni-giessen.de (M.M.); fabian.edinger@chiru.med.uni-giessen.de (F.E.); goetz.f.schmidt@chiru.med.uni-giessen.de (G.S.); michael.sander@chiru.med.uni-giessen.de (M.S.); emmanuel.schneck@chiru.med.uni-giessen.de (E.S.)
 - ² German Center for Infection Research (DZIF), Partner Site Giessen-Marburg-Langen, 35392 Giessen, Germany
 - ³ Department of Respiratory and Critical Care Medicine, University of Giessen and Marburg Lung Center (UGMLC), University Hospital Giessen, Justus Liebig University of Giessen, Germany Member of the German Center for Lung Research (DZL), 35392 Giessen, Germany; matthias.hecker@innere.med.uni-giessen.de
 - ⁴ Department of Cardiac and Vascular Surgery, Justus Liebig University Giessen and University Hospital Giessen and Marburg, 35392 Giessen, Germany; andreas.boening@chiru.med.uni-giessen.de
- * Correspondence: christian.koch@chiru.med.uni-giessen.de; Tel.: +49-641-985-44401
 † These authors contributed equally to this work.

Abstract: The use of minimized extracorporeal circulation (MiECC) during cardiac surgery is associated with a reduced inflammatory reaction compared to conventional cardiopulmonary bypass (cCPB). Since it is unknown if MiECC also reduces the amount of free-circulating mitochondrial DNA (mtDNA), this study aims to compare MiECC-induced mtDNA release to that of cCPB as well as to identify potential relations between the plasma levels of mtDNA and an adverse outcome. Overall, 45 patients undergoing cardiac surgery with either cCPB or MiECC were included in the study. MtDNA encoding for NADH dehydrogenase 1 was quantified with quantitative polymerase chain reaction. The plasma amount of mtDNA was significantly lower in patients undergoing cardiac surgery with MiECC compared to cCPB (MiECC: 161.8 (65.5–501.9); cCPB 190.8 (82–705.7); $p < 0.001$). Plasma levels of mtDNA showed comparable kinetics independently of the study group and peaked during CPB (MiECC preoperative: 68.2 (26.5–104.9); MiECC 60 min after start of CPB: 536.5 (215.7–919.6); cCPB preoperative: 152.5 (80.9–207.6); cCPB 60 min after start of CPB: 1818.0 (844.2–3932.2); all $p < 0.001$). Patients offering an mtDNA blood concentration of >650 copies/ μ L after the commencement of CPB had a 5-fold higher risk for postoperative atrial fibrillation independently of the type of cardiopulmonary bypass. An amount of mtDNA being higher than 650 copies/ μ L showed moderate predictive power (AUROC 0.71 (0.53–0.71)) for the identification of postoperative atrial fibrillation. In conclusion, plasma levels of mtDNA were lower in patients undergoing cardiac surgery with MiECC compared to cCPB. The amount of mtDNA at the beginning of the CPB was associated with postoperative atrial fibrillation independent of the type of cardiopulmonary bypass.

Keywords: cardiac surgery; DAMPs; SIRS; inflammation; coronary artery bypass graft

1. Introduction

Over the past decades, cardiac surgery has undergone a continuous evolution regarding the optimization of surgical, anesthesiologic, and perfusion techniques. Still, the majority of cardiac surgery has to be performed with the use of a cardiopulmonary bypass (CPB) in order to guarantee sufficient perfusion, oxygenation, and decarboxylation of the body. Several technical upgrades have been introduced to improve the safety and efficiency of conventional CPB (cCPB) systems [1,2]. Nevertheless, the introduction of the minimized extracorporeal circulation (MiECC) has gained widespread interest due to its protective effect on myocardial, renal, and neurological functions [3–5]. MiECC is mainly defined as a closed circulatory system with a reduced priming volume containing biologically inert blood contact surfaces [1]. As a result of the minimization of the cardiopulmonary circuit, recirculation and blood–air contact are efficiently minimized, leading to a decrease in blood lysis and inflammation [6]. For example, the MiECC-induced extent of interleukin-6 (IL-6) release can be compared to off-pump cardiac surgery [7–9].

However, even though it is a reasonable target of interest, it remains unknown if the release of free-circulating mitochondrial DNA (mtDNA) differs after MiECC, respective to cCPB. It is well-described that mtDNA acts as a damage-associated molecular pattern (DAMP) and is therefore closely connected to an activation of the inflammatory and coagulatory response [10,11]. During cardiac surgery, mtDNA activates toll-like receptor 9, which in turn plays a pivotal role in neutrophil and platelet activation [12–14]. It is released by various cells such as the endothelium and neutrophils, and is therefore part of the innate immune response. Further, mtDNA contributes to the formation of neutrophil extracellular traps [10,11]. Caused by its broad physiologic function during inflammatory conditions, increased levels of mtDNA have already been connected to sepsis, trauma, and malignant diseases [10,15,16]. Moreover, cardiac surgical patients suffering from a systemic inflammatory reaction showed an elevation of mtDNA in their peripheral blood, which might be associated with a higher incidence of postoperative atrial fibrillation (POAF) [13,17,18].

Since MiECC reduces the severity of the CPB-induced inflammatory reaction, it can be assumed that it is also associated with a decrease in mtDNA release. For this reason, we hypothesized that the amount of free-circulating mtDNA is higher in patients undergoing cCPB compared to MiECC. Secondary aims of this study are the identification of potential associations between the amount of mtDNA and the occurrence of common adverse events after cardiac surgery (infections, readmission to the intensive care unit (ICU), acute kidney injury (AKI), and POAF).

2. Experimental Section

2.1. Study Design

Due to a lack of pre-existing data on mtDNA release during MiECC, this study was designed as an explorative study and was therefore performed as a secondary analysis, based on a single-center, prospective, interventional study. The primary study included 90 patients, of which 45 patients were hemodynamically optimized with a goal-directed treatment protocol. To exclude a therapeutic effect of the hemodynamic intervention, the present study analysis included only the non-interventional patients of the primary study ($n = 45$).

All patients received coronary artery bypass graft (CABG) surgery at the University Hospital of Giessen. The local ethics committee approved the primary study as well as the secondary data analysis (Justus-Liebig-University of Giessen; trial code: 30/16; approval of amendment on 18 July 2018). The primary study was registered in the German Clinical Trials Register (trial code: DRKS00010959). Both the original study and its secondary analysis were performed in accordance with the Helsinki Declaration, and all methods and results are presented in accordance with the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) guidelines.

Between September 2016 and December 2018, all consecutive patients of legal age who were scheduled for elective CABG surgery were enrolled in the study. All patients signed informed consent forms. Exclusion criteria included severe arrhythmia, severe heart or renal failure (left ventricular function $\leq 30\%$, Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) stadium >2 , respectively [19]), current pregnancy or nursing, simultaneous participation in other interventional studies, history of autoimmune or infectious diseases, and the need for immunomodulatory medication.

The primary study goal objective was to quantify the amount of free-circulating mtDNA quantified by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Secondary outcome parameters included ICU readmission, postoperative infections (defined as pneumoniae, catheter-related bloodstream infections, and urogenital infections), POAF, and AKI (defined as $\geq$ stage II by the definition of KDIGO [19]).

2.2. Management of Cardiopulmonary Bypass

The non-interventional study patients received standard anesthetic induction with sufentanil (0.25–0.5 $\mu\text{g/kg}$), etomidate (0.1–0.2 mg/kg), and pancuronium (0.05–0.1 mg/kg), while narcosis was maintained with propofol (3 mg/kg/h) and sufentanil (0.3–1 $\mu\text{g/kg/h}$). Central venous access was implemented into the internal jugular vein, while the radial artery was used for blood pressure monitoring.

Both cCPB and MiECC were based on the S5 Heart-Lung Machine (LivaNova, London, UK) with a membrane oxygenator (CAPIOX[®] FX 15 Oxygenator (Terumo, Tokyo, Japan) for MiECC and an Inspire[®] 6 F Oxygenator (LivaNova, London, UK) for cCPB, respectively), and an in-house specific perfusion tubing system (LivaNova, London, UK). For cCPB, a roller pump and an additional reservoir (both LivaNova, London, UK) were used, while MiECC was run with a centrifugal pump and without a reservoir or hemofilter. Priming solution was produced with 1 L of crystalloid (Sterofundin Iso[®], Braun, Melsungen, Germany), 250 mL of mannitol 15% (Seraq-Wiessner, Naila, Germany), and 50 mL of albumin 20% (CSL Behring, Marburg, Germany). While 10,000 I.U. of heparin were added to the solution for MiECC, only 2500 I.U. were necessary for cCPB.

2.3. Sample Processing

Blood was collected at six time points: immediately after induction of anesthesia (T1); 15 (T2) and 60 (T3) minutes after the commencement of CPB, respectively; and 15 (T4) and 120 (T5) minutes after the end of CPB. Last, blood was drawn with the routine laboratory controls at the early morning of the first postoperative day (T6). Blood was collected in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes (approximately 20 mL) by using the arterial line. Plasma samples were stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ and were only thawed once for analyses of the primary study. Clinical and laboratory data were obtained from the patient data management system (IMESO GmbH, Giessen, Germany).

2.4. Quantitative Polymerase Chain Reaction

MtDNA encoding for NADH dehydrogenase 1 (ND1) displays a well-described mitochondrial target gene and has already been used as a surrogate marker for the description of mitochondrial damage, and was, therefore, chosen as the target for this secondary analysis [20–23].

Quantification of ND1 mtDNA was performed by quantitative PCR (qPCR), as previously described [20,23,24]. First, EDTA tubes were centrifuged to separate the plasma (200 g, for 10 min at room temperature), followed by a 1:1 dilutional step (each 100 μL plasma and phosphate-buffered saline (PBS)) and centrifugation at 5000 g (10 min at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$). The supernatant was frozen at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. After thawing, a commercial purification kit was used for purification of mtDNA according to the manufacturer's instructions (QIAquick PCR Purification Kit, Qiagen, Venlo, Netherlands). Before qPCR analysis, the samples were diluted 1:20 with nuclease-free, deionized-distilled H_2O . A StepOnePlus cycle (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) was used for all samples. The ND1 mtDNA primers used

were as follows: “ND1 mtDNA FW: 5'-CCA CCT CTA GCC TAG CCG TTT A-3'” and “ND1 mtDNA RW: 5'-GGG TCA TGA TGG CAG GAG TAA T-3'” (synthesized by Eurofins, Luxembourg, Luxembourg).

Mean values of triplicate measurements were calculated for further analysis. As previously described, standard curves were used to convert the results to copies/ μ L [25]. Standard curves were generated with a plasmid containing human ND1 mtDNA (OriGene Technologies, Rockville, MD, USA) and by the calculation of the number of plasmid copies with a spectrophotometer (NanoDrop 2000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Serial dilutions of the corresponding copy number of plasmids (30–300,000 copies per PCR reaction) were used.

2.5. Statistical Analysis

Median and interquartile range (IQR) were used for the description of non-parametric data. To reflect the high variance of data, further analyses were carried out based on the logarithmized data set. General differences in mtDNA quantities were calculated by ANOVA, followed by Tukey's HSD test for the detection of statistically relevant changes between the study groups with respect to the blood sampling time points. A p -value of $p < 0.05$ was considered as statistically significant.

Correlations between mtDNA levels and various parameters were analyzed by linear regression analysis. Outcome parameters were assessed over all time points and at the single time points. Cut-off values for the amount of mtDNA were determined by analysis of the area under the receiver operating curve (AUROC). The resulting cut-off values were subsequently assessed with Fisher's exact test to define the odds ratios, sensitivity, and specificity. Experimental data, laboratory routine data, and clinical data were stored in an external database (Microsoft Excel, Redmond, WA, USA). Data were analyzed using statistical software R version 4.0.4 (www.r-project.org, accessed on 15 February 2021).

3. Results

A total of 45 patients were included in the analysis, of which 23 underwent cCPB and 22 MiECC, respectively. General characteristics are shown in Table 1. Regarding their general characteristics, no significant differences could be detected between the study groups.

Table 1. General characteristics.

Parameters	MiECC	cCPB	All Patients
Age (Years)	62 (56–70)	67 (59–73)	65 (57–73)
Male Sex	21/22 (95.5)	17/23 (73.9)	38/45 (84.4)
BMI (kg/m^2)	29 (28–31)	28 (24–32)	29 (25–32)
EuroSCORE	0.88 (0.72–1.25)	0.99 (0.74–1.2)	0.96 (0.73–1.24)
Pre-existing Diseases			
Angina Pectoris	15/22 (68.1)	15/23 (65.2)	30/45 (66.7)
Arterial Hypertension	21/22 (95.5)	19/23 (82.2)	40/45 (88.9)
Acute Myocardial Infarction	3/22 (13.6)	5/23 (21.7)	8/45 (17.8)
Myocardial Infarction Within the Last 90 Days Prior to Surgery	3/22 (13.6)	8/23 (34.8)	11/45 (24.4)
Concurrent Valvular Disease	6/22 (27.2)	1/23 (4.3)	7/45 (15.6)
Stroke	2/22 (9.1)	3/23 (13.0)	5/45 (11.1)
Chronic Kidney Disease	1/22 (4.5)	3/23 (13.0)	4/45 (8.9)
Diabetes	9/22 (40.9)	6/23 (26.1)	15/45 (33.3)
Chronic Obstructive Pulmonary Disease	2/20 (10.0)	2/23 (8.7)	4/45 (8.9)
Smoker	12/22 (54.5)	14/23 (60.9)	26/45 (57.8)
Alcohol Abuse	6/22 (27.3)	8/23 (34.8)	14/45 (31.3)

Table 1. Cont.

Parameters	MiECC	cCPB	All Patients
Process Times			
Duration of Anesthesia (min)	275 (251–322.0)	279.8 (248.5–320.3)	277.4 (249.5–321.6)
Duration of CPB (min)	83 (68–103)	90 (70–110)	85 (68–107)
Duration of Invasive Ventilation (h)	13.8 (10–16.7)	11.2 (9.4–15.3)	12.5 (9.6–16.5)

Description of the study cohorts. The figures are presented as medians and IQRs (Q25–Q75) or as the number of cases, both the total number and percentage [n/n total (%)] of the study group. The column “All patients” demonstrates the characteristics of all included study patients. Abbreviations: BMI: Body mass index; CPB: Cardiopulmonary bypass. Abbreviations: BMI = Body Mass Index; CPB = Cardiopulmonary Bypass; IQR = Interquartile Range; MiECC = Minimized Extracorporeal Circulation.

3.1. Quantification of Free-Circulating ND1 mtDNA Plasma Levels

3.1.1. Time Course

The amount of free-circulating mtDNA rose quickly after the commencement of CPB and significantly peaked 60 min later (Figure 1; Table 2, T1 vs. T2: $p < 0.001$; T1 vs. T3: $p < 0.001$; T2 vs. T3: $p = 0.006$). After completion of CPB, plasma levels of mtDNA decreased rapidly and reached the level of preoperative values again (Figure 1; Table 2, T3 vs. T4: $p < 0.001$; T3 vs. T5: $p < 0.001$; T3 vs. T6: $p < 0.001$; T1 vs. T4, T5, and T6: $p = 0.88$).

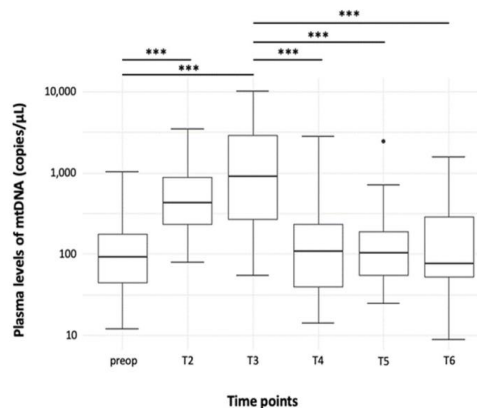


Figure 1. Time course of the amount of mtDNA in peripheral plasma probes (independently of the study group). Results are shown in boxplot diagrams. The black dot at T5 represents an outlier. Asterisks display the degree of statistical significance: ***: $p < 0.001$. Abbreviations: mtDNA: Mitochondrial DNA.

Table 2. Amount of plasma levels of mtDNA.

Time Points	Plasma Levels of mtDNA (copies/ μ L)		
	MiECC	cCPB	All patients
Preoperative (T1)	68.2 (26.5–104.9)	152.5 (80.9–207.6)	91.1 (44.8–175.1)
15 Minutes after Start of CPB (T2)	316.4 (184.2–683.8)	673.0 (334.9–1111.2)	431.7 (235.5–882.4)
60 Minutes after Start of CPB (T3)	536.5 (215.7–919.6)	1818.0 (844.2–3932.2)	904.8 (266.2–2909.3)
15 Minutes after End of CPB (T4)	59.2 (33.2–151.7)	155.0 (79.0–361.8)	108.3 (40.0–232.1)
120 Minutes after End of CPB (T5)	74.6 (52.9–173.0)	124.0 (66.9–182.4)	104.1 (55.6–191.9)
First Postoperative Day (T6)	122.6 (52.6–305.9)	72.9 (56.1–196.6)	75.9 (52.6–287.4)

Results of the quantification of plasma levels of mtDNA. Data are shown as medians and IQRs (Q25–Q75). The column “All patients” demonstrates the plasma mtDNA levels of all included study patients. Abbreviations: CPB: Cardiopulmonary Bypass; mtDNA: Mitochondrial DNA.

3.1.2. Comparison of mtDNA Levels between MiECC and cCPB

Overall, the plasma amount of mtDNA was significantly lower in patients undergoing cardiac surgery with MiECC compared to cCPB (Figure 2, MiECC: 161.8 (65.5–501.9); cCPB 190.8 (82–705.7); $p < 0.001$).

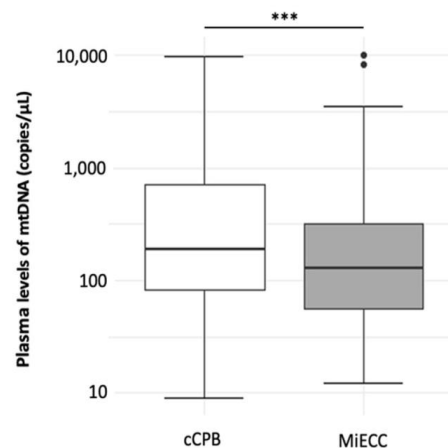


Figure 2. Comparison of both study groups (all time points summarized). Results are shown in boxplot diagrams. Black dots represent outliers. Asterisks display the degree of statistical significance: ***: $p < 0.001$. Abbreviations: cCPB: conventional Cardiopulmonary Bypass; MiECC: Minimized Extracorporeal Circulation.

Plasma levels of mtDNA showed comparable courses in both study groups and peaked during CPB (Figure 3; Table 2, MiECC: T1 vs. T2: $p < 0.001$; T1 vs. T3: $p < 0.001$; T3 vs. T4: $p < 0.001$; T3 vs. T5: $p < 0.001$; T3 vs. T6: $p < 0.01$; cCPB: T1 vs. T2: $p < 0.001$; T1 vs. T3: $p < 0.001$; T2 vs. T4: $p < 0.01$; T3 vs. T4: $p < 0.001$; T3 vs. T5: $p < 0.001$; T3 vs. T6: $p < 0.001$). Even though the amount of mtDNA tended to be lower in patients with MiECC, the difference with cCPB failed to reach statistical significance in the single time point analysis.

