

Der Stellenwert von intestinalen Biomarkern (IFABP und TFF3) in Blut und Urin bei Kindern im postoperativen Verlauf nach Herzoperationen

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Nicolas Börter

aus Remscheid

2026

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachterin: PD Dr. Nicole Müller
2. Gutachterin: Prof. Dr. Bettina Gohlke

Tag der mündlichen Prüfung: 24.06.2026

Aus der Abteilung für Kinderkardiologie; Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	4
1.	Deutsche Zusammenfassung	6
1.1	Einleitung	6
1.2	Material und Methoden	9
1.3	Ergebnisse	16
1.4	Diskussion	23
1.5	Zusammenfassung	30
1.6	Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	32
2.	Veröffentlichung	38
3.	Erklärung zum Eigenanteil	39
4.	Danksagung	40
5.	Publikation (PDF-Version)	41

Abkürzungsverzeichnis

APW	Aortopulmonales Fenster
ASD	Vorhofseptumdefekt
AUC	Maß für Leistung eines statistischen Modells (<i>Area Under the Curve</i>)
AVSD	Atrioventrikulärer Septumdefekt
BSA	Rinderserumalbumin (<i>Bovines Serum-Albumin</i>)
BT-Shunt	Blalock-Taussig-Shunt/Anastomose
DORV	(Rechter Doppelausstromventrikel) <i>Double Outlet Right Ventricle</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
HRP	Meerrettichperoxidase (<i>HorseRadish Peroxidase</i>)
HLHS	Hypoplastisches Linksherzsyndrom
HLM	Herz-Lungen-Maschine
HRHS	Hypoplastisches Linksherzsyndrom
IFABP	<i>Intestinales Fatty Acid Binding Protein</i>
IQR	Maß für die statistische Streuung (<i>InterQuartile Range</i>)
IL	Interleukin (Signalmolekül des Immunsystems)
IFN	Interferon (Botenstoff des Immunsystems)
ISTA	Aortenisthmusstenose
LOS	Aufenthaltsdauer im Krankenhaus (<i>Length Of Stay</i>)
PA	Pulmonalatresie
PAPVR	Partielle Lungenvenenfehlmündung

PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (<i>Phosphate-Buffered Saline</i>)
ROC	Statistisches Verfahren zur Überprüfung der Modellgüte (<i>Receiver Operating Characteristic</i>)
SOP	Standardarbeitsanweisung (<i>Standard Operating Procedure</i>)
STAT	Society of Thoracic Surgeons-European Association for Cardio-Thoracic Surgery
SVD	Sinus venosus Defekt
TA	Trikuspidalatresie
TAPVR	Totale Lungenvenenfehlmündung
TGA	Transposition der großen Arterien
TMB	<i>TetraMethylBenzidin</i>
TNF α	Tumornekrosefaktor alpha (Botenstoff des Immunsystems)
ToF	Fallot'sche Tetralogie
TFF3	Trefoil Factor 3
VSD	Ventrikelseptumdefekt
VIS	Score zur Abschätzung des Katecholaminbedarfs (<i>Vasoactive Inotropic Score</i>)

1. Deutsche Zusammenfassung

1.1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Bestimmung von intestinalen Biomarkern im Serum und Urin bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern im Rahmen der Korrektur-OP sowie deren möglichen Nutzen im Kontext des postoperativen Nahrungsaufbaus. Kinder mit angeborenen Herzfehlern zeigen in Abhängigkeit von der Komplexität ihres Herzfehlers eine von gesunden Kindern abweichende Kreislaufsituation. In vielen Fällen ist eine suffiziente Organperfusion abhängig von Kurzschlussverbindungen, sog. Shunts, was wiederum zu einem Ungleichgewicht in der systemischen Perfusion und damit auch im O₂-Angebot der Organe führt. Dies gilt insbesondere für die Durchblutung des Gastrointestinaltraktes. Als Folge der häufig vorliegenden verminderten Darmdurchblutung ist das Risiko für eine intestinale Ischämie in dieser Gruppe deutlich höher als bei gesunden Kindern (Kalfa et al., 2010). Ebenso treten schwere Komplikationen wie die nekrotisierende Enterokolitis in dieser Gruppe nicht nur häufiger auf, sie gehen auch mit einer höheren Mortalität einher (Jeffries et al., 2006; Kessler et al., 2018). Nach einer Korrektur-OP besteht in dieser Population ein erhöhtes Risiko für gastrointestinale Komplikationen (Weiss et al., 2011). Auch im Vergleich zu Erwachsenen ist das Risiko für gastrointestinale Komplikationen nach einer Herz-Operation an der HLM bei Kindern deutlich (20-40% vs. 0.26-1%) erhöht (Mao et al., 2025). Auch auf Grund dieser erhöhten Rate an Komplikationen gestaltet sich der enterale Nahrungsaufbau im postoperativen Verlauf bei diesen Kindern häufig schwierig. Studien haben gezeigt, dass Kinder mit komplexen Herzfehlern im Vergleich zu anderen Kindern auf einer pädiatrischen Intensivstation häufig geringere Mengen an täglicher Kalorienzufuhr erhalten (Mara et al., 2014; Tume et al., 2012). Dies ist insofern problematisch, als dass eine unzureichende Kalorienzufuhr im intensivstationären Umfeld nicht nur mit prolongierten Verläufen, sondern auch mit einer erhöhten Mortalität assoziiert ist (Minos und Fussell 2014). In vielen Fällen erhalten Kinder dieses Patientenkollektivs zu wenig enterale Ernährung. Mara et al. (2014) konnten zeigen, dass hierfür vielfältige Gründe vorliegen. Neben einer ärztlich beschränkten Volumenzufuhr spielen hierbei vor allem rezidivierende Unterbrechungen bei invasiven Prozeduren, eine allgemeine klinische

Verschlechterung sowie eine verlangsamte Magen-Darm-Passage eine entscheidende Rolle. Letztere kann sich unter anderem im Sinne einer Obstipation oder einer erhöhten Menge an Magenresten manifestieren. Obwohl innerhalb der pädiatrischen Intensivmedizin weitestgehend Konsens darüber herrscht, mit dem enteralen Nahrungsaufbau so früh wie möglich zu beginnen (Tume et al., 2013), gibt es abgesehen von Krankenhaus spezifischen Ernährungsprotokollen keine allgemein gültigen Kriterien, an denen sich der Nahrungsaufbau innerhalb dieses speziellen Patientenkollektivs steuern lässt.

Die Steuerung des enteralen Nahrungsaufbaus bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern mit Hilfe von Biomarkern ist bisher nicht hinreichend untersucht worden.

1.1.1 IFABP

Das intestinale Fettsäure-bindende Protein (IFABP) gehört zu der Proteinfamilie der Fettsäure-bindenden Proteine. Hierbei handelt es sich um kleine (ca. 14-15 kDa) intrazelluläre Proteine, die eine wichtige Rolle für die Zellen spielen, Fettsäuren aufzunehmen und intrazellulär zu transportieren (Glatz und van der Vusse, 1997). Das intestinale fettsäurenbindende Protein (IFABP) kommt dabei ausschließlich im Gastrointestinaltrakt vor. Es findet sich hauptsächlich in den Enterozyten des Dünndarms und hier vor allem im oberen Bereich der Darmzotten (Villi intestinales) (Glatz und van der Vusse, 1997; Pelsers et al., 2003). Im Rahmen der natürlichen Zellerneuerung des Darmlumens lässt sich IFABP in geringen Mengen zu jedem Zeitpunkt im Blutstrom nachweisen. Kommt es zu einem größeren Zellschaden bzw. Untergang von Darmzellen, lässt sich IFABP in erhöhter Konzentration im Blutstrom nachweisen. Nach einer Plasmahalbwertszeit von ca. 11 Minuten werden im Blut zirkulierende IFABP-Moleküle über die Nieren in den Urin ausgeschieden und sind dann auch dort messbar (Peters et al., 2007). Zahlreiche Studien konnten bereits zeigen, dass sich IFABP als Marker für intestinalen Zellschaden eignet (Derikx et al., 2007; Guthmann et al., 2002; Montagnana et al., 2018, Olivero et al., 2025). Insbesondere bei schwerer Schädigung des intestinalen Epithels im Rahmen einer NEC, lassen sich signifikant erhöhte IFABP-Werte im Blut nachweisen (Wright et al., 2026). Konzentrationen von IFABP im Blut wurden in der Vergangenheit auch bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern bereits bestimmt (Typpo

et al., 2015; Watson et al., 2020). Die vorliegende Studie beschreibt erstmalig den Verlauf von IFABP im Urin bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern.

1.1.2 Trefoil Faktor 3

Der Trefoil Faktor 3 ist Teil der Trefoil Peptide. Hierbei handelt es sich um eine Gruppe von kleinen (7-12 kDA) sekretorischen Proteinen/Peptiden, welche von Muzin produzierenden Zellen, vor allem des Gastrointestinaltraktes synthetisiert und sezerniert werden (Vieta et al., 2005). Anders als IFABP ist TFF3 nicht gewebsspezifisch sondern lässt sich unter anderem auch in Zellen des Bronchialsystems nachweisen (Taupin und Podolsky, 2003). TFF 3 spielt eine wichtige Rolle im Heilungsprozess der Darmschleimhaut und bei der Wiederherstellung des Epithels nach intestinale Zellschaden. In Folge eines solchen Zellschadens kommt es zu einer gesteigerten Freisetzung von TFF3 aus intestinalen Becherzellen des Dick- und Dünndarms (Taupin und Podolsky, 2003). Für die Wiederherstellung der epithelialen Kontinuität werden TFF3 zahlreiche Funktionen zugeschrieben. So beeinflusst es die Zellmigration, induziert Gefäßwachstum, verhindert die Apoptose von Zellen (Samson, 2013; Taupin und Podolsky, 2000) und reduziert die Permeabilität des Epithels, indem es die Zusammensetzung von Zell-Zell Kontakten (sog. Tight junctions) beeinflusst (Xu et al., 2012). TFF3 konnte bereits in zahlreichen Studien in einer großen Anzahl unterschiedlicher Messmedien bestimmt werden. Samson (2013) wies jedoch auf große Unterschiede nicht nur zwischen den Messmedien sondern auch inter-individuell hin. Die Konzentrationen von TFF3 sind bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern im Rahmen einer Herz-OP bis jetzt weder im Blut noch im Urin analysiert worden.

1.1.3 Entzündungsmarker

Studien der letzten Jahre legen die Vermutung nahe, dass es im Rahmen eines herzchirurgischen Eingriffs zu einer inflammatorischen Reaktion kommt, welche die Integrität des intestinalen Epithels und damit auch die Biomarker für intestinalen Zellschaden beeinflusst (Capaldo und Nusrat, 2010; Turner, 2009; Typpo et al., 2015).

1.1.4 Ziele der Studie

In der nachfolgenden Arbeit sollen in einer prospektiven Studie Biomarker als Surrogat für intestinalen Zellschaden bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern im Rahmen eines

operativen Korrekturingriffs untersucht werden. Hierbei soll zunächst die Frage beantwortet werden, wie sich die Biomarker-Konzentration zu den verschiedenen Messzeitpunkten perioperativ verhält. Im Anschluss soll überprüft werden, ob der operative Eingriff an der Herz-Lungen-Maschine zu einem messbaren Untergang von Darmzellen führt. Im Kontext des operativen Eingriffs soll dabei auch auf einen möglichen Einfluss der Narkose-Einleitung auf die Darmperfusion eingegangen werden.

Darüber hinaus soll geklärt werden, inwieweit sich die Biomarker in den Messmedien Serum und Urin unterscheiden, auch im Hinblick auf die Frage, ob eine Messung zu jedem Messzeitpunkt in beiden Medien sinnvoll ist.

Eine Messung von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen vor und nach der Herz-OP in einer Subgruppe der Studienpopulation soll dabei die Frage klären, inwieweit eine inflammatorische Antwort auf den operativen Eingriff an der HLM die Biomarker Konzentration beeinflusst.

Die vorliegende Arbeit soll außerdem analysieren, inwieweit die gemessenen Biomarker eine Aussage zum weiteren postoperativen Verlauf zulassen. Die untersuchten Verlaufsparameter sind neben der Intubationsdauer, die Dauer der nicht-invasiven Beatmung, die Länge des Krankenhausaufenthaltes und die Dauer bis zum Erreichen eines vollständigen enteralen Nahrungsaufbaus. Hierbei soll überprüft werden, ob sich Risikopatienten für einen prolongierten Nahrungsaufbau mit Hilfe der untersuchten Biomarker identifizieren lassen.

Des Weiteren gilt es zu überprüfen, ob sich die Herzfehler in Abhängigkeit von ihrer Komplexität / Invasivität des Korrektur-Eingriffs in den jeweiligen Biomarkern unterscheiden bzw. ob die jeweils unterschiedliche Hämodynamik zu einem messbaren Unterschied an intestinale Zellschaden führt.

1.2 Material und Methoden

1.2.1 Patientenkollektiv

Die Studie wurde zuvor in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Bonn (375/13) bewilligt. Die Einwilligung zur Teilnahme an der Studie erfolgte schriftlich durch die Eltern

des Kindes nach vorausgegangener Aufklärung. Über den Studienzeitraum von zwei Jahren (Mai 2015 bis April 2017) wurden insgesamt 85 Kinder mit angeborenen Herzfehlern in die Studie eingeschlossen. Das Alter der Studienpopulation lag zwischen einem Tag und sechs Jahren. Weitere Details zur Studienkohorte sind der Tabelle 2 der Originalpublikation zu entnehmen. Alle eingeschlossenen Kinder haben sich zum Zeitpunkt der Studie einem herzchirurgischen Eingriff zur Korrektur ihres Herzfehlers in der Uniklinik Bonn unterzogen. In manchen Fällen wurden teilnehmende Kinder während des Studienzeitraums noch weitere Male herzchirurgisch operiert. Sofern sich Alter, Gewicht und hämodynamische Situation im Vergleich zum ersten Eingriff signifikant unterschieden, konnten die Kinder ein weiteres Mal an der Studie teilnehmen. In diesem Falle erhielten sie für die zweite Operation eine weitere Studien-ID.

1.2.2 Einteilung der Herzfehler

Das eingeschlossene Patientenkollektiv und die zugrunde liegenden Herzfehler unterscheiden sich zum Teil erheblich in ihrer Hämodynamik, der Organperfusion und auch in Komplexität und Risiko der notwendigen Korrektur-Operation. Um dieser Tatsache in der Datenanalyse Rechnung zu tragen wurden mehrere Unterteilungen des Patientenkollektivs vorgenommen. Die Risikostratifizierung der Herz-OPs erfolgte nach den international verwendeten STAT-Kategorien. In Abhängigkeit einer Shunt-abhängigen (Ductus arteriosus oder Blalock-Taussig-Shunt) System- oder Lungenperfusion erfolgte eine Einteilung in die Untergruppen „shunt“ und „kein shunt“. Zudem wurden die Patienten in „einfache“ und „komplexe“ Herzfehler (Müller et al., 2021) unterteilt. Eine detaillierte Auflistung zeigt Tabelle 1. Für eine numerische Aufschlüsselung der einzelnen Gruppen siehe Tabelle 2 der Originalpublikation.