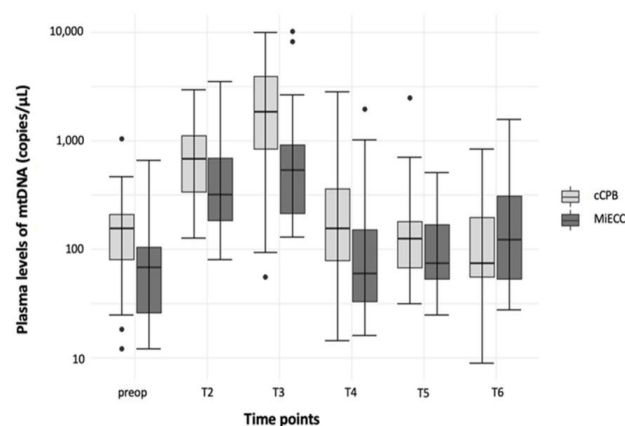


Figure 3. Time course of mtDNA plasma levels depending on the study groups. Results are shown in boxplot diagrams. Black dots represent outliers. Abbreviations: cCPB: conventional Cardiopulmonary Bypass; MiECC: Minimized Extracorporeal Circulation; mtDNA: mitochondrial DNA.

3.2. Correlations between Plasma Free-Circulating ND1 mtDNA Levels and Inflammatory and Ischemic Parameters

Overall, the amount of mtDNA did not correlate with the inflammatory parameters C-reactive protein (CRP), procalcitonin, leukocyte count, and fibrinogen (data not shown).

The duration of the CPB was positively correlated with the amount of plasma levels of mtDNA during CPB (T2 and T3), but just very narrowly failed to reach statistical significance (Figure 4A, correlation coefficient = 0.3; adjusted r^2 : 0.09; p = 0.051).

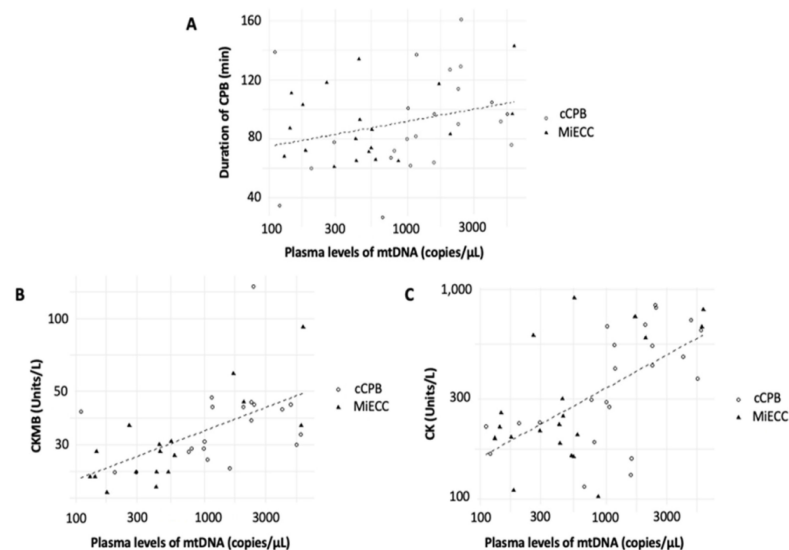


Figure 4. Scatter plot demonstrating the association between the amount of mtDNA and the duration of CPB (A), the postoperative blood levels of CKMB (B) and CK (C), respectively. Abbreviations: CPB: Cardiopulmonary Bypass; cCPB: conventional Cardiopulmonary Bypass; CK: Creatinine Kinase; CKMB: Creatine Kinase Myocardial Band; MiECC: Minimized Extracorporeal Circulation; mtDNA: mitochondrial DNA.

Further, a significant positive correlation between the amount of CPB-associated mtDNA release (T2 and T3) and the postoperative levels of creatinine kinase (CK) and the creatine kinase myocardial band (CKMB) was found (Figure 4B,C, CKMB: correlation coefficient: 0.47; adjusted r^2 : 0.20; p < 0.01; CK: correlation coefficient: 0.61; adjusted r^2 : 0.3; p < 0.001). However, the amount of mtDNA during CPB was not associated with postoperative troponin levels (correlation coefficient: 0.24; adjusted r^2 : 0.06; p = 0.13).

3.3. Correlations between Plasma Free-Circulating ND1 mtDNA Levels and Outcome Parameters

The incidence of adverse outcomes did not differ between the study groups (Table 3). In summary, the cumulated amount of plasma mtDNA over all time points did not reveal an association with any of the outcome parameters (data not shown). However, the ROC analysis of the strongly elevated values after the beginning of CPB (T2) offered a possible cutoff at 644 copies/mL (close to the mean amount of mtDNA of 637.2 copies/mL) with an AUC of 0.63. With the dichotomized variable of mtDNA being higher or lower than the rounded 650 copies/mL, being the sufficient prediction of POAF with an AUROC of 0.71 (0.53–0.71), a specificity of 67% and sensitivity of 75% was reached, respectively. By taking this into account, further analysis showed that patients whose mtDNA levels peaked above 650 copies/μL at time point 2 had a 5-fold higher risk for the development of POAF, whereas this threshold did not show any predictability for complications other than POAF (Table 3).

Table 3. Association between outcome parameters and mtDNA plasma concentrations.

Outcome Parameter	Incidence of Outcome Parameter per Study Group	mtDNA > 650 Copies/ μ L		
		2 $\times$ 2 Contingency Table	Odds Ratio [CI]	p-Value
Acute Kidney Injury	MiECC 3/22 cCPB 1/23	yes 3/4 (75%) no 15/40 (38%)	4.82 (0.35–272.3)	0.29
ICU Readmission	MiECC 2/22 cCPB 1/23	yes 0/3 (0%) no 18/41 (44%)	0 (0–3.46)	0.26
POAF	MiECC 3/22 cCPB 5/23	yes 6/8 (75%) no 12/36 (33%)	5.74 (0.86–66.6)	0.048
Postoperative Infections	MiECC 2/22 cCPB 3/23	yes 2/5 (40%) no 16/39 (41%)	0.96 (0.07–9.41)	1

Outcome parameter analysis at time point 2. Based on the ROC analysis, the cut-off value of 650 copies/ μ L has been chosen. Incidence is given in the number and percentage of patients with mtDNA higher than the cut-off versus the number of patients per group (outcome yes/no). Data are shown as odds ratios and confidence intervals (CI). Blood collection was missing in one patient at this time point, so therefore, the total number of patients for the examination of mtDNA thresholds is 44. Abbreviations: POAF = postoperative atrial fibrillation.

4. Discussion

The release of mtDNA has been connected to several disease entities such as sepsis, surgical trauma, and, in particular, to cardiac surgery [10,13,26]. Nevertheless, its role in cardiac surgery has been investigated by only a limited number of studies, of which none included patients undergoing CPB with MiECC [12,13,17,18,27].

Here, the time course of mtDNA release began with a strong increase directly after the commencement of CPB, followed by a significant decrease after the end of CPB, independent of the type of CPB. While the absolute plasma levels of mtDNA during cCPB were comparable with other studies investigating CABG patients, the kinetics differed from some studies [17,18]. Nevertheless, they were also aggregable with another investigation [28]. The studies by Qin et al., also showed an early mtDNA release, which, however, did not peak until 12 h after surgery [17,18]. At that time point, the plasma levels of mtDNA almost normalized in our study population. Work conducted by Sandler et al., showed an even later increase on the first postoperative day. However, since they used mtDNA encoding for human cytochrome B, their study results are hardly comparable to ours [13]. On the other hand, analogous to our findings, Baysa et al., reported an early mtDNA peak already occurring 20 min after the start of CPB, indicating that the CPB is mainly responsible for the mtDNA increase [28]. From a physiological point of view, a rapid decrease in mtDNA after the end of CPB is explainable given its fast degradation [29–31]. However, it has to be emphasized that the degradation of mtDNA during stress responses is not well understood, and the underlying data is derived mainly from animal experiments [29,30]. In particular, the potential influence of the CPB on mtDNA integrity has not yet been investigated. Furthermore, these contrasting results could also be explained by other reasons. First, it must be noticed that a direct comparison of mtDNA plasma levels remains challenging due to a lack of standardization. Most studies use methods for relative quantification of mtDNA [12,13] while our study performed an absolute measurement by using plasmid-based qPCR. Second, it is still under discussion whether the surgical incision, specifically the sternotomy, might also contribute to mtDNA release. For example, Naase et al., were able to detect a 19-fold increase in circulating plasma mtDNA after sternotomy in a rodent model [12]. Different surgical techniques might therefore have contributed to a stronger mtDNA release in our study cohort. Third, no details on the used CPB techniques have been reported in previous studies, which might have influenced the amount of released mtDNA. For example, the use of a hemofilter could influence the quantified amount of mtDNA during the CPB. Last, even though both studies by Qin et al., also investigated mtDNA encoding for ND1, they also included only a limited number of patients (38 and 68 patients, respectively) [17,18]. This displays a problem when it comes to biomarkers with a high degree of data variance, as we have observed in our measurements. As a consequence, a high number of patients are necessary to define normal values and kinetics [32,33]. Further,

it might limit the mtDNA's predictive power (e.g., as a biomarker for the prediction of POAF) because a high variance in data points can lead to a reduced specificity, which is well known from sepsis research, for example [32,33].

This study was able to confirm its main hypothesis by showing that the amount of free-circulating mtDNA was higher in patients undergoing cCBP compared to MiECC. To the knowledge of the authors, it is the first to describe this effect of MiECC. However, this finding was only verifiable in the pooled data of all time points. Although the single time point analyses showed a trend toward reduced mtDNA release, the level of statistical significance was not reached. This might be caused for two reasons. First, since this study was designed as an explorative study, a secondary analysis of a pre-existing study was used for data analysis. To exclude potential bias from the study, the investigators chose to eliminate the interventional study group of the primary study, which has been hemodynamically optimized with a goal-directed treatment protocol. As a consequence, the reduced study population might have caused the lacking statistical significance. Second, as mentioned above, the amount of measured mtDNA varied highly with a high proportion of overlapping interquartile ranges. This is particularly remarkable at the preoperative time point because the median of MiECC is lower compared to cCBP, whereas its interquartile range exceeds the corresponding values of cCBP. Further, it must be recognized that patients who suffered from a myocardial infarction immediately or in the last 90 days before surgery were more prevalent in the cCPB group. Even though, the EuroSCORE and other pre-existing diseases did not differ significantly between the study groups, the acute inflammatory state associated with myocardial infarctions might explain the preoperative elevation of mtDNA levels in the cCPB group (which, however, did not reach statistical significance). Nevertheless, these results are supported by studies investigating other inflammatory cytokines and DAMPs. The majority of relevant studies showed an MiECC-induced decrease in inflammatory reactions, which was quantified with various inflammatory biomarkers [6]. For example, Mazzei et al., and Formica et al., showed that the postoperative amount of IL-6, particularly inflammatory patterns of endothelial activation, did not differ between MiECC and off-pump cardiac surgery [7,8]. On the other hand, one randomized controlled trial was not able to identify an MiECC-associated reduction in IL-6, while another revealed an MiECC-induced increase in IL-6 after the first 24 postoperative hours [34,35]. In sum, it is still under discussion whether the proposed anti-inflammatory effects, which are also supported by this study, are relevant to the patients' outcome.

For this reason, this study aimed, with its secondary hypothesis, to identify potential relations between the amount of mtDNA and commonly assessed outcome parameters in cardiac surgery. This study showed neither a connection between the mtDNA plasma concentration and AKI nor postoperative infections, particularly the readmission rate to the intensive care unit. While the analysis of all time points also did not show a relationship between the levels of mtDNA and POAF, the single time point analysis revealed a significant association with POAF at the early stage of CPB that was independent of the study group. In detail, the risk for POAF was a 5-fold increase when the amount of mtDNA was raised above 650 copies/ μ L. At this time point, the concentration of mtDNA offered moderate predictive power for the detection of POAF, which is in line with other studies [13,36]. Nevertheless, it must be interpreted with caution because the odd's ratio's confidence interval was high because of the above-mentioned high variance of the data and the limited number of included patients. Further, it must be emphasized that this study was not planned for outcome analysis and might therefore be underpowered. However, this result is supported by the study of Sandler et al., who showed with an even smaller number of included patients a connection between mtDNA release and POAF ($n = 16$, [13]). The only available observational study with a higher number of patients ($n = 485$) investigated off-pump cardiac surgery and is therefore hardly comparable [36]. Because of the fact that no CPB was applied during off-pump surgery, the absolute amount of the mtDNA was much lower than in our study, and moreover, another primer was used for qPCR. Nevertheless,

even though this study showed only a minor increase in mtDNA, it still offered comparable predictive value for the identification of POAF, supporting our study results (AUROC 0.81; specificity 80.2%; sensitivity 70.3%). However, a recent study that investigated the mtDNA concentration in the blood and pericardial fluid was not able to identify plasma mtDNA as a risk factor for POAF [37]. Interestingly, in this study, patients with POAF presented a significantly higher amount of mtDNA in the pericardial fluid, indicating that it might contribute to the development of cardiac inflammation and consecutive POAF. In contrast, recent studies indicated that mtDNA originates from stressed atrial cardiomyocytes [38,39]. However, this question must be further investigated because it seems that the mtDNA release is also associated with myocardial damage, as indicated by its positive correlation with the postoperative concentration of CK and CKMB in our study. Since our results also hint toward a CPB-time-dependent increase in mtDNA plasma levels, a combination of surgery- and CPB-associated inflammatory reactions with consecutive mtDNA releases seems possible. It will be of high interest to clarify the source of mtDNA in order to evaluate its use as a prognostic biomarker of POAF. Further, the different types of cardiac surgery including MiECC, cCPB, and off-pump techniques must be considered.

This study features some limitations. First, due to its study design as a secondary analysis, no sample size calculation was feasible, which might have led to underpowered study results, particularly regarding the difference between cCPB and MiECC at the single time points. Second, this study is an explorative study, indicating that no conclusions can be drawn regarding the underlying mechanisms of the mtDNA release. Third, even though the surgical and anesthetic management are highly standardized, it cannot be ruled out that individual deviations in this management might have influenced the study results. Fourth, the study groups differed regarding the number of patients suffering from a myocardial infarction recently or in the last 90 days before surgery, with a higher prevalence in the cCPB study group. Since myocardial infarction leads to a high degree of cell damage and inflammation, it might have influenced the preoperative levels of mtDNA in the cCPB study group. Due to the design of the study, this bias could not be excluded, but it should be ruled out in future studies. Last, it has to be considered that mtDNA can also be released by arteriosclerosis itself [40]. It must be questioned to what degree it might influence mtDNA release during CPB. The assumption of an influence of arteriosclerosis might explain the high variance in the measured mtDNA results, especially at the preoperative time point. It might also impact the predictive value of mtDNA because the arteriosclerosis-induced mtDNA release could lead to a high sensitivity but low specificity.

5. Conclusions

First, this study was able to show that the overall amount of mtDNA plasma levels was lower in patients undergoing cardiac surgery with MiECC compared to those with cCPB. Even though this trend was also visible in the single time point analysis, this study failed to reach statistical significance due to a high variance in its data and a limited number of included patients. Second, this study identified a positive correlation of the amount of mtDNA with the duration of CPB and postoperative myocardial injury in terms of the increase in CK and CKMB. Last, the early increase in mtDNA after the commencement of the CPB was associated with POAF. At this time point, the amount of mtDNA showed moderate predictive power for the detection of POAF.

Author Contributions: Conceptualization: T.Z., E.S., F.E., C.K., M.H. and M.S.; methodology: T.Z., F.E., E.S., J.S. and C.K.; software: M.M. and G.S.; validation: T.Z., E.S., C.K., A.B. and M.S.; formal analysis: E.S., G.S. and M.M.; investigation: E.S., T.Z., J.S., M.H. and C.K.; resources: E.S. and C.K.; data curation: E.S. and M.M.; writing—original draft preparation: T.Z., E.S. and C.K.; writing—review and editing: T.Z., E.S. and C.K.; visualization: E.S. and M.M.; supervision: A.B. and M.S.; project administration: T.Z., E.S. and C.K.; funding acquisition: T.Z. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Funding from a cooperative contract with the University Hospital of Giessen (18/2016GI, Förderung nach Kooperationsvertrag UKGM).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the ethics committee of the Justus-Liebig-University of Giessen (trial code: 30/16; approval of amendment on 18 July 2018).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Anastasiadis, K.; Murkin, J.; Antonitsis, P.; Bauer, A.; Ranucci, M.; Gygax, E.; Schaarschmidt, J.; Fromes, Y.; Philipp, A.; Eberle, B.; et al. Use of minimal invasive extracorporeal circulation in cardiac surgery: Principles, definitions and potential benefits. A position paper from the Minimal Invasive Extra-Corporeal Technologies international Society (MiECTIS). *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* **2016**, *22*, 647–662. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Anastasiadis, K.; Antonitsis, P.; Asteriou, C.; Deliopoulos, A.; Argiriadou, H. Modular minimally invasive extracorporeal circulation ensures perfusion safety and technical feasibility in cardiac surgery: A systematic review of the literature. *Perfusion* **2021**. online ahead of print. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Diez, C.; Haneya, A.; Brünner, F.; Philipp, A.; Hirt, S.; Ruppel, L.; Kobuch, R.; Keyser, A.; Hilker, M.; Puehler, T.; et al. Minimized extracorporeal circulation cannot prevent acute kidney injury but attenuates early renal dysfunction after coronary bypass grafting. *ASAIO J.* **2009**, *55*, 602–607. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Zangrillo, A.; Garozzo, F.A.; Biondi-Zoccai, G.; Pappalardo, F.; Monaco, F.; Crivellari, M.; Bignami, E.; Nuzzi, M.; Landoni, G. Miniaturized cardiopulmonary bypass improves short-term outcome in cardiac surgery: A meta-analysis of randomized controlled studies. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **2010**, *139*, 1162–1169. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Anastasiadis, K.; Antonitsis, P.; Haidich, A.-B.; Argiriadou, H.; Deliopoulos, A.; Papakonstantinou, C. Use of minimal extracorporeal circulation improves outcome after heart surgery: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int. J. Cardiol.* **2013**, *164*, 158–169. [\[CrossRef\]](#)
6. Ranucci, M.; Baryshnikova, E. Inflammation and coagulation following minimally invasive extracorporeal circulation technologies. *J. Thorac. Dis.* **2019**, *11*, S1480–S1488. [\[CrossRef\]](#)
7. Mazzei, V.; Nasso, G.; Salamone, G.; Castorino, F.; Tommasini, A.; Anselmi, A. Prospective randomized comparison of coronary bypass grafting with minimal extracorporeal circulation system (MECC) versus off-pump coronary surgery. *Circulation* **2007**, *116*, 1761–1767. [\[CrossRef\]](#)
8. Formica, F.; Mariani, S.; Broccoli, F.; Caruso, R.; Corti, F.; D'Alessandro, S.; Amigoni, P.; Sangalli, F.; Paolini, G. Systemic and myocardial inflammatory response in coronary artery bypass graft surgery with miniaturized extracorporeal circulation: Differences with a standard circuit and off-pump technique in a randomized clinical trial. *ASAIO J.* **2013**, *59*, 600–606. [\[CrossRef\]](#)
9. Winkler, B.; Heinisch, P.P.; Gahl, B.; Aghlmandi, S.; Jenni, H.J.; Carrel, T.P. Minimally invasive extracorporeal circulation circuit is not inferior to off-pump coronary artery bypass grafting: Meta-analysis using the Bayesian method. *Ann. Thorac. Surg.* **2017**, *103*, 342–350. [\[CrossRef\]](#)
10. Denning, N.L.; Aziz, M.; Gurien, S.D.; Wang, P. DAMPs and NETs in Sepsis. *Front. Immunol.* **2019**, *10*, 2536. [\[CrossRef\]](#)
11. Supinski, G.S.; Schroder, E.A.; Callahan, L.A. Mitochondria and critical illness. *Chest* **2020**, *157*, 310–322. [\[CrossRef\]](#)
12. Naase, H.; Harling, L.; Kidher, E.; Sepehrpour, A.; Nguyen, B.; Kapelouzou, A.; Cokkino, D.; Stavridis, G.; Angelini, G.; Evans, P.C.; et al. Toll-like receptor 9 and the inflammatory response to surgical trauma and cardiopulmonary bypass. *J. Cardiothorac. Surg.* **2020**, *15*, 137. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Sandler, N.; Kaczmarek, E.; Itagaki, K.; Zheng, Y.; Otterbein, L.; Khabbaz, K.; Liu, D.; Senthilnathan, V.; Gruen, R.L.; Hauser, C.J. Mitochondrial DAMPs are released during cardiopulmonary bypass surgery and are associated with postoperative atrial fibrillation. *Heart. Lung Circ.* **2017**, *29*, 697. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Mallavia, B.; Liu, F.; Lefrançois, E.; Cleary, S.J.; Kwaan, N.; Tian, J.J.; Magnen, M.; Sayah, D.M.; Soong, A.; Chen, J.; et al. Mitochondrial DNA stimulates TLR9-dependent neutrophil extracellular trap formation in primary graft dysfunction. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **2020**, *62*, 364–372. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Jansen, M.P.B.; Pulsken, W.P.; Butter, L.M.; Florquin, S.; Juffermans, N.P.; Roelofs, J.J.T.H.; Leemans, J.C. Mitochondrial DNA is released in urine of SIRS patients with acute kidney injury and correlates with severity of renal dysfunction. *Shock* **2018**, *49*, 301–310. [\[CrossRef\]](#)
16. Zhang, Q.; Raoof, M.; Chen, Y.; Sumi, Y.; Sursal, T.; Junger, W.; Brohi, K.; Itagaki, K.; Hauser, C.J. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature* **2010**, *464*, 104–107. [\[CrossRef\]](#)
17. Qin, C.; Liu, R.; Gu, J.; Li, Y.; Qian, H.; Shi, Y.; Meng, W. Variation of perioperative plasma mitochondrial DNA correlate with peak inflammatory cytokines caused by cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *J. Cardiothorac Surg.* **2015**, *10*, 85. [\[CrossRef\]](#)