Tab. 1: Einteilung in simple und komplexe Herzfehler in Anlehnung an die Einteilung von Cantinotti (Cantinotti et al., 2011)

Einfache Herzfehler	Komplexe Herzfehler
Atrioventrikulärer Septumdefekt/AV-Kanal (AVSD)	Kritische Aortenklappenstenose
Aortopulmonales Fenster (APW)	Aortenisthmusstenose (ISTA) mit ductus-abhängiger Systemperfusion
Partielle Lungenvenenfehlmündung (PAPVR)	Hypoplastisches Linksherzsyndrom (HLHS)
Sinus-Venosus Defekt (SVD)	Hypoplastisches Rechtsherzsyndrom (HRHS)
Ventrikelseptumdefekt (VSD)	Pulmonalatresie (PA)
Vorhofseptumdefekt (ASD)	Trikuspidalatresie (TA)
	Ebstein-Anomalie
	D-Transposition der großen Arterien (D-TGA)
	Double outlet right ventricle (DORV)
	Fallot'sche Tetralogie (TOF)
	Totale Lungenvenenfehlmündung (TAPVR)

1.2.3 Probengewinnung und Probenanalyse

Die Blut- und Urinproben wurden an jeweils sechs Messzeitpunkten gewonnen. T0: einen Tag vor geplanter Herz-OP; T1: unmittelbar vor OP nach Beendigung der Narkoseeinleitung durch die Anästhesie; T2: postoperativ nach Übernahme auf die kinder-kardiologische Intensivstation; T3: zwölf Stunden nach OP; T4: sechsunddreißig Stunden nach OP; T5: sechzig Stunden nach OP.

Die Urinproben wurden, sofern vorhanden, über einen einliegenden Blasenkatheter gewonnen, ansonsten über zuvor angebrachte Urinauffangbeutel. Die Blutproben wurden ausschließlich im Rahmen von routinemäßigen Blutentnahmen gewonnen. Eine rein studienbezogene Blutentnahme erfolgte nicht. Nach der Probenentnahme wurden die Blutproben zentrifugiert und das gewonnene Serum ebenso wie die Urinproben auf sog. Aliquots (à 1ml) aufgeteilt. Die Aliquots wurden mit einer sog. Z-Nummer versehen um später eine eindeutige Zuordnung der Probe vornehmen zu können. Im Anschluss wurden

die Proben in dafür vorgesehenen Gefrierschränken nach den SOPs und Qualitätsstandards der BioBank Bonn bis zur Analyse bei -80° Celsius eingefroren.

Die Analyse der Konzentrationen der Biomarker erfolgte mittels Sandwich-ELISA für IFABP (Cat-Nr. DY3078, R&D Systems) und TFF3 (Cat-Nr. DTFF30, R&D Systems) entsprechend der jeweiligen Hersteller-Angaben.

Sämtliche Messungen erfolgten auf Mikrotiterplatten à 96 Vertiefungen (sog. Wells) als Sandwich-ELISA. Parallel zu den Testproben wurden auf jeder Testplatte die Assay-Standards des jeweils zu messenden Biomarkers in einer vorher festgelegten Verdünnung aufgetragen. In einem ersten Schritt wurde die Testplatte zunächst mit einem verdünnten Capture-Antikörper mit $100\mu\text{l}/\text{Well}$ beschichtet (coating). Im Anschluss wurde die beschichtete Platte bis zum Folgetag bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Waschen der Platte mittels Wasch-Puffer wurden die Wells mit $300\mu\text{l}$ einer speziellen Lösung (1 % bovines Serum Albumin [BSA] in phosphatgepufferter Salzlösung [PBS]) geblockt, um freie Bindungsstellen innerhalb der Wells zu blockieren. Danach wurden die Platten erneut für eine Stunde inkubiert und anschließend abermals gewaschen. $100\mu\text{l}$ des zu messenden Probenmediums wurden nach diesem Vorgang in das entsprechende Well pipettiert. Anschließend wurde die Messplatte erneut für zwei Stunden inkubiert und danach gewaschen. Im nächsten Schritt wurden $100\mu\text{l}$ des verdünnten, an Biotin-gekoppelten Detektions-Antikörper in jedes Well überführt mit anschließender zweistündiger Inkubation und erneutem Waschen der Platte. Danach wurden $100\mu\text{l}/\text{Well}$ des Reagenten-Konjugats aus Meerrettichperoxidase (HRP) und Streptavidin pipettiert. Nach zwanzig Minuten Inkubationszeit folgte der nächste Waschvorgang. Im Anschluss wurden pro Well $100\mu\text{l}$ der Substrat-Lösung, bestehend aus einem 1:1 Gemisch der Farbreagenten A (Wasserstoffperoxid [H_2O_2]) und B (Tetramethylbenzidin [TMB]) pipettiert. Die Meerrettichperoxidase reduziert in der anschließenden Reaktion das Wasserstoffperoxid und oxidiert das TMB. Aus dem ansonsten farblosen TMB bildet sich ein blaugrünes Oxidationsprodukt. Nach erneuter Inkubation für zwanzig Minuten wird die chemische Reaktion der HRP durch Zugabe einer Stopp-Lösung, welche Schwefelsäure enthält (H_2SO_4) gestoppt. Hierbei nimmt das Oxidationsprodukt eine gelbliche Farbe an und es kommt zu einer Erhöhung des Extinktionskoeffizienten. Nach Beendigung mittels Stopp-Lösung wurde die optische Dichte umgehend analysiert. Gemessen wird die

optische Dichte bei 450nm. Über die gemessenen Standard-Konzentrationen mit vorbekannter Konzentration lassen sich über das Verhältnis optische Dichte zu Antigen (z. B. IFABP) die Konzentrationen in den Messproben bestimmen.

Um auch hohe Konzentrationen messen zu können, wurden nach zuvor durchgeführten Testmessungen die Proben vor der Messung verdünnt. Urin und Serumproben für IFABP wurden 1:4 verdünnt. Proben, die hiernach immer noch oberhalb des Messbereichs lagen wurden in erneuten Messreihen weiter verdünnt auf 1:10 und 1:100. Für TFF3 wurden die Serumproben 1:100 und die Urinproben 1:1000 verdünnt.

Aus Gründen der Qualitätssicherung wurden alle Proben doppelt gemessen.

1.2.4 Gruppeneinteilung der Biomarker

Die Ergebnisse der IFABP-Messungen zeigten eine starke Streuung der gemessenen Konzentrationen. Proben mit Konzentrationen oberhalb des ELISA-Messbereichs wurden markiert und nach Messung aller Proben weiter verdünnt, zunächst 1:10 und im Falle einer Konzentration oberhalb des Messbereichs in einer erneuten Verdünnungsreihe auf 1:100. So war es möglich auch Konzentrationen von IFABP bis 200.000 pg/ml zu messen. Einige Proben lagen auch bei einer Verdünnung von 1:100 noch über dem Messbereich. Auf Grund des begrenzten Probenvolumens und der durchgeführten Doppelmessungen war eine erneute Verdünnung häufig nicht möglich. Um auch hohe Werte mit in die Analyse einbeziehen zu können und so die Integrität der Daten zu wahren, wurden die gemessenen IFABP-Werte in Gruppen eingeteilt.

Als Orientierung zur Einteilung in die Gruppen diene die aktuelle pädiatrische Literatur zum Thema IFABP. Normwerte von IFABP im Blut wurden von Derikx et al. (2008) im Bereich zwischen 41-336 pg/ml beschrieben. Als Gruppe 1 wurden Werte unterhalb des beschriebenen Normbereichs (<40 pg/ml) definiert. Gruppe 2 entspricht gerundet dem beschriebenen Normbereich von 40-340 pg/ml. In einer Meta-Analyse von 2015 (Cheng et al., 2015) in der IFABP als diagnostischer Marker für Kinder mit NEC analysiert wurde, waren 750 pg/ml der niedrigste Cut-off-Wert. Die Gruppe 3 wurde daher für einen Bereich von 340-750 pg/ml definiert. Der höchste Cut-off-Wert derselben Studie lag bei 7770 pg/ml. Ein Bereich von 750-7770 pg/ml wäre aber signifikant größer gewesen als der

Bereich der Gruppen 1-3. Der restliche Bereich wurde in 3 Kategorien gleicher Größe (2300 pg/ml) unterteilt. In der höchsten Gruppe (7) liegen damit Werte >7650 pg/ml.