18. Qin, C.; Gu, J.; Hu, J.; Qian, H.; Fei, X.; Li, Y.; Liu, R.; Meng, W.; Kirklin, J.; Dushane, J.; et al. Platelets activation is associated with elevated plasma mitochondrial DNA during cardiopulmonary bypass. *J. Cardiothorac. Surg.* **2016**, *11*, 90. [\[CrossRef\]](#)
19. Levey, A.S.; Eckardt, K.-U.; Dorman, N.M.; Christiansen, S.L.; Hoorn, E.J.; Ingelfinger, J.R.; Inker, L.A.; Levin, A.; Mehrotra, R.; Palevsky, P.M.; et al. Nomenclature for kidney function and disease: Report of a kidney disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Consensus Conference. *Kidney Int.* **2020**, *97*, 1117–1129. [\[CrossRef\]](#)
20. McGeachie, M.J.; Johansson, P.I.; Christopher, K.B.; Fredenburgh, L.E.; Choi, A.M.K.; Nakahira, K.; Baron, R.M.; Rogers, A.J.; Harrington, J. Plasma mitochondrial DNA and metabolomic alterations in severe critical illness. *Crit. Care* **2018**, *22*, 360.
21. Kraft, B.D.; Chen, L.; Suliman, H.B.; Piantadosi, C.A.; Welty-Wolf, K.E. Peripheral blood mononuclear cells demonstrate mitochondrial damage clearance during sepsis. *Crit. Care Med.* **2019**, *47*, 651–658. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Wu, L.; Xu, W.; Wang, F.; Lv, T.; Yin, Z.; Song, Y. Plasma mtDNA analysis aids in predicting pancreatic necrosis in acute pancreatitis patients: A pilot study. *Dig. Dis. Sci.* **2018**, *63*, 2975–2982. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Schneck, E.; Edinger, F.; Hecker, M.; Sommer, N.; Pak, O.; Weissmann, N.; Hecker, A.; Reichert, M.; Markmann, M.; Sander, M.; et al. Blood levels of free-circulating mitochondrial DNA in septic shock and postsurgical systemic inflammation and its influence on coagulation: A secondary analysis of a prospective observational study. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 2056. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Nakahira, K.; Kyung, S.Y.; Rogers, A.J.; Gazourian, L.; Youn, S.; Massaro, A.F.; Quintana, C.; Osorio, J.C.; Wang, Z.; Zhao, Y.; et al. Circulating mitochondrial DNA in patients in the ICU as a marker of mortality: Derivation and validation. *PLoS Med.* **2013**, *10*, e1001577. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Chiu, R.W.K.; Chan, L.Y.S.; Lam, N.Y.L.; Tsui, N.B.Y.; Ng, E.K.O.; Rainer, T.H.; Lo, Y.M.D. Quantitative analysis of circulating mitochondrial DNA in plasma. *Clin. Chem.* **2003**, *49*, 719–726. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Hu, Q.; Ren, J.; Wu, J.; Li, G.; Wu, X.; Liu, S.; Wang, G.; Gu, G.; Li, J. Elevated levels of plasma mitochondrial DNA Are associated with clinical outcome in intra-abdominal infections caused by severe trauma. *Surg. Infect.* **2017**, *18*, 610–618. [\[CrossRef\]](#)
27. Qin, C.; Gu, J.; Qian, H.; Meng, W. Analysis of circulatory mitochondrial DNA level after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass and potential prognostic implications. *Indian Heart J.* **2016**, *68*, 389–390. [\[CrossRef\]](#)
28. Baysa, A.; Fedorov, A.; Kondratov, K.; Ruusalepp, A.; Minasian, S.; Galagudza, M.; Popov, M.; Kurapeev, D.; Yakovlev, A.; Valen, G.; et al. Release of mitochondrial and nuclear DNA during on-pump heart surgery: Kinetics and relation to extracellular vesicles. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* **2019**, *12*, 184–192. [\[CrossRef\]](#)
29. Trumpff, C.; Michelson, J.; Lagranha, C.J.; Taleon, V.; Karan, K.R.; Sturm, G.; Lindqvist, D.; Fernström, J.; Moser, D.; Kaufman, B.A.; et al. Stress and circulating cell-free mitochondrial DNA: A systematic review of human studies, physiological considerations, and technical recommendations. *Mitochondrion* **2021**, *59*, 225–245. [\[CrossRef\]](#)
30. Zhao, L. Mitochondrial DNA degradation: A quality control measure for mitochondrial genome maintenance and stress response. *Enzymes* **2019**, *45*, 311–341.
31. He, J.; Lu, Y.; Xia, H.; Liang, Y.; Wang, X.; Bao, W.; Yun, S.; Ye, Y.; Zheng, C.; Liu, Z.; et al. Circulating mitochondrial DAMPs are not effective inducers of proteinuria and kidney injury in rodents. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0124469. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Jensen, J.-U.; Bouadma, L. Why biomarkers failed in sepsis. *Intensive Care Med.* **2016**, *42*, 2049–2051. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Pierrakos, C.; Velissaris, D.; Bischoff, M.; Marshall, J.C.; Vincent, J.L. Biomarkers of sepsis: Time for a reappraisal. *Crit. Care* **2020**, *24*, 287. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Gygax, E.; Kaeser, H.-U.; Stalder, M.; Gahl, B.; Rieben, R.; Carrel, T.; Erdoes, G. Type II minimal-invasive extracorporeal circuit for aortic valve replacement: A randomized controlled trial. *Artif. Organs* **2018**, *42*, 620–629. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Kiessling, A.H.; Keller, H.; Moritz, A. prospective, randomized un-blinded three arm controlled study in coronary artery revascularization with minimal invasive extracorporeal circulation systems (MiECC): Surrogate parameter analysis of biocompatibility. *Heart Surg. Forum* **2018**, *21*, E179–E186. [\[CrossRef\]](#)
36. Zhang, J.; Xu, S.; Xu, Y.; Liu, Y.; Li, Z.; Zhang, Y.; Jin, Y.; Xue, X.; Wang, H. Relation of mitochondrial DNA copy number in peripheral blood to postoperative atrial fibrillation after isolated off-pump coronary artery bypass grafting. *Am. J. Cardiol.* **2017**, *119*, 473–477. [\[CrossRef\]](#)
37. Manghelli, J.L.; Kelly, M.O.; Carter, D.I.; Gauthier, J.M.; Scozzi, D.; Lancaster, T.S.; MacGregor, R.M.; Khiabani, A.J.; Schuessler, R.B.; Gelman, A.E.; et al. Pericardial mitochondrial DNA levels are associated with atrial fibrillation after cardiac surgery. *Ann. Thorac. Surg.* **2021**, *111*, 1593–1600. [\[CrossRef\]](#)
38. Wiersma, M.; van Marion, D.M.S.; Bouman, E.J.; Li, J.; Zhang, D.; Ramos, K.S.; Lanters, E.A.H.; de Groot, N.M.S.; Brundel, B.J.J.M. Cell-free circulating mitochondrial DNA: A potential blood-based marker for atrial fibrillation. *Cells* **2020**, *9*, 1159. [\[CrossRef\]](#)
39. Wiersma, M.; van Marion, D.; Wüst, R.C.; Houtkooper, R.H.; Zhang, D.; de Groot, N.; Henning, R.H.; Brundel, B.J. Mitochondrial dysfunction underlies cardiomyocyte remodeling in experimental and clinical atrial fibrillation. *Cells* **2019**, *8*, 1202. [\[CrossRef\]](#)
40. Shemiakova, T.; Ivanova, E.; Wu, W.-K.; Kirichenko, T.V.; Starodubova, A.V.; Orekhov, A.N. Atherosclerosis as mitochondriopathy: Repositioning the disease to help finding new therapies. *Front. Cardiovasc. Med.* **2021**, *8*, 374. [\[CrossRef\]](#)

Article

Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) Plasma Concentration Is Reduced Using Minimized Extracorporeal Circulation: Results of a Secondary Analysis of a Prospective Observational Study

Thomas S. Zajonz, Fabian Edinger , Juliane Götze, Melanie Markmann , Michael Sander , Christian Koch  and Emmanuel Schneck

Department of Anesthesiology, Operative Intensive Care Medicine and Pain Therapy, University Hospital of Giessen and Marburg, Rudolf-Buchheim-Strasse 7, 35392 Giessen, Germany

* Correspondence: fabian.edinger@chiru.med.uni-giessen.de; Tel./Fax: +49-641-985-44401

Abstract

Background: Minimized extracorporeal circulation (miECC) was developed to mitigate the adverse effects of cardiopulmonary bypass (CPB), yet its impact on soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) is unclear. SuPAR has been linked to adverse outcomes, including acute kidney injury (AKI). This study investigated perioperative suPAR kinetics in patients undergoing cardiac surgery with miECC or conventional CPB (cCPB) and explored its association with AKI, postoperative delirium (POD), and infections. **Methods:** This study is a secondary analysis of an observational cohort of 79 cardiac surgical patients. It evaluates perioperative suPAR levels and their association with the type of CPB used (miECC vs. cCPB) and postoperative adverse outcomes, including POD, AKI, and infections. Statistical analyses included repeated measures ANOVA, Wilcoxon tests, logistic regression, and ROC curve analysis to assess the predictive value of suPAR for these outcomes. **Results:** During surgery, suPAR significantly increased to higher levels with the use of cCPB compared to miECC ($p = 0.027$; odds ratio of 0.69 [0.57–0.84], $p < 0.001$). The use of miECC was an independent influencing factor on suPAR (-0.41 ± 0.1 ; $p < 0.001$). Regardless of the type of CPB, suPAR levels differed significantly between patients with and without kidney damage ($n = 25$; no AKI: 1.6 [1.1–2.0], AKI: 1.7 [1.3–2.4], $p < 0.001$). Multivariate regression analysis showed that AKI was an independent influencing factor on suPAR (-0.49 ± 0.1 ; $p < 0.001$). SuPAR demonstrated only low predictive value for AKI and could not predict POD. **Conclusions:** This study provides evidence that miECC is associated with lower intraoperative suPAR levels, suggesting a reduced inflammatory response compared to cCPB. While suPAR levels were significantly higher in patients with AKI, their predictive value for AKI remains limited. Furthermore, suPAR did not predict POD but was elevated in patients with pneumonia.

Keywords: biomarker; risk prediction; renal failure; adverse event; inflammation



Academic Editor: Yasushige Shingu

Received: 16 May 2025

Revised: 10 July 2025

Accepted: 11 July 2025

Published: 16 July 2025

Citation: Zajonz, T.S.; Edinger, F.; Götze, J.; Markmann, M.; Sander, M.; Koch, C.; Schneck, E. Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) Plasma Concentration Is Reduced Using Minimized Extracorporeal Circulation: Results of a Secondary Analysis of a Prospective Observational Study. *J. Clin. Med.* **2025**, *14*, 5020. <https://doi.org/10.3390/jcm14145020>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Background

Cardiopulmonary bypass (CPB) remains an essential technique in cardiac surgery and has undergone continuous optimization over the past decades to reduce its adverse effects on the inflammatory response, coagulation, and organ dysfunction, including acute kidney injury (AKI) and neurological complications [1–3]. To counteract these adverse

effects, minimized extracorporeal circulation (miECC) systems have been introduced. These systems aim to reduce hemodilution, inflammatory activation, and oxidative stress by employing a closed circuit with lower priming volume and reduced foreign surface contact [3]. Despite these theoretical advantages, the impact of miECC on inflammatory biomarkers and clinical outcomes remains an area of ongoing investigation [2,4,5].

Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) has emerged as a promising biomarker reflecting systemic inflammation and immune activation [6]. suPAR is derived from the cleavage of the membrane-bound urokinase plasminogen activator receptor (uPAR) and is involved in various pathological processes, including immune response modulation and tissue remodeling [7]. Elevated suPAR levels have been linked to worse clinical outcomes in a variety of conditions, including sepsis, chronic kidney disease, and cardiovascular diseases [6–10]. Importantly, suPAR has also been proposed as a predictor for AKI, as it reflects both acute and chronic inflammatory activity affecting renal function, particularly after cardiac surgery [8,11].

Given the role of systemic inflammation in postoperative complications, suPAR may also serve as a useful biomarker for other adverse outcomes in cardiac surgery patients. While elevated suPAR levels have already been linked to increased long-term mortality after cardiac surgery [12], their prognostic value for other adverse events, such as infections or postoperative delirium (POD), remains unclear. Furthermore, it has not yet been investigated whether the type of CPB system used during surgery affects suPAR kinetics and, consequently, its prognostic value.

In this study, we investigated the perioperative course of suPAR in patients undergoing cardiac surgery with either miECC or cCPB. The primary objective was to determine whether the use of miECC alters suPAR kinetics compared to cCPB. Additionally, we explored the association between suPAR levels and key postoperative complications, including AKI, delirium, and infections.

2. Methods

2.1. Study Design

This study presents a secondary analysis of an observational study including 100 cardiac surgical patients at the University Hospital of Giessen [13]. It was registered in the German Clinical Trials Register (trial registration: DRKS00010959) and performed with permission of the local ethics committee (Justus Liebig University Giessen, Giessen, Germany; approval number AZ: 30/16). Written informed consent was obtained from all patients. This study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki [14]. The methods and results are presented according to the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) guidelines [15]. Patients were enrolled between September 2016 and January 2020.

2.2. Study Endpoints and Definition of Outcome Parameters

The primary objective of this study was to quantify perioperative suPAR levels and assess the potential impact of the type of CPB used, comparing miECC with cCPB.

The secondary objective was to evaluate the prognostic value of suPAR levels for the occurrence of POD, AKI, and postoperative infections (defined as pneumoniae, catheter-related bloodstream infections, and urogenital infections).

AKI was defined according to the Kidney Disease Improving Global Outcome initiative (KDIGO) [16].

A resident experienced in the applied delirium screening tests conducted the following assessments. Post-extubation patients were monitored for POD over seven days using the ICDSC and CAM-ICU [17,18]. A positive result in either screening tool was considered

indicative of POD. Assessments were performed daily from postoperative day 1 to 7. To minimize bias, all examinations were conducted by a single investigator under the supervision of the principal investigator and attending intensive care physicians. The evaluations were based on ICD-10 criteria [19]. Sedation levels were assessed using the Richmond Agitation-Sedation Scale, and patients with a score of ≤ -2 were excluded from testing and reassessed after four hours.

Infectious complications were identified through the screening of the inflammatory laboratory parameters, microbiological findings, and the attending physician's documentation.

2.3. Patient Recruitment

Patients were recruited between September 2016 and January 2020. Patients were included if elective coronary artery bypass graft (CABG) surgery with postoperative intensive care treatment was performed. Further, inclusion criteria included age ≥ 18 years, elective on-pump CABG surgery, and the ability to communicate in German or English. Patients were excluded in case of missing consent, denial of participation, pregnancy, preoperative atrial fibrillation, severe bradycardia (<60 bpm; types: sinus bradycardia, atrial fibrillation with low frequency, nodal rhythm, and second- or third-degree atrioventricular block), acute infection before surgery, pre-existing autoimmune disease, immunomodulatory medication, left ventricular ejection fraction $< 30\%$, and renal insufficiency (KDIGO score > 2). Further exclusion criteria were pseudocholinesterase deficiency, chronic cognitive dysfunction (e.g., history of schizophrenia, other severe psychiatric conditions, or dementia with inability to adequately answer the CAM-ICU or ICDSC), and recent or persistent neurological impairment (e.g., acute cerebral infarction, intracranial bleeding, or acute meningitis in the last three months prior to study inclusion leading to inability to answer the CAM-ICU or ICDSC).

2.4. Management of Cardiopulmonary Bypass

The patients in this non-interventional study underwent standard anesthetic induction with sufentanil ($0.25\text{--}0.5\text{ }\mu\text{g/kg}$), etomidate ($0.1\text{--}0.2\text{ mg/kg}$), and pancuronium ($0.05\text{--}0.1\text{ mg/kg}$). Anesthesia was maintained using propofol (3 mg/kg/h) and sufentanil ($0.3\text{--}1\text{ }\mu\text{g/kg/h}$). Central venous access was established via the internal jugular vein, and arterial blood pressure was monitored through the radial artery.

Both cCPB and MiECC utilized the S5 Heart-Lung Machine (LivaNova, London, UK) equipped with membrane oxygenators. MiECC employed the CAPiox® FX 15 Oxygenator (Terumo, Tokyo, Japan), while cCPB used the Inspire® 6 F Oxygenator (LivaNova, London, UK) alongside a specialized perfusion tubing system (LivaNova, London, UK). For cCPB, a roller pump and an additional reservoir (LivaNova, London, UK) were implemented, whereas MiECC operated with a centrifugal pump, without the need for a reservoir or hemofilter.

The priming solution for the circuits consisted of 1 L of crystalloid (Sterofundin Iso®, Braun, Melsungen, Germany), 250 mL of 15% mannitol (Seraq-Wiessner, Naila, Germany), and 50 mL of 20% albumin (CSL Behring, Marburg, Germany). For MiECC, 10,000 I.U. of heparin was added, while 2500 I.U. were required for cCPB. Details on the used CPB types are shown in Figure 1 and Supplemental Table S1.

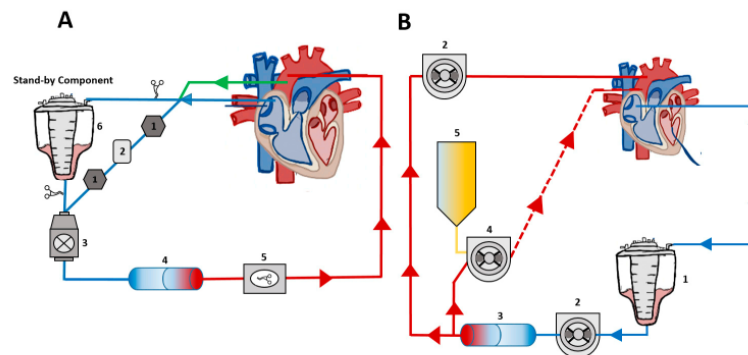


Figure 1. Diagrammatic representation of a minimized extracorporeal circulation (miECC) and a conventional cardiopulmonary bypass (cCPB), (A) (adapted from Anastasiadis et al. [20], 1: air detector, 2: air trap, 3: centrifugal pump, 4: oxygenator, 5: automatic arterial line clamp, 6: standby component (hard shell reservoir), green line: vent; (B) 1: hard shell reservoir, 2: double head roller pump, 3: oxygenator, 4: cardioplegia pump, 5: cardioplegia.

2.5. Sample Processing

Blood was collected at six time points: immediately after induction of anesthesia (T1); 15 (T2) and 60 (T3) minutes after the commencement of CPB, respectively; and 15 (T4) and 120 (T5) minutes after the end of CPB after admission to the intensive care unit (ICU). Last, blood was drawn through the arterial line with the routine laboratory control in the early morning of the first postoperative day (T6). Blood was collected in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes (approximately 20 mL). Plasma samples were stored at -80°C .

Clinical and laboratory data were obtained from the patient data management system (IMESO GmbH, Giessen, Germany).

2.6. Quantification of suPAR

The plasma concentration of suPAR was quantified using a human suPAR ELISA Kit (MyBiosource, Catalog No.: MBS7606253, San Diego, CA, USA) according to the manufacturer's instructions.

2.7. Statistical Analysis

All numeric data were expressed as median and interquartile range (IQR). If summarized data are stated, the summarization occurred as follows: preoperative T1, intraoperative T2–T4 and postoperative T5–T6. The analysis of variations in plasma suPAR levels across different time points was performed by repeated measures ANOVA, followed by the Tukey HSD test. The comparison of operative suPAR levels for patients with POD or AKI versus those without, respectively, was conducted by the Wilcoxon Test. Categorical data have been compared using Fisher's Exact Test. The influence of suPAR on pneumonia, POD, or AKI has been examined by logistic regression analysis, while receiver operating characteristic (ROC) curve analyses were used for the calculation of area under the ROC curve (AUCROC), sensitivity, and specificity of inflammatory and renal parameters. p -values < 0.05 were considered statistically significant. All data were stored in an external database (Microsoft Excel, Redmond, WA, USA). Data were analyzed using R version 4.3.2 (31 October 2023; www.r-project.org, accessed on 13 July 2025).

3. Results

3.1. Study Cohort

Of the 100 patients included in the primary study, sufficient sample volume for this secondary analysis was achievable for 79 patients. The characteristics of these 79 patients are shown in Table 1. Only two of 79 patients did not suffer from any pre-existing disease, which were spread evenly among the miECC and cCPB groups. Differences have been observed for a higher incidence of myocardial infarction within the 90 days prior to surgery ($p < 0.01$) and stroke ($p < 0.05$) in the cCPB group. There were no cases of acute cerebral infarction included in this study, and all strokes had occurred at least three months prior to surgery. In general, preoperative plasma troponin levels were low; however, they were significantly higher in patients undergoing cCPB (2.24 [1.2–2.9]) compared to those with miECC (0.21 [0.06–0.85]; $p = 0.008$). Association with suPAR concentrations occurred for myocardial infarction within 90 days (odds ratio: 1.31 [1.08–1.60]; $p = 0.07$). No patient died during the observational period.

Table 1. Basic characteristics. Data are demonstrated as median [interquartile range] or percentage. Significant differences are demonstrated with an asterisk and written in bold (* = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$). Abbreviations: ACC = Aortic cross clamp; CPB = Cardiopulmonary bypass.

Parameters	All Patients (n = 79)	miECC (n = 41)	cCPB (n = 38)	p Value
Age (years)	64 [57–71]	60 [56–71]	68 [62–73]	0.06
Male sex, n (%)	69 (87.3)	37 (90.2)	32 (84.2)	0.51
BMI (kg/m ²)	28.7 [25.9–32.6]	29.1 [27.7–32.0]	28.4 [25.0–33.0]	0.48
EuroSCORE	1.09 [0.78–1.41]	1.07 [0.79–1.29]	1.13 [0.77–1.55]	0.51
Pre-existing Diseases, n (%)				
Angina pectoris	53 (68.8)	29 (72.5)	24 (64.9)	0.62
Arterial hypertension	68 (87.2)	37 (90.2)	31 (83.8)	0.50
Acute myocardial infarction	20 (25.6)	9 (22.0)	11 (29.7)	0.45
Myocardial infarction within the last 90 days prior to surgery	18 (23.4)	4 (10.0)	14 (37.8)	0.006 (**)
Concurrent valvular disease	16 (20.5)	11 (26.8)	5 (13.5)	0.17
Stroke	10 (12.8)	2 (4.9)	8 (21.6)	0.041 (*)
Diabetes	32 (40.5)	16 (39.0)	16 (43.2)	0.82
Chronic obstructive pulmonary disease (>1)	10 (12.8)	5 (12.2)	5 (13.5)	0.88
Smoker	51 (65.4)	26 (63.4)	25 (67.6)	0.81
Alcohol abuse	1 (1.3)	1 (2.4)	0 (0)	1.00
Outcome, n (%)				
Postoperative delirium	19 (24.1)	9 (22.0)	10 (26.3)	0.79
Acute kidney disease (KDIGO > 1)	25 (31.6)	15 (36.6)	10 (26.3)	0.35
Pneumonia	2 (2.5%)	1 (2.4%)	1 (2.6%)	1.00
Process times				
Duration of anesthesia (min)	202 [177.0–232.0]	193.5 [176.0–224.0]	214.6 [185.0–247.5]	0.12
Duration of CPB (min)	82.5 [72–107.5]	78.0 [71.5–91.5]	90.0 [76.0–114.0]	0.049 (*)
Duration of ACC (min)	57 [47–77]	56 [47–66.5]	60 [48–85]	0.19
Duration of invasive ventilation (h)	12.4 [10.4–18.2]	12.8 [9.5–18.0]	13.9 [11.0–19.1]	0.30

3.2. Primary Endpoint Analysis

Overall, without consideration of time points, suPAR concentrations were significantly lower in patients undergoing MiECC compared to cCPB ($p < 0.001$). Detailed comparisons of the timepoints are shown in Figure 1A, while summarized data of the pre-, intra-, and postoperative time points are shown in Figure 1B (preoperative T1 | intraoperative

T2–T4 | postoperative T5–T6, Tables 2 and 3). Summarized data generally showed a significantly increased amount of suPAR during surgery and significantly decreased amounts postoperatively. During surgery, suPAR significantly increased to higher levels with the use of cCBP compared to miECC ($p = 0.027$, Figure 1B, logistic regression: odds ratio: 0.69 [0.57–0.84]; $p < 0.001$).

Table 2. Overview of the suPAR quantification. Measurements are given as median [interquartile range], p -value is given for comparison, MiECC vs. cCBP. Abbreviations: cCBP = conventional cardiopulmonary bypass; miECC = Minimized extracorporeal circulation; suPAR = Soluble urokinase plasminogen activator receptor. * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$.

	n	suPAR (ng/mL) All Patients	n	suPAR (ng/mL) miECC	n	suPAR (ng/mL) cCBP	Two-Groups p -Value (WILCOX)
T1 (preoperative)	79	1.4 [1–1.8]	41	1.3 [1–1.6]	38	1.4 [1.03–2.12]	0.29
T2 (15' CPB)	76	1.8 [1.4–2.2]	41	1.7 [1.4–2]	35	1.9 [1.55–2.5]	0.049 (*)
T3 (60' CPB)	78	1.8 [1.52–2.28]	40	1.7 [1.58–2]	38	2 [1.52–2.58]	0.12
T4 (15' after end of CPB)	78	1.7 [1.3–2.28]	40	1.5 [1.3–2.1]	38	1.9 [1.4–2.58]	0.09
T5 (120' after end of CPB)	77	1.6 [1.2–2.3]	41	1.5 [1.1–1.7]	36	1.9 [1.3–2.96]	0.008 (**)
T6 (1st day postoperative)	73	1.2 [0.9–1.7]	40	1.25 [0.88–1.63]	33	1.2 [1–1.9]	0.44
All operative time points (T2–T4)	232	1.7 [1.4–2.22]	121	1.7 [1.4–2]	111	1.9 [1.44–2.55]	0.003 (**)
All postop. time points (T5–T6)	150	1.5 [1–2.08]	81	1.4 [0.9–1.7]	69	1.6 [1.1–2.6]	0.02 (*)

Table 3. Overview of the suPAR quantification. Wilcoxon test. P -value is given for 2-group comparisons according to column labels. Results for two-factor ANOVA analysis are given in the remaining rows. Abbreviations: cCBP = conventional cardiopulmonary bypass; MiECC = Minimized extracorporeal circulation; suPAR = Soluble urokinase plasminogen activator receptor. * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$.

	AKI/no AKI	POD/noPOD	miECC/cCBP
Wilcox-Test	0.003 (**)	0.67	<0.001 (***)
ANOVA pVal	0.001 (**)	0.03 (*)	<0.001 (***)
T1/preoperative	0.98	1.00	1.00
T2/operative	0.98	1.00	0.99
T3/operative	1.00	1.00	0.78
T4/operative	0.92	1.00	0.48
T5/postoperative	0.82	1.00	0.11
T6/postoperative	0.83	1.00	1.00
ANOVA pVal	<0.001 (***)	0.02 (*)	<0.001 (***)
preoperative	0.79	1.00	0.98
operative	0.26	1.00	0.03 (*)
postOP	0.13	0.88	0.16

Multivariate regression analysis showed that MiECC was an influencing factor on suPAR independent of POD, pneumonia, myocard infarction, angina pectoris, and pre-existing diseases in general (-0.38 ± 0.1 ; $p < 0.001$).

3.3. Secondary Endpoint Analysis

3.3.1. Acute Kidney Injury

Overall, 25 (31.6%) patients suffered from AKI stage 1 or 2, while no patient developed AKI stage 3. Neither baseline renal parameters were elevated in these patients (creatinine: 0.9 [0.8–1.0] mg/dL; urea: 30.5 [27.5–41.25] mg/dL) nor were CPB and aortic cross-clamp (ACC) time prolonged (CPB: 86 min [78 min–111 min]; ACC: 59 min [50 min–79 min]). SuPAR levels differed significantly between patients with or without kidney damage (no AKI: 1.6 [1.1–2.0], AKI: 1.7 [1.3–2.4], $p < 0.001$; see Supplemental Figure S1 and Supplemental Table S2 for a detailed overview of all time points; pre-, intra- and post-

operative suPAR kinetics are illustrated in Figure 3). There was no statistical significance between the occurrence of AKI in patients treated with miECC or cCPB (Figure 2A, Table 1). Multivariate regression analysis showed that, in addition to the type of CPB, AKI was an influencing factor on suPAR (-0.45 ± 0.1 ; $p < 0.001$). To exclude the effect of CPB or ACC duration, we performed an analysis at T3, which revealed no significant difference between patients with and without AKI (Table 3).

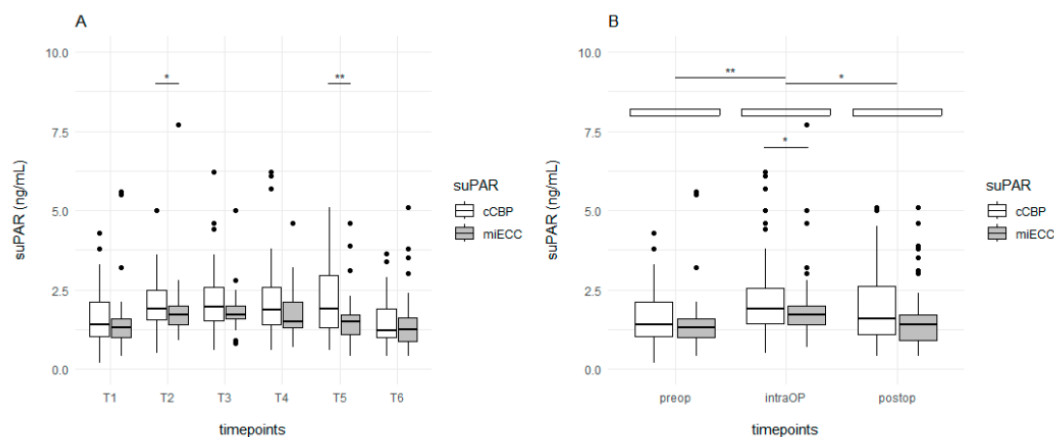


Figure 2. Boxplots showing the time course of suPAR in dependence of miECC and cCPB for single timepoints (A) and preoperative, operative, and postoperative periods (B). Overall, the level of suPAR is statistically significantly lower when using miECC as compared to cCPB ($p < 0.001$). SuPAR levels significantly increased during surgery ($p = 0.008$) and decreased again postoperatively ($p = 0.04$). With miECC, suPAR levels significantly increased less during OP than with cCPB ($p = 0.03$). Abbreviations: cCPB = conventional cardiopulmonary bypass; miECC = Minimized extracorporeal circulation; preOP = preoperative; postOP = postoperative; OP = intraoperative; suPAR = Soluble urokinase plasminogen activator receptor. * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$.

Urea decreased significantly on day 1 after surgery and remained significantly lower as compared to the baseline value. However, the amount of change is without clinical relevance (Supplemental Table S2). Creatinine decreased significantly during surgery and then increased to its previous level (except for patients with AKI), whereas GFR increased significantly during surgery and remained at a higher level close to significance. The average pre-, intra-, and postoperative plasma concentration of suPAR showed no correlation with the renal parameters creatinine, urea, and GFR. However, in addition to the significant group difference in the occurrence of AKI, regression analysis revealed a 37% increase in the likelihood of AKI with each one-unit increase in suPAR (odds ratio 1.37 [1.14–1.67]; $p < 0.001$). The ROC analysis of postoperative suPAR revealed only a low predictive capacity for AKI, while intraoperative suPAR levels failed to predict AKI (AUC ROC suPAR: T3 and T4: 0.560; T5 and T6: 0.613).

3.3.2. Postoperative Delirium

Overall, 19 (24.1%) patients developed POD, while two of those had delirium already prior to surgery. SuPAR plasma levels did not differ between patients with and without POD (Figure 2B). suPAR showed limited capacity to predict POD (AUC ROC suPAR: T3 and T4: 0.521; T5 and T6: 0.532). The suPAR kinetics (pre-, intra- and postoperative) are illustrated in Figure 3.

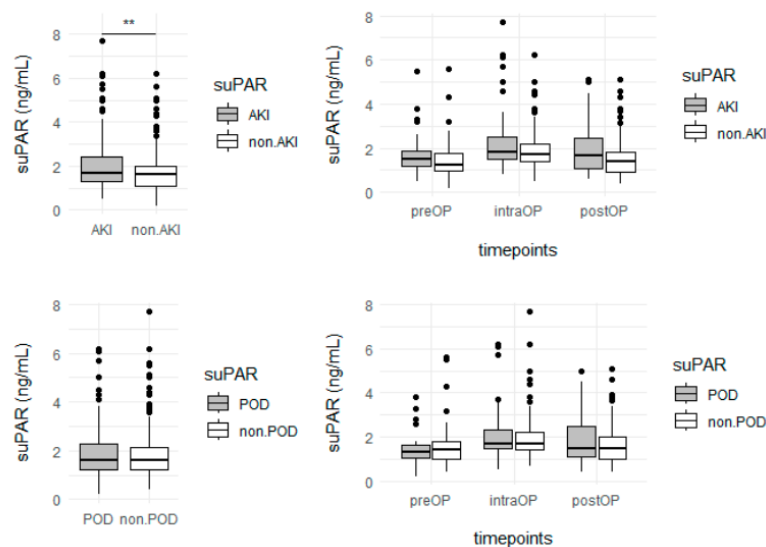


Figure 3. Comparison of suPAR plasma levels in patients with and without AKI or POD. **Top left:** Overall comparison of suPAR levels between patients with acute kidney injury (AKI) and without AKI. suPAR levels were significantly higher in the AKI group ($p < 0.01$). **Top right:** Time course of suPAR levels (preoperative, postoperative, and on the day of surgery) in patients with and without AKI. No significant differences were observed at individual time points. **Bottom left:** Overall comparison of suPAR levels between patients with postoperative delirium (POD) and without POD. No significant difference was observed. **Bottom right:** Time course of suPAR levels in patients with and without POD. No significant differences were observed at any time point. Abbreviations: preOP = preoperative; postOP = postoperative; intra = intraoperative. ** = $p < 0.01$.

3.3.3. Infectious Complications

No patient developed sepsis, catheter-related bloodstream infections, or urogenital infection. Pneumonia was the most common infectious disease, with two (2.5%) cases. In these patients, suPAR plasma levels in general were significantly increased compared to patients without pneumonia (peak: 3.5 ng/mL at T6 in both patients). Patients with pneumonia were in need of prolonged invasive ventilation (1.3 days compared to 0.8 in the case of no pneumonia). Given that only two patients developed pneumonia, we refrained from calculating the AUC for this outcome. Data on suPAR and the other inflammatory parameters are shown in Supplemental Table S3.

SuPAR plasma levels neither correlated with CRP nor with leukocytes count or PCT, independently of the type of CPB (only postoperative values of cCPB: leukocytes count: correlation coefficient -0.06 ; $p = 0.72$; CRP: correlation coefficient 0.02 ; $p = 0.92$; PCT: correlation coefficient -0.10 ; $p = 0.58$; only postoperative values of MiECC: leukocytes count: correlation coefficient -0.03 ; $p = 0.86$; CRP: correlation coefficient -0.28 ; $p = 0.08$; PCT: correlation coefficient 0.03 ; $p = 0.88$, Supplemental Figure S2).

4. Discussion

This study presents four key findings. First, it demonstrates that the use of miECC in cardiac surgery is associated with significantly lower perioperative suPAR levels compared to cCPB. SuPAR levels increased during surgery, with significantly higher intraoperative values observed in the cCPB group. Despite this, postoperative suPAR levels decreased

similarly in both groups. Second, although suPAR levels were significantly higher in patients who developed AKI, their predictive value for AKI was limited. Third, suPAR did not predict POD. Fourth, suPAR was elevated in both patients who developed pneumonia.