Zur Unterteilung von TFF 3 wurden ebenfalls 7 Gruppen gebildet. Für TFF 3 sind vereinzelt Normwerte sowohl für Blut als auch für Urin in der Literatur beschrieben. Allerdings zeigten diese Studien eine große inter-individuelle Breite (Samson, 2013). Die Unterteilung für TFF 3 erfolgte daher basierend auf den gemessenen Werten. Ein Großteil der erhobenen Werte lag hierbei im unteren Detektionsbereich der ELISAs. Daher wurden die Quantile 1-3 in 5 Gruppen unterteilt. In Gruppe 6 befinden sich alle Werte zwischen dem 75 %-Quantil und dem 1.5-fachen IQR oberhalb des 75 %-Quantils. Alle hierüber liegenden Werte wurden in Gruppe 7 kategorisiert. Die Gruppeneinteilung ist aus Tabelle 1 der Originalpublikation zu entnehmen.

Durch die Einteilung in Gruppen ist die Bestimmung eines Biomarker/Kreatinin-Quotienten nicht mehr möglich. Dies wird häufig durchgeführt, um die gemessenen Werte gegen die exkretorische Nierenfunktion zu korrigieren, die im Studienzeitraum variieren kann.

1.2.5 TI-Score

Die Analyse der Daten zeigte, dass die Serumkategorien von TFF3 und die Urinkategorien von IFABP am besten mit den getesteten Outcome Variablen korrelieren. Um zu analysieren ob eine Kombination der zwei Marker zu besseren Ergebnissen führt, wurde der TI-Score entworfen. Dieser Score fasst die TFF3 Kategorie im Serum und die IFABP Kategorie im Urin zu einem jeweiligen Messzeitpunkt in einem einzelnen Wert zusammen und ermöglicht den kombinierten Wert weiterer statistischer Tests zu unterziehen und ihn gegen die Einzelmarker zu testen. Daraus ergibt sich ein Wert zwischen 2 (niedrigste Kategorien beider Biomarker) und 14 (höchster Wert beider Biomarker)

1.2.6 VIS-Score

Um die medikamentöse Kreislaufunterstützung durch Katecholamine und andere vasoaktive und inotrope Substanzen zu quantifizieren und um eine Vergleichbarkeit mit anderen Studien herzustellen, wurden für jeden Patienten der Studiengruppe vier maximale VIS-Scores (max. VIS-Score in den ersten sechs Stunden sowie in den Intervallen 6-24h/24-48h/48-72h nach OP) bestimmt. Der VIS-Score quantifiziert die

medikamentöse Kreislaufunterstützung, wobei die unterschiedlichen Substanzen entsprechend ihrer Potenz gewichtet werden. International hat sich hierfür inzwischen weitestgehend die Formel nach Gaies (Gaies et al., 2010) durchgesetzt:

$$\text{VIS} = [\text{Dobutamin } (\mu\text{g/kg/min})] * 1 + [\text{Milrinon } (\mu\text{g/kg/min})] * 10 + [\text{Noradrenalin } (\mu\text{g/kg/min})] * 100 + [\text{Adrenalin } (\mu\text{g/kg/min})] * 100 + [\text{Vasopressin } (\text{mU/kg/min})] * 10000.$$

Auf das in der Originalformel enthaltene Dopamin wurde verzichtet, weil es in seiner Anwendung deutlich an Stellenwert verloren hat und auf der kinder-kardiologischen Intensivstation nicht mehr zum Einsatz kommt.

1.2.7 Analyse von Zytokinen

In einer Subgruppe von 41 Patienten wurden die Konzentrationen von 10 verschiedenen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen einen Tag vor Herz-OP und einen Tag postoperativ bestimmt. Hierfür wurde ein Chemilumineszenz-basierter Immunoassay (V-Plex Plus Proinflammatory Panel 1 (human) Kit, (Meso Scale Discovery Rockville, USA) gemäß den Hersteller Angaben verwendet. Bestimmt wurden folgende Zytokine: IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-13 und TNF- α .

1.2.8 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die statistische Auswertung und Analyse der gewonnenen Daten erfolgte mit SPSS 25.0 und 28.0 (IBM Corp., Armonk, New York, USA) sowie mit GraphPad Prism 9.0 und 11.0 (Graphpad Software, San Diego, USA). Zur Überprüfung der Normalverteilung wurde der Kolmogorov-Smirnov Test verwendet. Zur Bestimmung der Korrelation zwischen zwei Variablen wurde für metrisch skalierte Variablen die Pearson Korrelation und für ordinal skalierte Variablen die Spearman Korrelation verwendet. Mittelwerte von abhängigen Stichproben wurden mittels gepaartem T-Test (normalverteilte Daten) bzw. mittels Wilcoxon-Test (nicht normalverteilte Daten) verglichen. Für den Vergleich von unabhängigen Stichproben wurde der ungepaarte T-Test (normalverteilte Daten) bzw. der Mann-Whitney U Test (nicht normalverteilte Daten) verwendet. Für den Vergleich mehrerer Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test mit Bonferroni-Korrektur verwendet. R^2 und das korrigierte R^2 wurden zur Überprüfung der Modell-Genauigkeit der Regressions-Analysen genutzt. Eine ROC-Analyse diente zur Ermittlung möglicher Cut-

off-Werte (des TI-scores für prolongierte enterale Ernährung) die Area under the curve (AUC) als Gütemaß für die Testperformance.

Als statistisch signifikant wurde ein P-Wert < 0.05 definiert.

1.3 Ergebnisse

Insgesamt wurden 130 Patienten in die Studie eingeschlossen. 85 durchliefen die gesamte Studie. Bei 45 Teilnehmern wurde entweder während des Studienzeitraums die Einwilligung durch die Eltern zurückgezogen oder die Messproben waren nicht vollständig und wurden daher von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

1.3.1 IFABP

Bereits präoperativ zeigte die Studienpopulation in beiden Messmedien Werte oberhalb des Normbereichs. Nach anästhesiologischer Einleitung (T1) kam es im Serum zu einem signifikanten Anstieg der IFABP-Werte. Eine ähnliche signifikante Änderung konnte im gleichen Zeitraum im Urin nicht beobachtet werden. Sowohl im Serum als auch im Urin wurden unmittelbar postoperativ (T2) die höchsten IFABP-Werte gemessen. Im weiteren postoperativen Verlauf zeigte IFABP in Serum und Urin eine ähnliche Dynamik mit kontinuierlichem Abfall bis T5 auf ein zum präoperativen Zustand (T0) vergleichbares Niveau. Für Details siehe Abbildung 1.