The primary objective of this study is to demonstrate that miECC reduces suPAR levels, implying its role in reducing the systemic inflammatory response. The observed increase in suPAR levels during CPB supports previous studies showing that cCPB exacerbates systemic inflammation due to blood contact with artificial surfaces, ischemia-reperfusion injury, and surgical trauma, all of which trigger cytokine release and immune activation [9]. The lower suPAR levels in the miECC group support the hypothesis that minimized circuits reduce the inflammatory burden, as suggested by Ranucci et al., as well as studies by Angelini et al. and Anastasiadis et al. [2,21,22], which further support the anti-inflammatory effects of MiECC in cardiac surgery [20,23]. Studies from the early 2000s found that MiECC was associated with decreased levels of C-reactive protein, interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor- α , and other cytokines [24–28]. This is primarily explained by the reduced foreign surface area in miECC systems compared to cCPB, resulting in reduced complement activation and subsequent neutrophil activation. Neutrophils play a pivotal role in reacting to foreign surfaces by releasing neutrophil extracellular traps, which interact with the inflammatory and coagulation systems, activating platelets, macrophages, and other immune cells [29–31]. This process leads to the release of interleukins, particularly IL-6 and IL-8, strong pro-inflammatory cytokines. suPAR is a part of this cascade, reflecting systemic immune activation and modulating inflammatory responses by interacting with uPAR signaling pathways. As a soluble form of uPAR, suPAR is shed from the cell surface in response to inflammation and immune activation, playing a crucial role in immune cell recruitment, extracellular matrix remodeling, and fibrinolysis.

An important limitation of our study is the potential confounding effect of pre-existing cardiovascular disease on suPAR plasma levels. Patients undergoing cardiac surgery frequently present with a history of myocardial infarction or cerebrovascular events, both of which are associated with chronic systemic inflammation. While we excluded patients with acute stroke, a myocardial infarction within 90 days was present in patients with cCPB. To further assess the influence of recent myocardial infarction, we analyzed pre-operative TNI plasma levels, which were significantly higher in cCPB patients. As TNI levels correlated with suPAR, this suggests that myocardial injury may have contributed to elevated suPAR concentrations and could act as a relevant confounder. However, it must be emphasized that atherosclerosis, commonly present in all patients undergoing cardiac surgery, is a chronic inflammatory condition known to elevate suPAR levels, irrespective of recent ischemic events. suPAR has been proposed as a prognostic biomarker in patients with myocardial ischemia for this reason [32,33]. Given the prevalence of atherosclerotic disease in this patient population, complete elimination of this confounding factor is not feasible. Nevertheless, we acknowledge this limitation and have incorporated it into the interpretation of our findings.

Next, the duration of CPB may have influenced the observed differences between MiECC and cCPB, as the duration of cCPB—unlike ACC—was significantly longer compared to MiECC. While T2 reached statistical significance, a similar difference was observed at T3, which represents a time point independent of CPB or ACC duration. Given the visible trend toward higher suPAR levels at T3 and the already significantly elevated levels at T2 in the CPB group, the lack of statistical significance at T3 is most likely attributable to the limited number of included patients.

The secondary aim of this study was to assess whether the decrease in suPAR plasma concentration with miECC is associated with adverse patient outcomes. The results showed that while suPAR was associated with renal impairment, there was no statistically signifi-

cant difference in AKI occurrence between patients treated with miECC and those treated with cCPB. This suggests that despite the reduction of suPAR levels with MiECC, suPAR still reflects renal damage. However, this study revealed only a moderate predictive capacity of suPAR for AKI detection. This may be due to the short observation period, although the first 24 h after surgery and CPB use are critical for these patients. Therefore, early prediction of AKI remains highly relevant during this period. Rasmussen et al. used this approach and reported that suPAR was a predictor of AKI after cardiac surgery both preoperatively and within the first 24 h [8]. Specifically, the risk for AKI (KDIGO 1) was 50% higher if suPAR plasma levels were doubled. Mossanen et al. supported these findings, also with low predictive performance, comparable to our study (AUC ROC 0.6 vs. 0.647 vs. 0.613) [11]. Furthermore, the duration of CPB must be considered when analyzing the relationship between suPAR and AKI. Although prolonged CPB duration correlated with elevated suPAR levels, it was not associated with the occurrence of AKI in our study. Additionally, the increase in suPAR levels observed at T3, independent of CPB or ACC duration, did not differ between patients with and without AKI. This might be explained by the multifactorial nature of AKI, in which suPAR is not the primary driving factor.

On the one hand, this is surprising, as suPAR is pathophysiologically linked to renal repair mechanisms, but it might be explained by the complex factors influencing AKI. While systemic inflammation plays a significant role in renal damage during cardiac surgery, other factors such as sex, intraoperative hypotension, and pre-existing chronic renal disease can also contribute to renal failure [34–36]. Furthermore, suPAR is also released by extrarenal tissues, such as myeloid cells in the bone marrow [37,38]; however, the role of extrarenal sources of suPAR during cardiac surgery remains unclear. On the other hand, this is not particularly unusual, as even well-established biomarkers such as creatinine have limited predictive value for early AKI, given that they primarily reflect reduced GFR as a surrogate marker [39]. Therefore, the early rise in suPAR may still hold promise in multi-marker strategies. Combining suPAR with other established early biomarkers (e.g., NGAL, KIM-1, or cystatin C), clinical parameters, and advanced predictive modeling techniques may improve overall predictive performance. In particular, artificial intelligence and deep learning models could enhance AKI prediction by analyzing the temporal patterns of multiple biomarkers [39,40]. The role of inflammatory biomarkers such as suPAR will be further explored in future studies.

The lack of a significant association between suPAR and POD contrasts with studies linking systemic inflammation to neurocognitive dysfunction after surgery [41]. It is well known that during CPB, a complex inflammatory activation is induced, prompting immune cells, primarily monocytes and neutrophil granulocytes, to secrete proinflammatory cytokines including IL-1 β , TNF- α , and IL-6. These cytokines can cross the blood-brain barrier and either directly affect cerebral immune cells like microglia or increase barrier permeability. Endothelial activation plays a crucial role by upregulating adhesion molecule expression, facilitating leukocyte transmigration into brain tissue, and amplifying local inflammation [42–44]. This inflammatory cascade may result in persistent neuroinflammation, potentially increasing the risk of postoperative neurocognitive dysfunction. While inflammatory markers such as CRP and interleukins have been associated with POD [45], our data suggest that suPAR alone may not be a reliable biomarker for this outcome. This is surprising, since suPAR has been associated with endothelial damage in the kidney and other organs and with neurocognitive impairment [46–48]. The small number of included patients and the variability of data might explain this finding. For this reason, this warrants further investigation into the role of suPAR in neuroinflammation.

Although our study identified significantly elevated suPAR levels in patients with pneumonia [9], the small sample size of infected patients limits the generalizability of this

finding. Nevertheless, since prior studies have highlighted suPAR as a potential biomarker for sepsis and infection, it could be an interesting target for future research. Therefore, its clinical utility in predicting postoperative infection requires validation in a larger cohort of patients with infectious complications.

Several limitations must be considered when interpreting our findings. First, our study cohort was relatively small, limiting statistical power, particularly for subgroup analyses such as pneumonia. Nevertheless, this study yielded important findings that can inform sample size calculations for future research, in line with its exploratory nature. These results support further investigation into suPAR release during cardiopulmonary bypass and underscore the need for larger, prospectively designed studies with more comprehensive baseline phenotyping. Second, this was a secondary analysis of an observational study, and unmeasured confounders may have influenced the results. For instance, only white Caucasians were included in this study. The SAfrEIC study showed that suPAR levels were higher in black compared to white South African males. Further, it has been described that women have a 10% higher plasma level of suPAR [49,50]. Further, the lack of randomization between the miECC and cCPB groups may have introduced selection bias, as the choice of CPB type was based on clinical judgment. This limits the ability to draw causal conclusions regarding the effect of the perfusion technique on biomarker levels. Third, the lack of randomization and the absence of predefined criteria for assigning patients to concurrent studies may have introduced selection bias, despite the strict application of inclusion and exclusion criteria. This limits the ability to draw causal conclusions regarding the effects of CPB type. Fourth, while we observed an association between suPAR levels and AKI, the biomarker's predictive value was modest, suggesting that additional markers or a multimodal approach may be necessary for accurate AKI risk stratification. Finally, this study focused on elective CABG surgery, and the findings may not be generalizable to other cardiac procedures.

5. Conclusions

This study provides evidence that miECC is associated with lower intraoperative suPAR levels, suggesting a reduced inflammatory response compared to cCPB. While suPAR levels were significantly higher in patients with AKI, their predictive value for AKI remains limited. Furthermore, suPAR did not predict POD but was elevated in patients with pneumonia. These findings underscore the potential role of suPAR as an inflammatory biomarker in cardiac surgery, but further studies with larger cohorts and external validation are needed to clarify its clinical utility.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jcm14145020/s1>: Table S1: Details on the used CPB materials. Abbreviations: CPB = Cardiopulmonary bypass, cCPB = Conventional cardiopulmonary bypass, miECC = Minimized extracorporeal cardiopulmonary bypass; Table S2: Overview of the suPAR quantification in dependence on the occurrence of AKI. Measurements are given as median [interquartile range]. Abbreviations: cCPB = conventional cardiopulmonary bypass; miECC = Minimized extracorporeal circulation; suPAR = Soluble urokinase plasminogen activator receptor; Table S3: Overview of the inflammatory parameters at different time points. Values are given as median [IQR]. Abbreviations: CRP = C-reactive protein; GFR = glomerular filtration rate; PCT = Procalcitonin; IQR = interquartile range; N.A. = Not available; Figure S1: Boxplots showing the time course of suPAR in dependence on the occurrence of AKI. Abbreviations: cCPB = conventional cardiopulmonary bypass; miECC = Minimized extracorporeal circulation; suPAR = Soluble urokinase plasminogen activator receptor; AKI = acute kidney injury; Figure S2: Boxplots showing the time course of the inflammatory parameters and suPAR. Abbreviations: CRP = C-reactive

protein. PCT = Procalcitonin, preOP = preoperative; postOP = postoperative; OP = intraoperative, suPAR = soluble urokinase plasminogen activator receptor.

Author Contributions: E.S., T.S.Z., C.K., and M.S. were responsible for the study design and conduct; E.S., T.S.Z., F.E., and J.G. were responsible for data acquisition and interpretation, as well as the writing of the manuscript; M.M. was responsible for performing the statistical analysis; and E.S., T.S.Z., and C.K. were responsible for interpretation, as well as approving and helping to draft the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was funded by the state of Hesse, Germany, and the University Hospital of Giessen and Marburg, Hesse, Germany (§2 of the Cooperation Agreement). The funders did not influence the study design, data collection, or analysis, publication decision, or manuscript preparation. The applicant was T.Z.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the local ethics committee (Justus Liebig University Giessen, Giessen, Germany; approval number AZ: 30/16; 27 October 2023).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in this study.

Data Availability Statement: The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Gygax, E.; Kaeser, H.; Stalder, M.; Gahl, B.; Rieben, R.; Carrel, T.; Erdoes, G. Type II Minimal-Invasive Extracorporeal Circuit for Aortic Valve Replacement: A Randomized Controlled Trial. *Artif. Organs* **2018**, *42*, 620–629. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Ranucci, M.; Baryshnikova, E. Inflammation and coagulation following minimally invasive extracorporeal circulation technologies. *J. Thorac. Dis.* **2019**, *11*, S1480–S1488. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Anastasiadis, K.; Murkin, J.; Antonitsis, P.; Bauer, A.; Ranucci, M.; Gygax, E.; Schaarschmidt, J.; Fromes, Y.; Philipp, A.; Eberle, B.; et al. Use of minimal invasive extracorporeal circulation in cardiac surgery: Principles, definitions and potential benefits. A position paper from the Minimal invasive Extra-Corporeal Technologies international Society (MiECTiS). *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* **2016**, *22*, 647–662. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Angelini, G.D.; Reeves, B.C.; Evans, J.; Culliford, L.A.; Maishman, R.; Rogers, C.A.; Anastasiadis, K.; Antonitsis, P.; Argiriadou, H.; Carrel, T.; et al. Conventional versus minimally invasive extracorporeal circulation in patients undergoing cardiac surgery: Protocol for a randomised controlled trial (COMICS). *Perfusion* **2021**, *36*, 388–394. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Liebold, A.; Albrecht, G. Minimized extracorporeal circulation in non-coronary surgery. *J. Thorac. Dis.* **2019**, *11*, S1498–S1506. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Rasmussen, L.J.H.; Petersen, J.E.V.; Eugen-Olsen, J. Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) as a Biomarker of Systemic Chronic Inflammation. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 780641. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Sudhini, Y.R.; Wei, C.; Reiser, J. suPAR: An Inflammatory Mediator for Kidneys. *Kidney Dis.* **2022**, *8*, 265–274. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Rasmussen, S.R.; Nielsen, R.V.; Mogelvang, R.; Ostrowski, S.R.; Ravn, H.B. Prognostic value of suPAR and hsCRP on acute kidney injury after cardiac surgery. *BMC Nephrol.* **2021**, *22*, 120. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Backes, Y.; Van Der Sluijs, K.F.; Mackie, D.P.; Tacke, F.; Koch, A.; Tenhunen, J.J.; Schultz, M.J. Usefulness of suPAR as a biological marker in patients with systemic inflammation or infection: A systematic review. *Intensiv. Care Med.* **2012**, *38*, 1418–1428. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
10. Ismail, A.; Hayek, S.S. Role of Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor in Cardiovascular Disease. *Curr. Cardiol. Rep.* **2023**, *25*, 1797–1810. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
11. Mossanen, J.C.; Pracht, J.; Jansen, T.U.; Buendgens, L.; Stoppe, C.; Goetzenich, A.; Struck, J.; Autschbach, R.; Marx, G.; Tacke, F. Elevated soluble urokinase plasminogen activator receptor and proenkephalin serum levels predict the development of acute kidney injury after cardiac surgery. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 1662. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Koller, L.; Steinacher, E.; Hofer, F.; Hammer, A.; Kazem, N.; Laufer, G.; Fleck, T.; Steinlechner, B.; Wojta, J.; Richter, B.; et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor and survival in elective cardiac surgery. *Eur. J. Clin. Investig.* **2023**, *53*, e13953. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

13. Zajonz, T.S.; Kunzemann, C.; Schreiner, A.L.; Beckert, F.; Schneck, E.; Boening, A.; Markmann, M.; Sander, M.; Koch, C. Potentials of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Alterations in On-Pump Coronary Artery Bypass Surgery in Postoperative Delirium: An Observational Trial. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 5245. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki. *JAMA* **2013**, *310*, 2191. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Von Elm, E.; Altman, D.G.; Egger, M.; Pocock, S.J.; Götzsche, P.C.; Vandenbroucke, J.P. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: Guidelines for reporting observational studies. *J. Clin. Epidemiol.* **2008**, *61*, 344–349. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Kellum, J.A.; Lameire, N. Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: A KDIGO summary (Part 1). *Crit. Care* **2013**, *17*, 204. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Bergeron, N.; Dubois, M.-J.; Dumont, M.; Dial, S.; Skrobik, Y. Intensive Care Delirium Screening Checklist: Evaluation of a new screening tool. *Intensiv. Care Med.* **2001**, *27*, 859–864. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. O'Neal, J.B.; Shaw, A.D. Predicting, preventing, and identifying delirium after cardiac surgery. *Periop. Med.* **2016**, *5*, 7. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. American Medical Association. *ICD-10-CM 2021: The Complete Official Codebook with Guidelines*; American Medical Association: Chicago, IL, USA, 2020.
20. Anastasiadis, K.; Antonitsis, P.; Punjabi, P. MiECC reloaded. *Perfusion* **2024**, *40*, 535–536. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Anastasiadis, K.; Antonitsis, P.; Kostarellou, G.; Kleontas, A.; Deliopoulos, A.; Grosomanidis, V.; Argiriadou, H. Minimally invasive extracorporeal circulation improves quality of life after coronary artery bypass grafting. *Eur. J. Cardio-Thorac. Surg.* **2016**, *50*, 1196–1203. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Angelini, G.D.; Reeves, B.C.; Culliford, L.A.; Maishman, R.; Rogers, C.A.; Anastasiadis, K.; Antonitsis, P.; Argiriadou, H.; Carrel, T.; Keller, D.; et al. Conventional versus minimally invasive extra-corporeal circulation in patients undergoing cardiac surgery: A randomized controlled trial (COMICS). *Perfusion* **2024**, *40*, 730–741. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Anastasiadis, K.; Antonitsis, P.; Papazisis, G.; Haidich, B.; Liebold, A.; Punjabi, P.; Gunaydin, S.; El-Essawi, A.; Rao, V.; Serrick, C.; et al. Minimally invasive extracorporeal circulation versus conventional cardiopulmonary bypass in patients undergoing cardiac surgery (MiECS): Rationale and design of a multicentre randomised trial. *Perfusion* **2024**, *40*, 923–932. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Ohata, T.; Mitsuno, M.; Yamamura, M.; Tanaka, H.; Kobayashi, Y.; Ryomoto, M.; Yoshioka, Y.; Miyamoto, Y. Minimal cardiopulmonary bypass attenuates neutrophil activation and cytokine release in coronary artery bypass grafting. *J. Artif. Organs* **2007**, *10*, 92–95. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Immer, F.F.; Ackermann, A.; Gygax, E.; Stalder, M.; Englberger, L.; Eckstein, F.S.; Tevaeaari, H.T.; Schmidli, J.; Carrel, T.P. Minimal Extracorporeal Circulation is a Promising Technique for Coronary Artery Bypass Grafting. *Ann. Thorac. Surg.* **2007**, *84*, 1515–1521. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Remadi, J.P.; Rakotoarivelo, Z.; Marticho, P.; Benamar, A. Prospective randomized study comparing coronary artery bypass grafting with the new mini-extracorporeal circulation Jostra System or with a standard cardiopulmonary bypass. *Am. Heart J.* **2006**, *151*, 198.e1–198.e7. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Abdel-Rahman, U.; Özaslan, F.; Risteski, P.S.; Martens, S.; Moritz, A.; Al Daraghme, A.; Keller, H.; Wimmer-Greinecker, G. Initial Experience with a Minimized Extracorporeal Bypass System: Is There a Clinical Benefit? *Ann. Thorac. Surg.* **2005**, *80*, 238–243. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Fromes, Y. Reduction of the inflammatory response following coronary bypass grafting with total minimal extracorporeal circulation. *Eur. J. Cardio-Thorac. Surg.* **2002**, *22*, 527–533. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Maugeri, N.; Campana, L.; Gavina, M.; Covino, C.; De Metrio, M.; Panciroli, C.; Maiuri, L.; Maseri, A.; D'Angelo, A.; Bianchi, M.E.; et al. Activated platelets present high mobility group box 1 to neutrophils, inducing autophagy and promoting the extrusion of neutrophil extracellular traps. *J. Thromb. Haemost.* **2014**, *12*, 2074–2088. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Brinkmann, V.; Reichard, U.; Goosmann, C.; Fauler, B.; Uhlemann, Y.; Weiss, D.S.; Weinrauch, Y.; Zychlinsky, A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* **2004**, *303*, 1532–1535. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Jorch, S.K.; Kubes, P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat. Med.* **2017**, *23*, 279–287. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Wlazel, R.N.; Migala, M.; Zielińska, M.; Pawlicki, L.; Rośniak-Bąk, K.; Szadkowska, I. Soluble urokinase plasminogen activator receptor in one-year prediction of major adverse cardiac events in patients after first myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *Arch. Med. Sci.* **2019**, *15*, 72–77. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Lyngbæk, S.; Marott, J.L.; Møller, D.V.; Christiansen, M.; Iversen, K.K.; Clemmensen, P.M.; Eugen-Olsen, J.; Jeppesen, J.L.; Hansen, P.R. Usefulness of soluble urokinase plasminogen activator receptor to predict repeat myocardial infarction and mortality in patients with st-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous intervention. *Am. J. Cardiol.* **2012**, *110*, 1756–1763. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Brady, K.; Hogue, C.W. Intraoperative Hypotension and Patient Outcome. *Anesthesiology* **2013**, *119*, 495–497. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