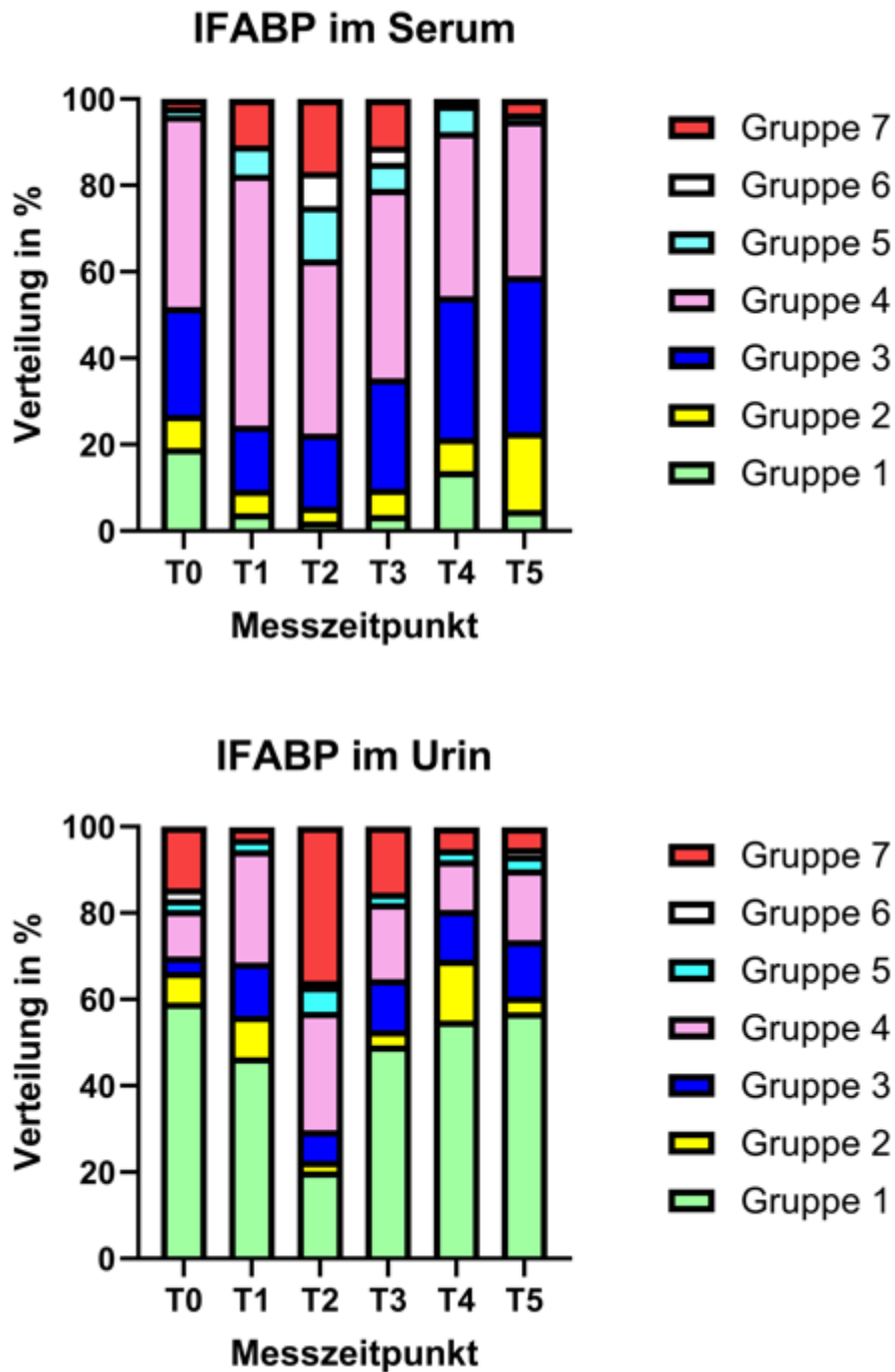


Abb. 1: IFABP im Serum und Urin zu den Messzeitpunkten T0-T5 nach Aufteilung in Gruppen. IFABP: Intestinales Fatty Acid Binding Protein; T0-T5: Messzeitpunkte 0-5

1.3.2 TFF3

Nach einem initialen Abfall nach Narkoseeinleitung (T1) stieg die mittlere Konzentration von TFF3 im Serum kontinuierlich bis 60 Stunden nach OP (T5). Auch im Urin konnte ein Abfall der mittleren Konzentration von T0 auf T1 beobachtet werden. Unmittelbar postoperativ (T2) kam es zu einem signifikanten Anstieg der mittleren Konzentration im Urin, gefolgt von einem erneuten signifikanten ($p < 0.001$) Abfall bis 36 Stunden postoperativ (T4). Ein detaillierter Verlauf der mittleren TFF3-Konzentration zeigt Abbildung 2.

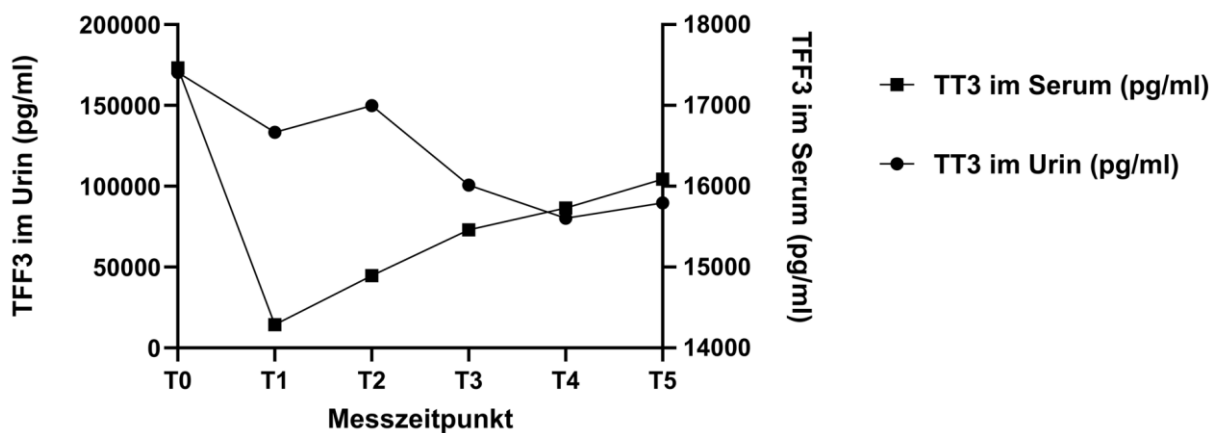


Abb. 2: Mittlere TFF3-Konzentration zu den Messzeitpunkten T0-T5 im Urin und Serum. TFF3: Trefoil Faktor 3; T0-T5: Messzeitpunkte 0-5

1.3.3 Korrelationen der Biomarker-Kategorien in unterschiedlichen Messmedien

Die IFABP-Kategorien korrelierten signifikant im Serum und im Urin von T2-T5 (T2: $\rho = 0.546$ $p < 0.001$; T3: $\rho = 0.486$ $p < 0.001$; T4 $\rho = 0.278$ $p = 0.016$; T5 $\rho = 0.281$ $p = 0.033$). TFF3-Kategorien korrelierten signifikant ($p < 0.001$) im Serum und im Urin zu jedem Messzeitpunkt ($\rho = 0,339 - 0,645$).

1.3.4 Biomarker und klinische Outcome-Parameter

Die getesteten Biomarker korrelierten signifikant mit den getesteten Outcome-Parametern. Die stärksten Korrelationen konnten für alle Biomarker 12h nach Herz-OP (T3) nachgewiesen werden. Für Details siehe Tabelle 2.

Tab. 2: Korrelationen zwischen den untersuchten Outcome-Parametern und den Biomarkern. Angegeben ist jeweils der Korrelationskoeffizient rho, sowie in Klammern das jeweilige Signifikanzniveau. LOS: Krankenhausaufenthaltsdauer; NIV: Nicht-invasive Beatmung; IFABP: Intestinales Fettsäurebindendes Protein; TFF3: Trefoil Faktor 3; TI-Score: Summenscore aus TFF3- & IFABP Kategorie zum Messzeitpunkt

Outcome	Biomarker 12h nach Herz-OP (T3)		
	IFABP (Urin)	TFF3 (Serum)	TI-Score
LOS	0.443 (p<0.001)	0.475 (p<0.01)	0.532 (p<0.01)
NIV-Dauer	0.447 (p<0.001)	0.410 (p<0.01)	0.485 (p<0.01)
Intubationsdauer	0.386 (p<0.001)	0.440 (p<0.01)	0.497 (p<0.01)
Dauer bis zum vollen enteralen Nahrungsaufbau	0.523 (p<0.001)	0.465 (p<0.01)	0.610 (p<0.01)

1.3.5 Katecholaminbedarf und Laktat

Sowohl IFABP im Urin als auch Serum-TFF3 korrelierten signifikant mit dem VIS-Score und dem in der Blutgasanalyse gemessenen Laktat. Die IFABP Kategorien 12h nach OP korrelierten mit den VIS-Scores zwischen sechs und zweiundsiebzig Stunden postoperativ (Signifikanzniveau p<0.001-0.0015). Die Serum-Kategorien für TFF3 unmittelbar postoperativ (T2) zeigten signifikante Korrelationen mit den VIS-Scores zwischen vierundzwanzig und zweiundsiebzig Stunden postoperativ (Signifikanzniveau p=0.008-0.048). Die Anwendung des TI-Scores verbesserte hierbei die Korrelationen vor allem zum Zeitpunkt T2 (p<0.001-0.003). Zudem konnte gezeigt werden, dass auch der TI-Score von T1-T5 signifikant mit den Laktat-Werten korreliert (T1: rho 0.349; p = 0.005; T2: rho 0.384; p<0.001; T3: rho 0.419; p < 0.001; T4 rho 0.499; p<0.001; T5: rho 0.564; p<0.001).

1.3.6 Welche Faktoren beeinflussen den TI-Score zwölf Stunden postoperativ?

Um den Einfluss verschiedener klinischer Variablen auf den TI-Score 12h postoperativ zu untersuchen, wurden ordinale Regressionsanalysen durchgeführt. Von den getesteten klinischen Variablen zeigten die minimale Temperatur während der Operation (p=0.002) eine Shunt-abhängige Lungen- oder Systemperfusion (p=0.017) und die STAT-Kategorie (p=0.002) eine signifikante positive Assoziation zum TI-Score zwölf Stunden nach

Korrektur-OP. Für eine vollständige Liste der getesteten Variablen wird auf Tabelle 3 der Originalpublikation verwiesen.

1.3.7 Postoperativer Nahrungsaufbau

Um herauszufinden inwieweit sich die intestinalen Biomarker eignen, um einen postoperativen enteralen Kostaufbau besser steuern zu können, wurden verschiedene Zusammenhänge zwischen den Biomarkern und Anzeichen für eine Unverträglichkeit im Nahrungsaufbau untersucht. Hierbei konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen IFABP/TFF3 und gastrointestinalen Symptomen, Milchtyp und Nahrungskarenz festgestellt werden. NEC-Fälle wurden während des Studienzeitraums nicht beobachtet.

Über eine lineare Regressionsanalyse wurden die Zusammenhänge zwischen verschiedenen klinischen Parametern bzw. Messwerten und der Zeit bis zum vollen enteralen Nahrungsaufbau (definiert als 100 mg/kg/Tag) untersucht. In multivariaten Analysen zeigte das Modell aus Intubationsdauer ($p < 0,001$), NIV-Dauer ($p < 0,001$), VIS-Score (24-48 Std. $p < 0,001$) und TI-Score (T3) ($p = 0,036$) die höchste Vorhersagegenauigkeit (korrigiertes $R^2 = 0,764$) zur Abschätzung des enteralen Nahrungsaufbaus. Für eine vollständige Liste der getesteten Variablen wird auf Tabelle 4 der Originalpublikation verwiesen.

Die mediane Dauer bis zur Komplettierung des enteralen Nahrungsaufbaus in der Studienpopulation lag bei 6 Tagen. Diese wurden als Cut-off Wert für einen verzögerten Nahrungsaufbau definiert. In einer Regressionsanalyse wurden zunächst die klinischen Parameter und Messwerte einzeln auf einen linearen Zusammenhang hin untersucht. Für eine vollständige Liste der getesteten Variablen wird auf Tabelle 5 der Originalpublikation verwiesen. In einem nächsten Schritt wurden alle Variablen mit einem linearen Zusammenhang in multivariaten Regressionsanalysen analysiert. In diesen konnte ein positiver linearer Zusammenhang zwischen verlängertem enteralen Nahrungsaufbau als abhängige Variable und der Intubationsdauer ($p = 0,028$) sowie dem TI-Score (T3) ($p = 0,009$) nachgewiesen werden.

Eine ROC-Analyse diente zur Identifizierung möglicher Cut-off-Werte des TI-Scores 12 Std. nach OP zur Vorhersage eines verlängerten Nahrungsaufbaus. Die Area under the Curve (AUC) lag bei 0.888 (s. Abbildung 3). Tabelle 3 zeigt mögliche Cut-off Werte.

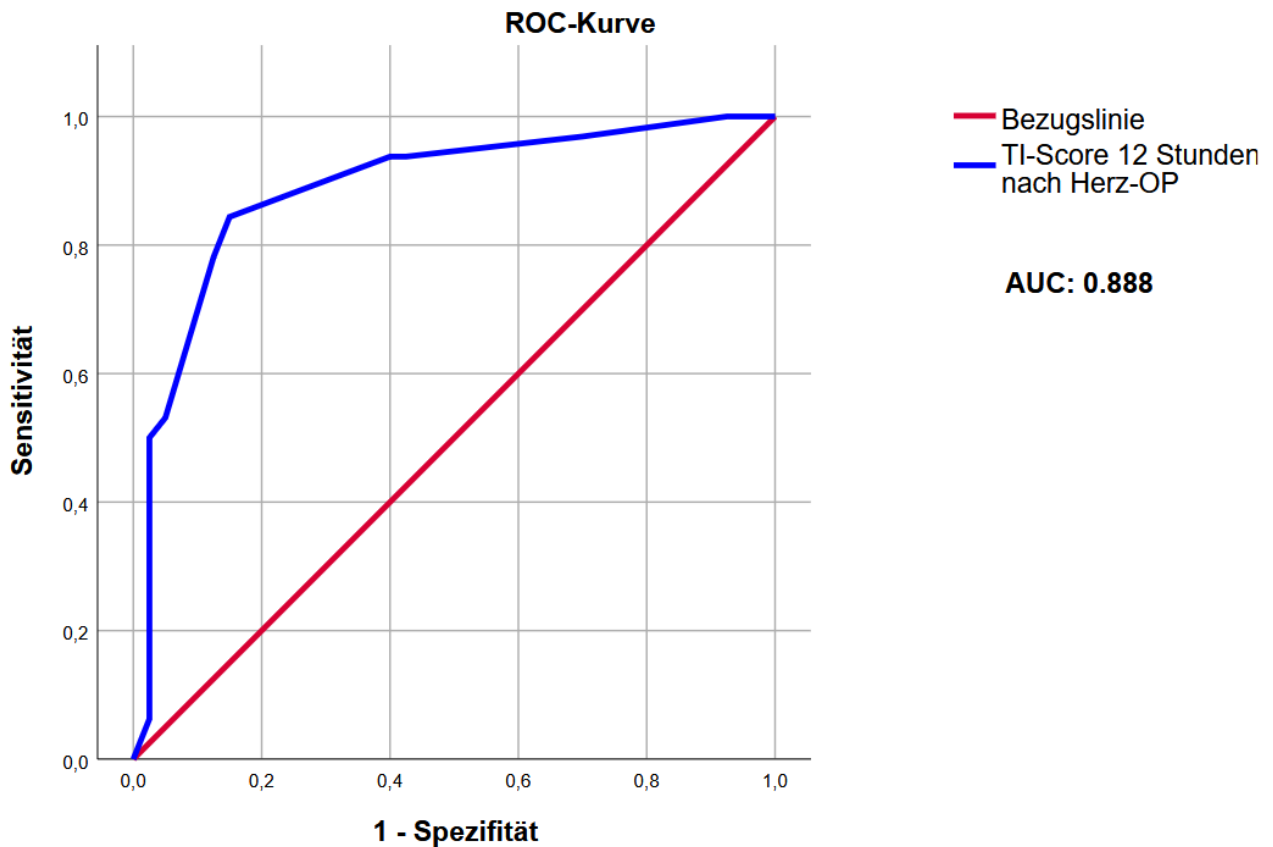


Abb. 3: ROC-Analyse zur Vorhersage eines verlängerten enteralen Nahrungsaufbaus mit Hilfe des TI-Scores zwölf Stunden nach OP (modifiziert nach Boerter et al., 2025). ROC: Receiver Operating Characteristic; AUC: Area under the curve