35. Jung, H.; Mohr, N.; Hulde, N.; Krannich, A.; Storm, C.; von Dossow, V. Intraoperative hypotension and its association with acute kidney injury in patients undergoing elective cardiac surgery: A large retrospective cohort study. *Eur. J. Anaesthesiol. Intensiv. Care* **2024**, *3*, e0048. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Kulthine, S.; Warhooover, M.; Puis, L.; Navar, L.G.; Gohar, E.Y. Cardiac surgery-associated acute kidney injury in cardiopulmonary bypass: A focus on sex differences and preventive strategies. *Am. J. Physiol. Physiol.* **2024**, *327*, F994–F1004. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Hayek, S.S.; Sever, S.; Ko, Y.-A.; Trachtman, H.; Awad, M.; Wadhvani, S.; Altintas, M.M.; Wei, C.; Hotton, A.L.; French, A.L.; et al. Soluble Urokinase Receptor and Chronic Kidney Disease. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *373*, 1916–1925. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Hahm, E.; Wei, C.; Fernandez, I.; Li, J.; Tardi, N.J.; Tracy, M.; Wadhvani, S.; Cao, Y.; Peev, V.; Zloza, A.; et al. Bone marrow-derived immature myeloid cells are a main source of circulating suPAR contributing to proteinuric kidney disease. *Nat. Med.* **2017**, *23*, 100–106. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Yang, H.; Chen, Y.; He, J.; Li, Y.; Feng, Y. Advances in the diagnosis of early biomarkers for acute kidney injury: A literature review. *BMC Nephrol.* **2025**, *26*, 115. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Lin, Y.; Shi, T.; Kong, G. Acute Kidney Injury Prognosis Prediction Using Machine Learning Methods: A Systematic Review. *Kidney Med.* **2025**, *7*, 100936. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
41. Hoogma, D.F.; Milisen, K.; Rex, S.; Al Tmimi, L. Postoperative delirium: Identifying the patient at risk and altering the course. *Eur. J. Anaesthesiol. Intensiv. Care* **2023**, *2*, e0022. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Lopez, M.G.; Hughes, C.G.; DeMatteo, A.; O'Neal, J.B.; McNeil, J.B.; Shotwell, M.S.; Morse, J.; Petracek, M.R.; Shah, A.S.; Brown, N.J.; et al. Intraoperative Oxidative Damage and Delirium after Cardiac Surgery. *Anesthesiology* **2020**, *132*, 551–561. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Maldonado, J.R. Delirium pathophysiology: An updated hypothesis of the etiology of acute brain failure. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **2018**, *33*, 1428–1457. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Pang, Y.; Li, Y.; Zhang, Y.; Wang, H.; Lang, J.; Han, L.; Liu, H.; Xiong, X.; Gu, L.; Wu, X. Effects of inflammation and oxidative stress on postoperative delirium in cardiac surgery. *Front. Cardiovasc. Med.* **2022**, *9*, 1049600. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Guttenthaler, V.; Fidorra, J.; Wittmann, M.; Menzenbach, J. Predictiveness of preoperative laboratory values for postoperative delirium. *Health Sci. Rep.* **2024**, *7*, e2219. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Gianella, S.; Letendre, S.L.; Iudicello, J.; Franklin, D.; Gaufin, T.; Zhang, Y.; Porrachia, M.; Vargas-Meneses, M.; Ellis, R.J.; Finkelman, M.; et al. Plasma (1→3)- β -d-glucan and suPAR levels correlate with neurocognitive performance in people living with HIV on antiretroviral therapy: A CHARTER analysis. *J. Neurovirol.* **2019**, *25*, 837–843. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Roca, N.; Jatem, E.; Martín, M.L.; Muñoz, M.; Molina, M.; Martínez, C.; Segarra, A. Relationship between soluble urokinase-type plasminogen activator receptor and serum biomarkers of endothelial activation in patients with idiopathic nephrotic syndrome. *Clin. Kidney J.* **2021**, *14*, 543–549. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
48. Gavrilaki, E.; Bousiou, Z.; Batsis, I.; Vardi, A.; Mallouri, D.; Koravou, E.-E.; Konstantinidou, G.; Spyridis, N.; Karavalakis, G.; Noli, F.; et al. Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor (suPAR) and Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) Levels Are Significantly Associated with Endothelial Injury Indices in Adult Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Recipients. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *25*, 231. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Writing Committee for the VISION Study Investigators; Devereaux, P.J.; Biccari, B.M.; Sigamani, A.; Xavier, D.; Chan, M.T.V.; Srinathan, S.K.; Walsh, M.; Abraham, V.; Pearce, R.; et al. Association of postoperative high-sensitivity troponin levels with myocardial injury and 30-day mortality among patients undergoing noncardiac surgery. *JAMA* **2017**, *317*, 1642–1651.
50. Delgado-Rizo, V.; Martínez-Guzmán, M.A.; Iñiguez-Gutierrez, L.; García-Orozco, A.; Alvarado-Navarro, A.; Fafutis-Morris, M. Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview. *Front. Immunol.* **2017**, *8*, 81. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

RESEARCH

Open Access



Soluble DLL1 as an Indicator of acute kidney injury and postoperative delirium following cardiac surgery: a secondary analysis of a prospective study

Thomas Simon Zajonz^{1*}, Fabian Edinger¹, Melanie Markmann¹, Anna-Lena Schreiner¹, Frauke Beckert¹, Markus A. Weigand², Florian Uhle², Bernd Niemann³, Michael Sander¹, Christian Koch¹ and Emmanuel Schneck¹

Abstract

Background Acute kidney injury (AKI) displays a common complication after cardiac surgery and must be diagnosed as early as possible. Soluble delta-like protein 1 (sDLL1) was originally evaluated as a sepsis biomarker but might also indicate other adverse outcomes. This study aims to investigate sDLL1 levels, examining its potential relationship with AKI and postoperative delirium (POD) after cardiac surgery and its predictive value.

Methods This secondary analysis of a prospective observational trial included elective cardiac surgery patients. ELISA was used for the quantification of sDLL1. Statistical analysis involved repeated measures ANOVA and Pearson's correlation to assess associations between sDLL1 levels, renal, and inflammatory parameters. Receiver operating curves were used for prediction analysis.

Results Ninety patients were included in the study. Compared to patients without AKI, those with AKI (6.1%) showed significantly elevated plasma levels of sDLL1 postoperatively (no AKI 6308.49 [5121.27–7955.28], AKI 7,714.77 [7151.06–10,514.73] ng/mL; $p=0.01$). Postoperative sDLL1 levels showed only a low predictive value for AKI (AUCROC 0.63, sensitivity 0.91, specificity 0.53). Postoperative sDLL1 measurements were also significantly elevated in patients with POD (23.3%). Further, postoperative sDLL1 plasma levels showed a moderate prediction for the identification of POD (AUCROC 0.72, sensitivity 0.64 specificity 0.73).

Conclusion This study demonstrates that sDLL1 provides moderate predictive value for AKI and POD after cardiac surgery and may provide valuable insights into postoperative complications. sDLL1 levels increase independently of CPB type, suggesting a role in the inflammatory response to the cardiopulmonary bypass and surgical stress rather than specific renal injury.

Trial registration DRKS00010959.

Keywords Biomarkers, Risk, Renal insufficiency, Inflammation, Postoperative cognitive complications, Neuropsychological tests, Delirium surgery

*Correspondence:
 Thomas Simon Zajonz
 Thomas.s.zajonz@chiru.med.uni-giessen.de
 Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2025. **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/>.

Background

In 2019, soluble Delta-like protein 1 (sDLL1), a canonical notch ligand, was identified as a promising diagnostic biomarker due to its discriminatory potential, particularly in the context of sepsis (Gallenstein et al. 2023; Hildebrand et al. 2019; Schneck et al. 2022). sDLL1, part of the Delta/Jagged family of transmembrane proteins, is involved in the activation of intracellular pathways during embryonic angiogenesis and hematopoiesis (Bray 2016; Kovall et al. 2017). While sDLL1 has been predominantly studied in cancerous and infectious diseases (Capaccione and Pine 2013; Hildebrand et al. 2018; Penton et al. 2012), recent research has highlighted its role in sepsis (Gallenstein et al. 2023; Hildebrand et al. 2019; Hölle et al. 2023; Schneck et al. 2022). sDLL1 interacts with human monocytes, triggering a cellular immune response via notch signaling and releasing pro-inflammatory cytokines (Hildebrand et al. 2018). Additionally, it contributes to sepsis-induced endothelial damage, leading to impaired vascular barrier function (Joffre et al. 2020; Moll et al. 2021). The notch signaling pathway has garnered interest in sepsis research due to its influence on T-cell dysfunction and potential role in sepsis-induced immunosuppression (Jin et al. 2019; Pan et al. 2015; Venet and Monneret 2018). In septic patients, sDLL1 levels showed superior diagnostic accuracy compared to established markers such as CRP, leukocytes, and procalcitonin (PCT) (Hildebrand et al. 2019).

Own data suggested that sDLL1 might also be influenced by renal function (Schneck et al. 2022). This has been demonstrated in septic patients for the first time and must be confirmed by further studies. For this reason, we aimed for another study collective offering a high risk for renal dysfunction. Patients undergoing cardiac surgery are at an increased risk for suffering perioperative acute kidney injury (AKI) and were therefore of interest. The incidence of AKI is described as being up to 40% after cardiac surgery, causing significant impact on the patients' long-term morbidity and mortality (Horne et al. 2023; Ortega-Loubon et al. 2022; Srivastava et al. 2012; Vandenberghe et al. 2015). It is of high importance that AKI is diagnosed as early as possible to provide adequate treatment (Yu et al. 2023).

In our previous study, we compared septic patients with patients either undergoing cardiac or major abdominal surgery (Schneck et al. 2022). sDLL1 increased already at the postoperative time point after cardiac surgery and increased further over the first 24 h, which was not seen in abdominal surgery. For this reason, questions were raised if it was connected to renal function (measured as creatinine, urea and glomerular filtration rate) and if it could be used as a biomarker for AKI. Therefore, this study aims to investigate sDLL1 levels in elective cardiac

surgical patients to explore its potential relationship with renal function and its predictive value for the detection of AKI.

As a secondary aim, this study seeks to explore the potential association of sDLL1 with other adverse events following cardiac surgery. Given its established role as a sepsis biomarker, the first objective is to investigate the relationship between sDLL1 and postoperative infections.

Additionally, the study will examine its association with postoperative delirium (POD), since notch signaling, which is regulated by DLL1, plays a key role in neuronal development and the regulation of neuronal apoptosis induced by neuro-inflammation. This is of particular interest, as, in addition to surgical trauma, inflammation plays a pivotal role in the development of POD and POCD after cardiac surgery (Liu et al. 2018; Staicu et al. 2025). The inflammatory response can impair brain function by disrupting synaptic plasticity and promoting neuroinflammation (Sekine and Uchino 2017). Furthermore, this is characterized by elevated levels of proinflammatory cytokines and inflammatory biomarkers, which have been shown in clinical studies to correlate with the occurrence of POD and POCD (Sekine and Uchino 2017). While the underlying mechanisms are complex and multifactorial, targeting perioperative inflammation represents a promising approach to reduce the risk of POD and POCD. In a randomized controlled trial, Glumac et al. demonstrated that preoperative administration of dexamethasone significantly reduced both the incidence and severity of early POCD in patients undergoing cardiac surgery (Glumac et al. 2017). This benefit was accompanied by a marked reduction in systemic inflammatory response syndrome and lower postoperative C-reactive protein levels, indicating that the anti-inflammatory effects of corticosteroids likely contributed to the cognitive protection observed. Notably, the involvement of sDLL1 in postoperative delirium has not yet been investigated (Ables et al. 2011).

The primary aim of this study is to investigate whether perioperative sDLL1 kinetics reflect renal dysfunction and correlate with the development of AKI after cardiac surgery. Additionally, we explored whether elevated or dynamic changes in sDLL1 levels are associated with the occurrence of postoperative infections or POD.

Methods

Study design

This study presents a secondary analysis of an observational trial at a tertiary university hospital (Zajonz et al. 2023). It was registered in the German Clinical Trials Register (trial registration: DRKS00010959) and performed with permission of the local ethics committee

(Justus Liebig University Giessen, Giessen, Germany; approval number AZ: 30/16). Written informed consent was obtained from all patients. The study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki (2013). The methods and results are presented according to the Strengthening of Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) guidelines (von Elm et al. 2008).

Study endpoints

The primary study goal objective was to quantify the amount of sDLL1 during the perioperative period and to identify a correlation with renal damage defined as increase to or above stage I by the definition of KDIGO (Kellum and Lameire 2013). Further, kidney parameters are correlated with the concentration of sDLL1 as a surrogate of renal function.

Secondary outcome parameters included postoperative infections (defined as pneumoniae, catheter-related bloodstream infections [CRBSI], and urogenital infections) and the development of POD. Secondary outcome parameters included postoperative infections, defined as pneumonia, catheter-related bloodstream infections, and urogenital infections. Pneumonia was diagnosed based on the presence of new or progressive infiltrates on chest imaging, combined with at least two of the following clinical criteria: fever, leukocytosis or leukopenia, purulent respiratory secretions, and increased oxygen requirements. CRBSI was defined by systemic signs of infection in a patient with a central venous catheter, along with microbiological evidence of the same pathogen in blood. Urinary tract infections were diagnosed based on fever, in combination with laboratory findings, including significant bacteriuria, with or without positive urine cultures. After extubation, POD development was monitored for 7 days using the Intensive Care Delirium Screening Checklist (ICDSC) and Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit (CAM-ICU). A patient with a positive result with either instrument was considered to have POD.

Patient recruitment

Patients were recruited between September 2016 and January 2020. Patients were included if elective coronary artery bypass graft (CABG) surgery with postoperative intensive care treatment was performed. Further, inclusion criteria included age ≥ 18 years, elective on-pump CABG surgery, and the ability to communicate in German or English. Patients were excluded in case of missing consent, denial of participation, pregnancy, pre-operative atrial fibrillation, severe bradycardia (< 60 bpm; types: sinus bradycardia, atrial fibrillation with low frequency, nodal rhythm, and second- or third-degree

atrioventricular block), acute infection before surgery, pre-existing autoimmune disease, immunomodulatory medication, left ventricular ejection fraction $< 30\%$, and renal insufficiency (Kidney Disease Improving Global Outcome score > 2). Further exclusion criteria were pseudocholinesterase deficiency, cognitive dysfunction (e.g., history of schizophrenia, other severe psychiatric conditions, or dementia with inability to adequately answer the CAM-ICU or ICDSC), and recent or persistent neurological impairment (e.g., acute cerebral infarction, intracranial bleeding, or acute meningitis in the last 3 months prior to study inclusion leading to inability to answer the CAM-ICU or ICDSC).

Management of cardiopulmonary bypass

The patients in this non-interventional study underwent standard anesthetic induction with sufentanil (0.25–0.5 $\mu\text{g/kg}$), etomidate (0.1–0.2 mg/kg), and pancuronium (0.05–0.1 mg/kg). Anesthesia was maintained using propofol (3 mg/kg/h) and sufentanil (0.3–1 $\mu\text{g/kg/h}$). Central venous access was established via the internal jugular vein, and arterial blood pressure was monitored through the radial artery.

Both conventional CPB (cCPB) and minimized extracorporeal circulation (MiECC) utilized the S5 Heart-Lung Machine (LivaNova, London, UK) equipped with membrane oxygenators. MiECC employed the CAPIOX® FX 15 Oxygenator (Terumo, Tokyo, Japan), while cCPB used the Inspire® 6 F Oxygenator (LivaNova, London, UK) alongside a specialized perfusion tubing system (LivaNova, London, UK). For cCPB, a roller pump and an additional reservoir (LivaNova, London, UK) were implemented, whereas MiECC operated with a centrifugal pump, without the need for a reservoir or hemofilter.

The priming solution for the circuits consisted of 1 L of crystalloid (Sterofundin Iso®, Braun, Melsungen, Germany), 250 mL of 15% mannitol (Seraq-Wiessner, Naila, Germany), and 50 mL of 20% albumin (CSL Behring, Marburg, Germany). For MiECC, 10,000 I.U. of heparin was added, while only 2500 I.U. was required for cCPB.

Sample processing

Blood was collected at six time points: immediately after induction of anesthesia (T1); 15 (T2) and 60 (T3) min after the commencement of CPB, respectively; and 15 (T4) and 120 (T5) min after the end of CPB after admission to the intensive care unit (ICU). Last, blood was drawn through the arterial line with the routine laboratory control at the early morning of the first postoperative day (T6). Blood was collected in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes (approximately 20 mL). Plasma samples were stored at -80°C . Clinical and laboratory data were obtained from the patient

data management system (IMESO GmbH, Giessen, Germany).

Quantification of sDLL1

The plasma concentration of sDLL1 was quantified using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (RayBiotech Life, Inc., Norcross, USA) according to the manufacturer's instructions. To fit measurements into the calibration curves and simultaneously reduce interfering matrix effects, all samples were diluted 1:30 (or higher if demanded by the concentration) with the supplied Assay Diluent A prior to the measurements. An ELx808 microplate reader (BioTek Instruments, Inc., Winooski, USA) was used for absorbance measurements, with a subsequent automatized calculation of concentrations by the corresponding Gen5 software (BioTek Instruments, Inc., Winooski, USA).

Statistical analysis

All numeric data were expressed as median and interquartile range (IQR). The analysis of variations in plasma sDLL1 levels across different time points was performed by repeated measures ANOVA, followed by the Tukey HSD test. The comparison of postoperative sDLL1 levels for patients with POD or AKI versus those without, respectively, was done by Wilcoxon Test. Potential

correlation between plasma sDLL1 levels and inflammatory and renal parameters was analyzed by Pearson's correlation coefficient. Influence of sDLL1 on POD or AKI has been examined by logistic regression analysis while receiver operating characteristic (ROC) curve analyses were used for the calculation of area under the ROC curve (AUCROC), sensitivity, and specificity of inflammatory and renal parameters. p -values < 0.05 were considered statistically significant and set as two-sided. All data were stored in an external database (Microsoft Excel, Redmond, USA). Data were analyzed using R version 4.3.2 (2023–10–31; www.r-project.org).