Tab. 3: TI-Score 12h nach Herz-OP als Prädiktor für einen prolongierten Nahrungsaufbau

TI-Score 12h nach OP	Sensitivität	Spezifität
4.5	93.8 %	57.5 %
5.5	93.8 %	60.0 %
6.5	84.4 %	85.0 %
7.5	78.1 %	87.5 %
8.5	53.1%	95.0 %
9.5	50%	97.5 %

1.3.8 Biomarker bei Shunt-abhängiger Perfusion

Wir untersuchten die Studienpopulation nach Unterschieden in den Biomarker-Konzentrationen. Hierbei konnten wir zeigen, dass Kinder mit Shunt-abhängiger Lungen- oder Systemperfusion signifikant höhere TFF 3 Werte (s. Abbildung 4) aufweisen. Auch bei Anwendung des TI-Scores zeigten sich signifikant höhere Rangsummen bei Shunt-

abhängiger Perfusion ($p < 0.02$ T0-T5). Für IFABP und TFF3 bzw. den TI-Score ließen sich keine Unterschiede zwischen Shunt-abhängiger Lungen- und Systemperfusion nachweisen.

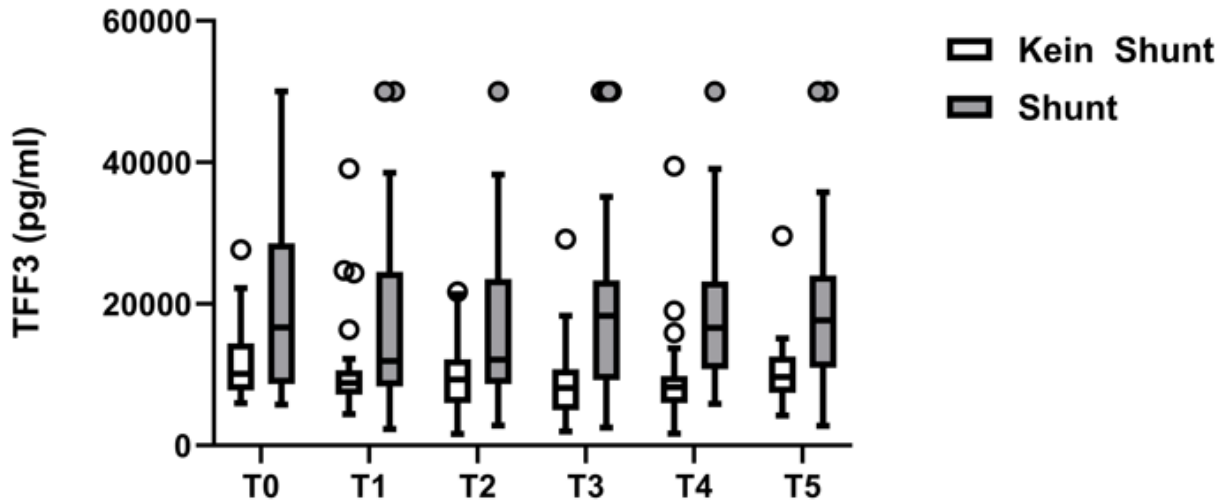
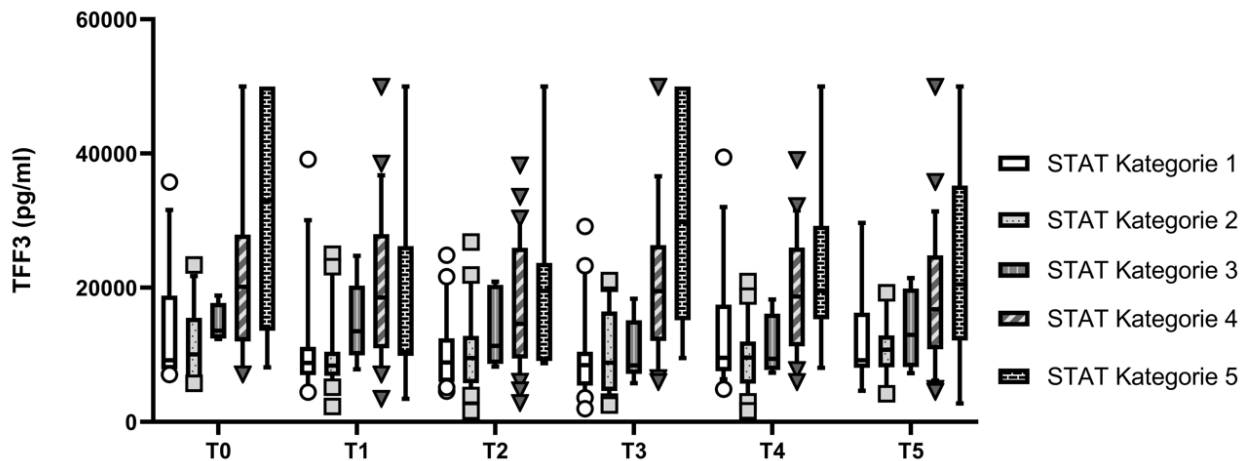


Abb. 4: Serum-TFF3 in pg/ml zu 6 verschiedenen longitudinalen Messzeitpunkten. Zu jedem Messzeitpunkt zeigen sich signifikant ($p < 0.05$) höhere TFF3-Werte bei Kindern mit Shunt-abhängiger Perfusion (modifiziert nach Boerter et al., 2025). T0: $p = 0.045$ T1: $p = 0.05$ T2: $p = 0.025$ T3: $p = 0.01$ T4: $p = 0.01$ T5: $p = 0.042$ TFF3: Trefoil Faktor 3; T0-T5: Messzeitpunkte 0-5

1.3.9 Die Komplexität der Herzfehler und deren Korrektur-OP

Zur Identifizierung von Unterschieden zwischen den einzelnen Herzfehlern und der jeweils unterschiedlichen Komplexität ihrer Korrektur-OP wurden die verschiedenen STAT-Kategorien miteinander verglichen. Signifikante Unterschiede zeigten sich dabei sowohl für TFF3 im Serum als auch für den TI-score zwischen den Kategorien 1&4, 1&5, 2&4 und 2&5. (s. Abbildung 3). Bei weiteren Unterteilungen der Herzfehler in noch spezifischere Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede in der Konzentrationen der getesteten Biomarker nachgewiesen werden.



T0: 2&5 (p= 0,048)

T1: 1&4 (p= 0,02) 2&4 (p= 0,014)

T2: 1&4 (p= 0,044) 1&5 (p= 0,026); 2&4 (p= 0,029); 2&5 (p= 0,024)

T3: 1&4 (p= 0,001); 1&5 (p= 0,003); 2&4 (p= 0,011); 2&5 (p= 0,011)

T4: 1&4 (p= 0,019); 1&5 (p= 0,015); 2&4 (p= 0,011); 2&5 (p= 0,015)

T5: 2&4 (p= 0,01); 2&5 (p= 0,022)

Abb. 5: Serum-TFF3 in pg/ml zu 6 verschiedenen longitudinalen Messzeitpunkten in Abhängigkeit von der jeweiligen STAT-Kategorie. Zu jedem Messzeitpunkt sind die statistisch signifikanten ($p < 0.05$) Unterschiede zwischen den einzelnen STAT-Kategorien nach Bonferroni-Korrektur angegeben (modifiziert nach Boerter et al., 2025). TFF3: Trefoil Faktor 3; STAT: The Society of Thoracic Surgeons – European Association for Cardio-Thoracic Surgery; T0-T5: Messzeitpunkte 0-5

1.3.10 Pro- und anti-inflammatorische Zytokine

In einer Subgruppe von 41 Studienpatienten wurden präoperativ und einen Tag nach Herz-OP die Konzentrationen 10 verschiedener Zytokine im Blut untersucht. TNF α , Interferon- γ und Interleukin-1 β waren postoperativ erniedrigt. Alle anderen Zytokine zeigten am ersten postoperativen Tag einen Konzentrationsanstieg.