Results

Study cohort

Of the 100 patients included in the primary study, sufficient sample volume for this secondary analysis was achievable for 90 patients. The characteristics of these 90 patients are shown in Table 1. The only difference between the study groups was the incidence of myocardial infarction within the 90 days prior to surgery, with a higher occurrence in the cCPB group ($p < 0.001$). No correlation was found between underlying diseases and sDLL1 concentrations, except for diabetes (logistic regression, $p < 0.001$). No patient died during the observational period. Plasma levels of sDLL1 were

Table 1 Baseline characteristics

Parameters	All patients	MI/ECC	cCPB
Age (years)	64 [57.25–71]	61.5 [56.75–71]	67.5 [59–72.5]
Male sex, n (%)	79 (87.8)	44 (91.7)	35 (83.3)
BMI (kg/m^2)	29.04 [26.02–32.13]	29.2 [27.74–31.85]	28.41 [24.97–32.98]
EuroSCORE	1.06 [0.76–1.32]	0.96 [0.76–1.25]	1.13 [0.77–1.52]
Pre-existing diseases			
Angina pectoris, n (%)	59 (67.0)	34 (72.3)	25 (61.0)
Arterial hypertension, n (%)	78 (87.6)	43 (89.6)	35 (85.4)
Acute myocardial infarction, n (%)	22 (24.7)	9 (18.8)	13 (31.7)
Myocardial infarction within the last 90 days prior to surgery, n (%)	19 (21.6)	4 (8.5)	15 (36.6)
Concurrent valvular disease			
Stroke, n (%)	11 (12.4)	2 (4.2)	9 (22.0)
Diabetes, n (%)	35 (39.3)	18 (37.6%)	17 (41.5%)
Chronic obstructive pulmonary disease (> 1), n (%)	10 (11.2)	5 (10.4)	5 (12.2)
Smoker, n (%)	54 (60.7)	28 (58.3)	26 (63.4)
Alcohol abuse, n (%)	2 (2.2)	1 (2.1)	1 (2.4)
Process times			
Duration of anesthesia (min)	201.5 [172.56–233.5]	192.75 [168.19–224]	214.88 [189–248.5]
Duration of CPB (min)	83 [72–105]	78 [68.75–92.25]	90 [77–112.5]
Duration of invasive ventilation (min)	809 [605.25–1079.5]	780.5 [576–1077.75]	834 [655–1144.75]

Abbreviation: CPB Cardiopulmonary bypass

correlated with the duration of anesthesia (correlation coefficient = 0.30 [0.08–0.49]; $p = 0.007$).

Time courses of sDLL1

Independently of the type of CPB, the amount of sDLL1 increased significantly in comparison to the preoperative values. The increase began 15 min after the ending of the CPB (T4), independently of the use of MiECC or cCPB (Fig. 1, Table 2). Summarized data of the postoperative time points (T5 & T6, MiECC and cCPB) showed significant elevation of sDLL1 compared to

T1–T4 (all $p < 0.001$), whereas sDLL1 is already elevated close to the end of CPB, respectively (T4 compared to T5 and T6: $p = 0.006$ and $p < 0.001$).

Overall, sDLL1 concentrations were not significantly lower in patients undergoing MiECC compared to cCPB ($p = 0.75$). However, a significant increase in sDLL1 levels was observed with cCPB as early as T4 (cCPB T4 vs. T1: $p < 0.01$, T2: $p < 0.01$, and T3: $p < 0.05$; T5 and T6 vs. T1, T2, and T3: $p < 0.001$), while with MiECC, a significant increase was only observed

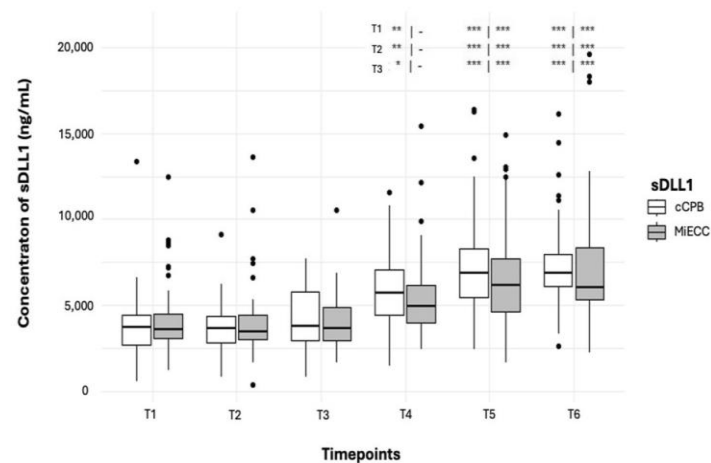


Fig. 1 Boxplots showing the time course of sDLL1 in dependence on MiECC and cCPB. Asterisks refer to the boxplots below and denote significant differences compared to T1, T2, and T3 (cCPB | MiECC; *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$). Abbreviations: cCPB = conventional cardiopulmonary bypass, MiECC = minimized extracorporeal circulation, sDLL1 = soluble Delta-like canonical Notch ligand

Table 2 Overview on the results of the sDLL1 quantification

	sDLL1 (ng/mL) All patients	sDLL1 (ng/mL) POD	sDLL1 (ng/mL) non-POD	p-value
T1 (preoperative)	3647.82 [2898.75–4435.47]	3825.60 [2680.14–5245.14]	3631.51 [3034.72–4287.95]	1.00
T2 (15' CPB)	3472.65 [2899.05–4416.65]	3780.93 [3029.38–5494.32]	3472.65 [2880.16–4181.87]	1.00
T3 (60' CPB)	3820.77 [2945.75–5297.3]	4785.54 [3815.94–6181.35]	3615.21 [2847.3–4773.81]	0.98
T4 (15' after end of CPB)	5248.54 [4074.91–6982.27]	5970.69 [4677.93–8163.12]	5074.02 [4027.88–6589.26]	0.98
T5 (120' after end of CPB)	6370.77 [5043.51–8106.96]	7896.15 [6557.85–11,868.75]	6027.78 [4767.7–7330.26]	0.04
T6 (1st day postoperative)	6511.14 [5441.26–8218.6]	8282.25 [6468.03–11364.72]	6106.2 [5177.92–7514.33]	<0.001
All postoperative time points summarized (T5–T6)	6490.47 [5233.52–8224.22]	6143.50 [5063.32–8185.73]	6903.57 [5545.01–8178.04]	n.s.

Measurements are given as median [interquartile range]; p-value is given for comparison POD vs. non-POD

Abbreviations: POD = postoperative delirium (three patients with preoperative delirium included), sDLL1 = soluble Delta-like canonical Notch ligand 1

at T5 and T6 (MiECC T5 and T6 vs. T1, T2, and T3: $p < 0.001$). Absolute values are shown in Table 1.

Primary endpoint analysis

sDLL1 as potential predictive biomarker for AKI

Altogether 28 patients (31.1%) suffered from an AKI stage 1 or higher (AKI 1 $n=24$ [26.7%]; AKI 2 $n=3$ [3.3%]; AKI 3 $n=1$ [1.1%]; Fig. 2D). Postoperative sDLL1 levels in patients with AKI were statistically significantly higher than those in patients without kidney damage (no AKI: 6150.99 [5115.12–7540.8], AKI 7515.54 [5852.94–10,890.24]; $p=0.002$). Urea decreased significantly on day 1 after surgery compared to the baseline value; however, without a clinical relevance (baseline urea [T1]=30 [26–37], postoperative [T5 and T6]=27 [22–32]; $p=0.004$). The averaged pre-, intra-, and postoperative plasma concentration of sDLL1 showed a correlation with the renal parameters creatinine, urea, and GFR, especially in the postoperative period (all timepoints: creatinine: correlation coefficient=0.25, adj. $r^2=0.06$, $p<0.001$; urea: correlation coefficient=0.20, adj. $r^2=0.04$, $p<0.001$; glomerular

filtration rate [GFR]: correlation coefficient= -0.21 , $r^2=0.05$, $p<0.001$; post-operative timepoints [T5 and T6]: creatinine: correlation coefficient=0.39, adj. $r^2=0.15$, $p<0.001$; urea: correlation coefficient=0.41, adj. $r^2=0.16$, $p<0.001$; GFR: correlation coefficient= -0.31 , $r^2=0.09$, $p<0.01$; Fig. 2A–C). However, postoperative sDLL1 levels provided only limited value in predicting AKI (Table 3).

Secondary endpoint analysis

sDLL1 as potential predictive biomarker for infection

No patient developed a sepsis, catheter-related bloodstream infection, or urogenital infection. Pneumonia was the most common infectious disease with three (3.3%) cases. In these patients, postoperative sDLL1 plasma levels were not significantly increased compared to patients without pneumonia (without pneumonia 6419.4 [5126.95–8256.04]; with pneumonia: 7235.43 [7010.65–7457.26]; $p=0.36$). Data of sDLL1 and the other inflammatory parameters are shown in Supplementary Table S1.

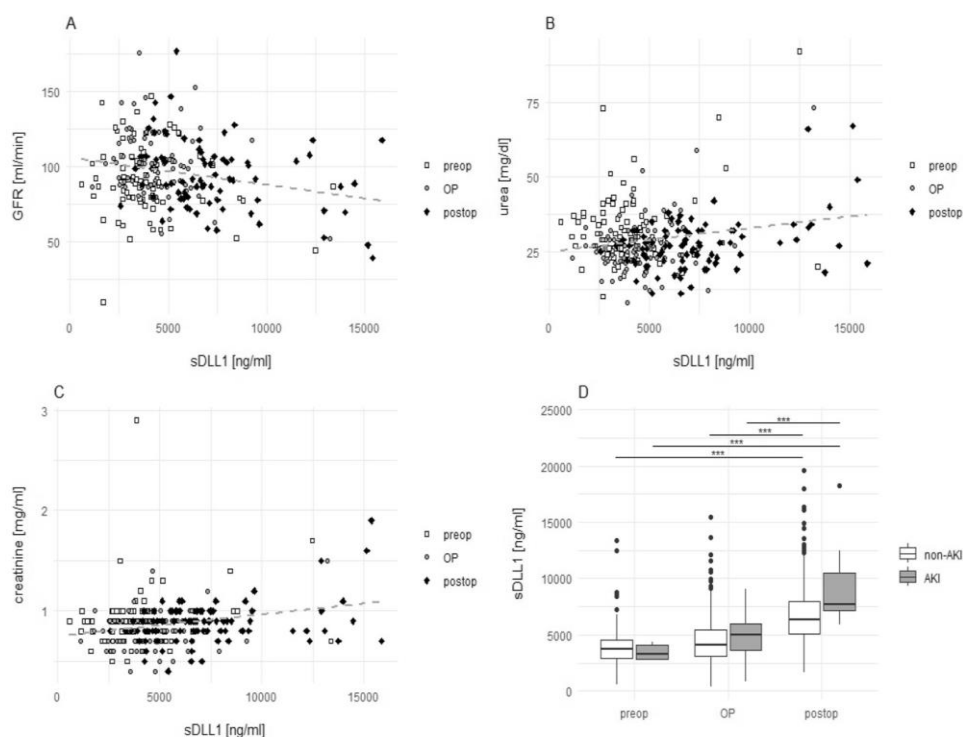


Fig. 2 Scatterplots showing the correlation of sDLL1 with the GFR (A), the concentration of urea (B) and creatinine (C). D demonstrates boxplot diagrams of sDLL1 at different time frames in dependence on the occurrence of an AKI. Abbreviations: GFR=glomerular filtration rate; OP=intraoperative (T2–4); preop=preoperative (T1); postop=postoperative (T5 and T6); sDLL1=soluble Delta-like canonical Notch ligand

Table 3 Results of the logistic regression and ROC analysis for the prediction of AKI of the postoperative timepoints (T5 and T6)

Parameter	AUCROC [95% CI]	Cutoff value	Specificity	Sensitivity	p-value
sDLL1 (ng/mL)	0.63 [0.654–0.73]	7587.42	0.76	0.49	0.003
Creatinine (mg/dL)	0.72 [0.59–0.84]	0.95	0.84	0.58	0.006
Glomerular filtration rate (mL/min)	0.76 [0.63–0.89]	85.5	0.81	0.67	< 0.001
Urea (mg/dL)	0.66 [0.53–0.80]	28.5	0.72	0.61	0.035

ROC analysis included all postoperative time points of the surgical patients

Abbreviations: AKI Acute kidney injury, AUCROC Area under the ROC curve, 95% CI 95% confidence interval, ROC Receiver operating characteristic, sDLL1 soluble Delta-like canonical Notch ligand

sDLL1 as a potential biomarker for postoperative delirium

Overall, 21 (23.3%) patients developed POD, while three of those had delirium already prior to surgery. Postoperative (T5 and T6) sDLL1 plasma levels were significantly elevated in patients with POD (Table 4, Fig. 3) and showed a moderate prediction for the identification of POD (AUCROC 0.72, sensitivity 0.64 specificity 0.73, $p < 0.001$, Fig. 4). A trend towards predictiveness can already be seen during surgery ($p < 0.05$).

Discussion

This study revealed three main findings. First, it demonstrated the intra- and early postoperative dynamics of sDLL1, which have not yet been described. sDLL1 levels rose as early as 15 min after the end of CPB, regardless of whether MiECC or cCPB was used, indicating that the type of CPB did not influence sDLL1 release. Second, plasma concentrations of sDLL1 increased in the early postoperative phase, correlated with renal parameters, and provided moderate predictive value for AKI. Lastly, sDLL1 concentrations were elevated in patients who developed POD and showed also moderate prediction for identifying POD.

Since sDLL1 has been evaluated as a biomarker for gram-negative infections and sepsis, its behavior during cardiac surgery has hardly been investigated. This study suggests that sDLL1 is robust against preoperative confounders such as pre-existing diseases or medications. Only pre-existing diabetes correlated with increased sDLL1 concentrations, a finding not previously reported. Furthermore, neither the induction of anesthesia nor the initiation of CPB raised sDLL1 plasma levels immediately. Interestingly, it was not the duration of CPB but the duration of anesthesia that was associated with elevated sDLL1 levels, raising the question of whether CPB alone is responsible for sDLL1 release. A potential link between anesthesia and adverse outcomes could be the drug interactions or the occurrence of intraoperative hypotension, for example (Sun et al. 2018; Wesselink et al. 2018; Zarour et al. 2024). The finding that MiECC did not reduce circulating sDLL1 compared to cCPB suggests that CPB is not the sole contributor to sDLL1 release. This result was somewhat unexpected, as MiECC is known to reduce other inflammatory biomarkers (Liebold and Albrecht 2019; Remadi et al. 2006; Zajonz et al. 2022). Although

Table 4 Overview on the results of the sDLL1 quantification in patients with and without POD

	sDLL1 (ng/mL) All patients	sDLL1 (ng/mL) POD	sDLL1 (ng/mL) non-POD	p-value
T1 (preoperative)	3647.82 [2898.75–4435.47]	3825.60 [2680.14–5245.14]	3631.51 [3034.72–4287.95]	1.00
T2 (15' CPB)]	3472.65 [2899.05–4416.65]	3780.93 [3029.38–5494.32]	3472.65 [2880.16–4181.87]	1.00
T3 (60' CPB)	3820.77 [2945.75–5297.3]	4785.54 [3815.94–6181.35]	3615.21 [2847.3–4773.81]	0.98
T4 (15' after end of CPB)	5248.54 [4074.91–6982.27]	5970.69 [4677.93–8163.12]	5074.02 [4027.88–6589.26]	0.98
T5 (120' after end of CPB)	6370.77 [5043.51–8106.96]	7896.15 [6557.85–11,868.75]	6027.78 [4767.7–7330.26]	0.04
T6 (1st day postoperative)	6511.14 [5441.26–8218.6]	8282.25 [6468.03–11364.72]	6106.2 [5177.92–7514.33]	< 0.001

Measurements are given as median [interquartile range]; p-value is given for comparison POD vs. non-POD

Abbreviations: POD postoperative delirium (three patients with preoperative delirium included), sDLL1 soluble Delta-like canonical Notch ligand 1

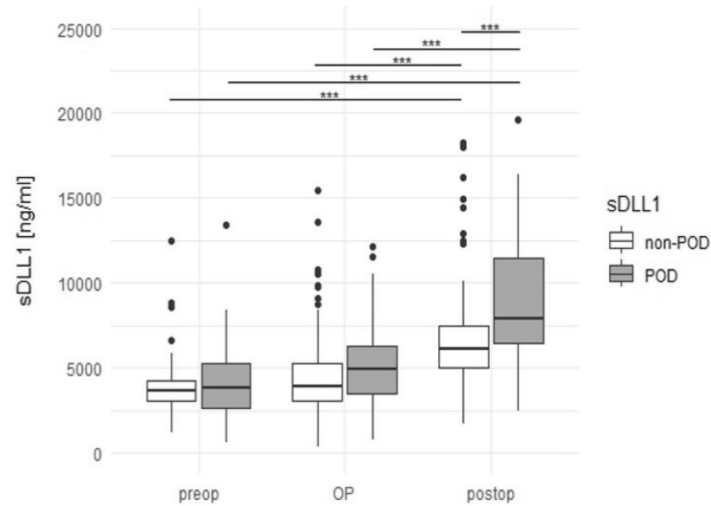


Fig. 3 Boxplot demonstrating differences in the sDLL1 plasma levels in dependence on the occurrence of POD. Abbreviations: OP = intraoperative (T2-4); preop = preoperative (T1); postop = postoperative (T5 and T6); POD = postoperative delirium

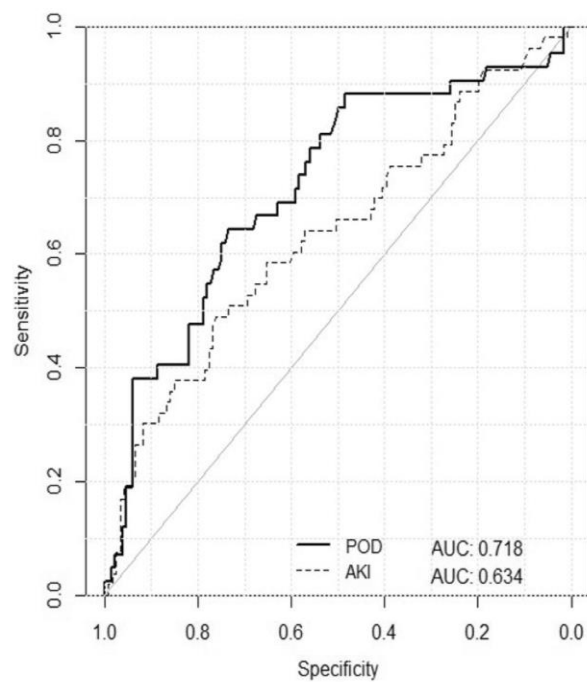


Fig. 4 ROC curve demonstrating the predictive power of postoperative sDLL1 plasma levels for positive diagnosis of delirium (POD) and kidney damage (AKI). Abbreviations: AKI = acute kidney injury; AUC = area under the curve; POD = postoperative delirium

our previous study did not describe the intraoperative course of sDLL1, it did measure levels post-cardiac surgery (Schneck et al. 2022). Compared to the current

results, it is notable that overall sDLL1 concentrations were lower in the previous study, although the relative changes (doubling from preoperative to 24 h

postoperatively) remained comparable. The cause of this discrepancy is unclear, as both studies included patients undergoing elective CABG surgery, with MiECC accounting for the lower sDLL1 concentrations.

The use of CPB in cardiac surgery has a profound impact on inflammatory processes of the human body. Exposure to artificial surfaces, ischemia–reperfusion injury, and the sheer physical stress induced by CPB collectively trigger a systemic inflammatory response. This heightened inflammatory state can significantly alter the levels of numerous biomarkers, often resulting in non-specific elevations that obscure their diagnostic or prognostic value (Squicciarro et al. 2022). The systemic inflammatory response triggered by CPB, including the activation of cytokines, complement pathways, and leukocytes, may elevate biomarker levels nonspecifically. The role of sDLL1 in the context of CPB is not yet well understood. However, since the Notch signaling pathway plays a key role in the development of cardiac and vascular tissue, it can be assumed that it is involved in the CPB-related inflammatory response (MacGrogan et al. 2018). One possible link is the interaction between metalloproteases and the Notch signaling family, including sDLL1. For instance, strong inflammation and cardiovascular disease lead to an upregulation of ADAM metalloproteases (A Disintegrin and Metalloproteinase, ADAM10/17), which cleave membrane-bound DLL1 (Dyczynska et al. 2007; Quillard and Charreau 2013). This process is further amplified by complement activation and damage-associated molecular patterns (DAMPs), which stimulate Toll-like receptors and activate NF- κ B-dependent pathways, thereby enhancing both DLL1 expression and its proteolytic processing. Inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1 β (IL-1 β), and interferon- γ (IFN- γ) induce a shift in the expression pattern of Notch molecules in endothelial cells, which are also directly affected by CPB. This mechanism may contribute to post-CPB vascular leakage and other complications such as AKI.

The generalized inflammatory response can also reduce the specificity of AKI biomarkers, making it challenging to distinguish true renal injury from the inflammatory background noise caused by CPB. Consequently, the reliability of biomarkers as indicators of specific pathophysiological conditions is compromised, as their levels may reflect not only the underlying disease process but also the generalized inflammatory response induced by CPB. Consequently, markers such as neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and kidney injury molecule-1 (KIM-1), while potentially useful in detecting AKI, may reflect, particularly in less severe cases of AKI, the overall inflammatory status rather than isolated renal damage (Doi et al. 2013; Ho et al. 2015).

For this reason, the search for biomarkers for AKI is continuing. It was known that sDLL1 is robust to the influence of confounding factors such as pre-existing diseases and medications, which has also been demonstrated in this study. However, a previous own study showed a potential association of sDLL1 and disturbances of the renal function (Schneck et al. 2022). Therefore, the primary aim of this study was to investigate if sDLL1 was associated with the renal parameters and AKI. 31.1% of patients developed stage I AKI, and we demonstrated that sDLL1 correlated with renal parameters and was significantly elevated in patients with AKI compared to those without. Nevertheless, postoperative sDLL1 plasma levels demonstrated little predictive power for detecting AKI, with sensitivity and specificity comparable to that of GFR, creatinine and urea (sDLL1: sensitivity 0.77, specificity 0.49). This result indicates that sDLL1 release might be triggered by the nonspecific inflammatory response induced by anesthesia, surgery, or CPB rather than a specific renal source. However, only the postoperative increase in sDLL1 correlated with renal damage, limiting its utility as a tool for preoperative risk assessment. Interestingly, the only prior study investigating the relationship between sDLL1 and AKI reported an AUCROC of 0.9 [0.82–0.9] for AKI detection in septic and postsurgical patients, suggesting synergistic effects between infectious disease and AKI (Schneck et al. 2022). It is possible that sepsis, which leads to much higher sDLL1 concentrations and more severe AKI, enhanced the sensitivity and specificity of sDLL1 for AKI detection. In summary, sDLL1 is most likely not suitable as a standalone biomarker for AKI; however, its association with renal function should be considered when using it as an infectious biomarker. Furthermore, it may have utility in multi-panel approaches that are also being explored for AKI detection following cardiac surgery (Kalisnik et al. 2022; Squicciarro et al. 2022). It would be ideal to identify preoperative parameters, as this would allow for risk assessment before surgery rather than relying solely on intraoperative findings without the possibility of therapeutic actions (e.g., preconditioning).

In an exploratory approach, we set a secondary aim for the study to investigate the predictive capacity of sDLL1 for identifying POD. Surprisingly, our findings showed that postoperative sDLL1 concentrations were increased in patients with POD, and furthermore, that sDLL1 was predictive for its identification. This is the first study to describe this finding; therefore, it should be interpreted with caution until confirmed in subsequent studies. These findings may be explained by several factors. First, sDLL1 could serve as a biomarker for inflammatory processes associated with surgical stress. It is well established that surgical procedures trigger a systemic

inflammatory response, which may stimulate the release of sDLL1. Given that POD is often linked to inflammatory and neuroinflammatory reactions, the elevated sDLL1 levels might indicate underlying pathophysiological processes (Jin et al. 2020). Additionally, sDLL1 may play a role in neuronal signaling and the regulation of cell adhesion (Ables et al. 2011; Gallenstein et al. 2023). Dysregulation of these processes could contribute to the development of POD by exacerbating neuroinflammatory mechanisms or impairing neuronal homeostasis. Lastly, even though sDLL1 seemed to be robust against confounding factors, it cannot be ruled out by one study that the association between increased sDLL1 and POD might also be influenced by patient characteristics such as age, cognitive impairments, or preoperative comorbidities, which could affect both sDLL1 levels and the risk of developing POD. These factors warrant further investigation in future studies to validate the role of sDLL1 as a biomarker for POD and to better understand the underlying mechanisms.

This study has several limitations. First, the relatively small sample size of the study limited its statistical power, particularly with regard to subgroup analyses such as infectious complications. Nonetheless, the findings provide valuable insights that may guide sample size estimations for future research, consistent with the exploratory nature of the study. The results highlight the relevance of further investigating sDLL1 dynamics during CPB and emphasize the need for larger, prospectively designed studies with a higher number of patients. Second, as a secondary analysis of an observational study, plasma concentrations of PCT were not available for all patients. However, since PCT kinetics typically develop after 24 h, a timepoint beyond the observational period, this limitation is of only minor relevance to the study (Aoufi et al. 1999). Furthermore, the observed increase in PCT levels was only modest. Additionally, due to the study's design, it was not possible to measure sDLL1 concentrations in urine, which would have been of considerable interest. Third, the observation period was relatively short because of the study's exploratory nature. Fourth, the inclusion period was prolonged due to competing studies; however, anesthetic approaches remained unchanged during this time frame. Finally, as previously noted, this study does not elucidate the underlying mechanisms of sDLL1 release in surgical intensive care patients.

Conclusion

In conclusion, this study demonstrates that sDLL1 is associated with renal damage and POD following cardiac surgery and may support the prediction of POD. sDLL1 levels increase independently of CPB type, suggesting a primary role in the inflammatory response to

surgical stress rather than indicating specific renal injury. These findings highlight the potential utility of sDLL1 for detecting AKI and POD; though further research is essential to confirm its relevance and clarify the mechanisms underlying its release in cardiac surgery patients. Particularly, the low predictive ability for detecting AKI warrants further investigation.

Abbreviations

AKI	Acute kidney injury
AUC ROC	Area under the curve of the receiver operator characteristic
CABG	Coronary artery bypass graft
CAM-ICU	Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit
cCPB	Conventional cardiopulmonary bypass
CPB	Cardiopulmonary bypass
CRBSI	Catheter-related bloodstream infections
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ICDSC	Intensive Care Delirium Screening Checklist
IQR	Interquartile range
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
KIM-1	Kidney injury molecule-1
MI-ECC	Minimized extracorporeal circulation
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
POD	Postoperative delirium
PCT	Procalcitonin
ROC	Receiver operating characteristic
sDLL1	Soluble Delta-like protein 1
STROBE	Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology

Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s13741-025-00570-4>.

Supplementary Material. Supplemental Table 1. Overview of the inflammatory parameters at different time points. Values are given as median [IQR]. Abbreviations: CRP = C-reactive protein; IL-6 = interleukin 6; IQR = interquartile range; N.A. = Not available; PCT = Procalcitonin.

Acknowledgements

Not applicable.

Authors' contributions

ES, TZ, CK, and MS were responsible for the study design and conduct; ES, TZ, FE, BN, AS, and FB for data acquisition, and interpretation, as well as the writing of the manuscript; MM, for performing the statistical analysis; and ES, MS, FU, MAW and CK, for interpretation, as well as approving and helping to draft the manuscript. All authors reviewed the manuscript. All authors approved the final version of the manuscript.

Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. This study was funded by the (S2 of the Cooperation Agreement). The funder did not influence the study design, data collective or analysis, publication decision, or manuscript preparation. The applicant was T.Z.

Data availability

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

Declarations

Ethics approval and consent to participate

All included patients approved to their study participation. The study was performed with permission of the local ethics committee (Justus Liebig University Giessen, Giessen, Germany; approval number AZ: 30/16).

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Author details

¹Department of Anesthesiology, Operative Intensive Care Medicine and Pain Therapy, University Hospital of Giessen and Marburg, Giessen, Germany.

²Department of Anesthesiology, Heidelberg University Hospital, Heidelberg, Germany. ³Department of Adult and Pediatric Cardiac and Vascular Surgery, University Hospital Giessen and Marburg Campus Giessen, Giessen, Hessen, Germany.

Received: 6 May 2025 Accepted: 25 July 2025

Published online: 07 August 2025

References

- Ables JL, Breunig JJ, Eisch AJ, Rakic P. Not(ch) just development: notch signalling in the adult brain. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2011 May 20;12(5):269–83. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrn3024>
- Aouifi A, Piriou V, Blanc P, Bouvier H, Bastien O, Chiari P, et al. Effect of cardiopulmonary bypass on serum procalcitonin and C-reactive protein concentrations. *Br J Anaesth*. 1999. <https://doi.org/10.1093/bja/83.4.602>
- Bray SJ. Notch signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2016 Nov 10;17(11):722–35. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrm.2016.94>
- Capaccione KM, Pine SR. The Notch signaling pathway as a mediator of tumor survival. *Carcinogenesis* [Internet]. 2013 Jul 1;34(7):1420–30. Available from: <https://academic.oup.com/carcin/article-lookup/doi/10.1093/carcin/bgt127>
- Doi K, Urata M, Katagiri D, Inamori M, Murata S, Hisagi M, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in acute kidney injury superimposed on chronic kidney disease after cardiac surgery: a multicenter prospective study. *Crit Care*. 2013. <https://doi.org/10.1186/cc13104>
- Dyczynska E, Sun D, Yi H, Sehara-Fujisawa A, Blobel CP, Zolkiewska A. Proteolytic processing of delta-like 1 by ADAM proteases. *J Biol Chem*. 2007 Jan 5;282(1):436–44.
- Gallenstein N, Tichy L, Weigand MA, Schenz J. Notch Signaling in Acute Inflammation and Sepsis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023 Feb 9;24(4):3458. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/4/3458>
- Glumac S, Kardum G, Sodlic L, Supe-Domic D, Karanovic N. Effects of dexamethasone on early cognitive decline after cardiac surgery. *Eur J Anaesthesiol*. 2017 Nov;34(11):776–84.
- Hildebrand D, Uhle F, Sahin D, Krauser U, Weigand MA, Heeg K. The interplay of notch signaling and STAT3 in TLR-activated human primary monocytes. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2018 Jul 10;8. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2018.00241/full>
- Hildebrand D, Decker SO, Koch C, Schmitt FCF, Ruhmann S, Schneek E, et al. Host-derived delta-like canonical notch ligand 1 as a novel diagnostic biomarker for bacterial sepsis—results from a combinational secondary analysis. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. Elsevier; 2019 Jul 23;9(1):1–8. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2019.00267/full>
- Ho J, Tangri N, Komenda P, Kaushal A, Sood M, Brar R, et al. Urinary, plasma, and serum biomarkers' utility for predicting acute kidney injury associated with cardiac surgery in adults: a meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases* [Internet]. 2015 Dec;66(6):993–1005. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272638615009403>
- Hölle T, Rehn P, Leventogiannis K, Kotsaki A, Kanni T, Antonakos N, et al. Evaluation of the novel sepsis biomarker host-derived delta-like canonical notch ligand 1—a secondary analysis of 405 patients suffering from inflammatory or infectious diseases. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023 May 23;24(11):9164. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/11/9164>
- Horne KL, Viramontes-Hörner D, Packington R, Monaghan J, Shaw S, Akani A, et al. A comprehensive description of kidney disease progression after acute kidney injury from a prospective, parallel-group cohort study. *Kidney Int* [Internet]. 2023 Dec;104(6):1185–93. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253823005641>
- Jin B, Liang Y, Liu Y, Zhang L-X, Xi F-Y, Wu W-J, et al. Notch signaling pathway regulates T cell dysfunction in septic patients. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2019 Nov;76(July):105907. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576919315863>
- Jin Z, Hu J, Ma D. Postoperative delirium: perioperative assessment, risk reduction, and management. *Br J Anaesth* [Internet]. 2020 Oct;125(4):492–504. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007091220305663>
- Joffe J, Hellman J, Ince C, Ait-Oufella H. Endothelial responses in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2020 Aug 1;202(3):361–70. Available from: <https://www.atsjournals.org/doi/10.1164/rccm.201910-1911TR>
- Kalishnik JM, Steblovnik K, Hrovat E, Jerin A, Skitek M, Dinges C, et al. Enhanced detection of cardiac surgery-associated acute kidney injury by a composite biomarker panel in patients with normal preoperative kidney function. *J Cardiovasc Dev Dis* [Internet]. 2022 Jul 1;9(7):210. Available from: <https://www.mdpi.com/2308-3425/9/7/210>
- Kellum JA, Lameire N. Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). *Crit Care* [Internet]. 2013;17(1):204. Available from: <http://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc11454>
- Kovall RA, Gebelein B, Sprinzak D, Kopan R. The canonical notch signaling pathway: structural and biochemical insights into shape, sugar, and force. *Dev Cell* [Internet]. 2017 May;41(3):228–41. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1534580717302940>
- Liebold A, Albrecht G. Minimized extracorporeal circulation in non-coronary surgery. *J Thorac Dis* [Internet]. 2019 Jun;11(S10):S1498–506. Available from: <http://jtd.amegroups.com/article/view/27338/21363>
- Liu X, Yu Y, Zhu S. Inflammatory markers in postoperative delirium (POD) and cognitive dysfunction (POCD): a meta-analysis of observational studies. *PLoS One*. 2018;13(4):e0195659.
- MacGrogan D, Münch J, de la Pompa JL. Notch and interacting signalling pathways in cardiac development, disease, and regeneration. *Nat Rev Cardiol*. Nature Publishing Group; 2018. p. 685–704.
- Moll M, Reichel K, Nurjadi D, Förmer S, Krall LJ, Heeg K, et al. Notch ligand delta-like 1 is associated with loss of vascular endothelial barrier function. *Front Physiol* [Internet]. 2021 Dec 10;12(December):1–9. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.766713/full>
- Ortega-Loubon C, Tamayo E, Jorge-Monjas P. Cardiac surgery-associated acute kidney injury: current updates and perspectives. *J Clin Med* [Internet]. 2022 May 28;11(11):3054. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/11/11/3054>
- Pan T, Liu Z, Yin J, Zhou T, Liu J, Qu H. Notch signaling pathway was involved in regulating programmed cell death 1 expression during sepsis-induced immunosuppression. *Mediators Inflamm*. 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/539841>
- Penton AL, Leonard LD, Spinner NB. Notch signaling in human development and disease. *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. 2012 Jun;23(4):450–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1084952112000146>
- Quillard T, Charreau B. Impact of notch signaling on inflammatory responses in cardiovascular disorders. *Int J Mol Sci*. 2013;14(4):6863–88.
- Remadi JP, Rakotoarivelo Z, Marticho P, Benamar A. Prospective randomized study comparing coronary artery bypass grafting with the new mini-extracorporeal circulation Jostra System or with a standard cardiopulmonary bypass. *Am Heart J*. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2005.03.067>
- Schneek E, Edinger F, Uhle F, Markmann M, Hecker A, Weigand MA, et al. Delta-like canonical Notch ligand 1 is predictive for sepsis and acute kidney injury in surgical intensive care patients. *Sci Rep* [Internet]. Nature Publishing Group UK; 2022 Aug 3;12(1):13355. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-17778-9>

- Sekine S, Uchino H. Mechanism of POD and POCD - effect of other than anesthetics. *Anesthesia and Neurotoxicity*. Tokyo: Springer Japan; 2017. p. 151–67.
- Squicciarro E, Stasi A, Lorusso R, Paparella D. Narrative review of the systemic inflammatory reaction to cardiac surgery and cardiopulmonary bypass. *Artif Organs* [Internet]. 2022 Apr 21;46(4):568–77. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aor.14171>
- Srivastava V, D'Silva C, Tang A, Sogliani F, Ngaage DL. The impact of major perioperative renal insult on long-term renal function and survival after cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* [Internet]. 2012 Jul 1;15(1):14–7. Available from: <https://academic.oup.com/icvts/article-lookup/doi/10.1093/icvts/ivs106>
- Staicu R-E, Vernic C, Ciurescu S, Lascu A, Aburel O-M, Deutsch P, et al. Postoperative delirium and cognitive dysfunction after cardiac surgery: the role of inflammation and clinical risk factors. *Diagnostics*. 2025 Mar 26;15(7):844.
- Sun LY, Chung AM, Farkouh ME, van Diepen S, Weinberger J, Bourke M, et al. Defining an intraoperative hypotension threshold in association with stroke in cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2018;129(3):440–7. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002298>.
- Vandenberghe W, Gevaert S, Kellum JA, Bagshaw SM, Peperstraete H, Herck I, et al. Acute kidney injury in cardiorenal syndrome type 1 patients: a systematic review and meta-analysis. *Cardiorenal Med*. 2015. <https://doi.org/10.1159/000442300>.
- Venet F, Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nat Rev Nephrol* [Internet]. 2018 Feb 11;14(2):121–37. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrneph.2017.165>
- von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*. 2008;61(4):344–9.
- Wesselink EM, Kappen TH, Torn HM, Slooter AJC, van Klei WA. Intraoperative hypotension and the risk of postoperative adverse outcomes: a systematic review. *Br J Anaesth* [Internet]. 2018 Oct;121(4):706–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30236233>
- World Medical Association Declaration of Helsinki. *JAMA*. 2013 Nov 27;310(20):2191.
- Yu Y, Li C, Zhu S, Jin L, Hu Y, Ling X, et al. Diagnosis, pathophysiology and preventive strategies for cardiac surgery-associated acute kidney injury: a narrative review. *Eur J Med Res*. 2023;28(1):45. <https://doi.org/10.1186/s40001-023-00990-2>.
- Zajonz TS, Kunzemann C, Schreiner AL, Beckert F, Schneck E, Boening A, et al. Potentials of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase alterations in on-pump coronary artery bypass surgery in postoperative delirium: an observational trial. *J Clin Med*. 2023;12(16).
- Zajonz T, Koch C, Schwiddessen J, Markmann M, Hecker M, Edinger F, et al. Minimized extracorporeal circulation is associated with reduced plasma levels of free-circulating mitochondrial DNA compared to conventional cardiopulmonary bypass: a secondary analysis of an exploratory, prospective, interventional study. *J Clin Med* [Internet]. 2022 May 25;11(11):2994. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/11/11/2994>
- Zarour S, Weiss Y, Abu-Ghanim M, Iacubovici L, Shaylor R, Rosenberg O, et al. Association between intraoperative hypotension and postoperative delirium: a retrospective cohort analysis. *Anesthesiology*. 2024;141(4):707–18. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000005149>.

Publisher's Note

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