1.4 Diskussion

Ein Ziel dieser Arbeit war die Analyse von Biomarkern (IFABP, TFF3) für intestinalen Zellschaden bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern in einem perioperativen Setting in den Messmedien Serum und Urin. Für IFABP konnten wir eine unterschiedliche Dynamik im perioperativen Verlauf nachweisen. Die Vergleichbarkeit zu anderen Studien bzgl. der Ergebnisse im Urin ist dabei erschwert, da IFABP in diesem Medium für dieses

Patientenkollektiv bisher nicht untersucht wurde. Wir konnten zeigen, dass in unserem Studienkollektiv die IFABP-Werte im Vergleich zu gesunden Kindern bereits präoperativ erhöht sind. Dies deckt sich mit den Ergebnissen vorheriger Arbeiten zu diesem Thema (Typpo et al., 2015; Watson et al., 2020). Dies deutet auf einen bereits existierenden intestinalen Zellschaden durch die herzfehlerbedingte Minderperfusion des Darms mit konsekutivem Zelluntergang hin. In den Arbeiten der oben erwähnten Autoren sind die präoperativen IFABP-Werte im Vergleich zu unserem Kollektiv noch höher. Hierbei ist allerdings auf die Tatsache hinzuweisen, dass die „präoperativen“ Proben in diesen Arbeiten erst nach Narkoseeinleitung gewonnen wurden. Unsere Ergebnisse zeigen einen signifikanten Anstieg des Serum-IFABP nach Narkoseeinleitung. Dies erklärt nicht nur die höheren präoperativen IFABP Werte der anderen Arbeiten, sondern legt zudem auch eine durch die Narkosemedikamente induzierte Senkung des Systemwiderstandes eine reduzierte intestinale Perfusion mit nachweisbarem Zelluntergang nahe. Ein möglicher frühzeitiger Therapieansatz mit peripheren Vasokonstriktoren wie Noradrenalin könnte hier eine Verbesserung der hämodynamischen Situation während der Applikation der narkoseeinleitenden Medikamente sein, um den Effekt der reduzierten intestinalen Perfusion möglichst gering zu halten. Im Urin ließ sich ein solcher Anstieg nach Narkoseeinleitung nicht nachweisen. IFABP wird mit einer Plasmahalbwertszeit von ca. 11 Minuten (Peters et al., 2007) renal eliminiert und ist im Anschluss im Urin nachweisbar. Die unmittelbare Abnahme der Proben nach der Einleitung erschwert daher den Nachweis im Urin. Durch die zeitliche Verzögerung ist der Nachweis eines akuten Zellschadens im Serum besser möglich, wohingegen die Messung im Urin vermutlich eher zum Monitoring eines längerfristigen Zellschadens geeignet scheint.

Postoperativ zeigen Urin und Serum eine ähnliche Kinetik mit unmittelbar postoperativem Peak und anschließendem Abfall auf das prä-operative Niveau innerhalb von 60 Stunden.

Dass es im Rahmen einer Herz-OP an der HLM zu einem Anstieg von IFABP kommt zeigten bereits vorherige Studien sowohl bei Erwachsenen (Habes et al., 2017; Holmes et al., 2001; Kano et al., 2014) als auch bei Kindern (Typpo et al., 2015; Watson et al., 2020). Mögliche Ursachen liegen in der reduzierten Darmperfusion während des Eingriffs an der HLM, einem nicht-pulsatilen Blutfluss und einem Reperfusionsschaden. Zu welchen Anteilen diese Prozesse zum intestinalen Zellschaden beitragen, lässt sich

anhand unserer Daten nicht differenzieren. Der beschriebene postoperative Konzentrations-Abfall lässt vermuten, dass der durch die Operation verursachte Schaden nur temporär ist. Weitere Messungen über einen längeren postoperativen Zeitraum sind notwendig, um zu evaluieren, ob durch die Korrektur-OP die intestinale Perfusion dieser Kinder verbessert werden kann und IFABP-Konzentrationen sich denen gesunder Kinder annähern. Mao et al (2025) betonten in ihrem Review die Bedeutung von IFABP als Marker für das Ausmaß und Verlauf eines intestinalen Zellschadens.

Üblicherweise wird bei der Analyse von Biomarkern im Urin eine Normierung durch die Urin-Kreatinin Konzentration durchgeführt, um die unterschiedliche Urinproduktion während des Messzeitraums zu berücksichtigen. Wie eingangs beschrieben, war eine solche Normierung nach Einteilung in Gruppen nicht mehr möglich. Arbeiten von Mannoia et al. (2011) und Schurink et al. (2014) konnten allerdings eine sehr hohe Korrelation ($r=0.98$) zwischen den Absolut-Werten von IFABP im Urin und den Werten nach Korrektur am Urin-Kreatinin zeigen. Beide Autoren kamen zu dem Schluss, dass die Normalisierung auf Grund des geringen Mehrwerts nicht zwingend notwendig ist. Dennoch ist dies bei der Interpretation der Ergebnisse als limitierender Faktor zu berücksichtigen.

Bisher liegen nur unzureichende Daten zu TFF3 bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern vor. Mit durchschnittlichen Konzentrationen von über 17.000 pg/ml liegen die von uns gemessenen präoperativen Werte über denen von gesunden Erwachsenen (5850pg/ml) (Nakov et al., 2019) und auch höher als bei Frühgeborenen mit NEC (12500pg/ml) (Ng et al., 2013). In Kombination mit den präoperativ erhöhten IFABP-Werten deuten diese hohen TFF3-Werte auf einen bereits bestehenden Schaden und Reparaturprozess am intestinalen Epithel hin. Postoperativ ließ sich ein kontinuierlicher Anstieg der Serum-TFF3 Konzentration beobachten. Dieser ist am ehesten mit dem durch die Operation unter HLM verursachten zusätzlichen intestinalen Epithelzellschaden zu erklären (IFABP-Anstieg), in Folge dessen TFF3 in einem unmittelbar einsetzenden Heilungsprozess kontinuierlich hochreguliert und sezerniert wird bis zum Abschluss des Heilungsprozesses. Bei diesem spielt TFF3 eine essenzielle Rolle (Sands und Podolsky, 1996; Taupin und Podolsky, 2003). Ali et al. (2023) konnten einen Zusammenhang zwischen echtem intestinaleem Schaden (NEC) und einem TFF3 Anstieg zeigen. Andererseits könnte hierfür auch eine postoperativ eingeschränkte Nierenfunktion mit

reduzierter renaler Clearance des TFF3 ursächlich sein. Eine temporäre Phase der Oligo- oder Anurie ist in diesem Patientenkollektiv postoperativ häufig zu beobachten. Dies würde auch den beobachteten postoperativen Abfall der TFF3-Konzentration im Urin erklären. Ein weiterer Erklärungsansatz wäre eine verminderte Freisetzung von TFF3 aus der Niere. Als Reaktion auf nephrotoxische Substanzen kommt es zu einer Abnahme von TFF3 im Urin (Yu et al., 2010). Eine wichtige Rolle scheinen hier pro-inflammatorische Zytokine wie TFN α und IL-6 zu spielen, welche in Zell-Modellen zu einer Runterregulierung von TFF3 führten (Dossinger et al., 2002). Im Rahmen der inflammatorischen Reaktion auf einen herzchirurgischen Eingriff an der HLM kommt es zu einer Ausschüttung zahlreicher pro- und anti-inflammatorischer Zytokine (Habes et al., 2017; Typpo et al., 2015). In unserer Subpopulation konnten wir postoperativ erhöhte IL-6 Konzentrationen nachweisen. Dies deckt sich mit Ergebnissen anderen Forschungsgruppen (Habes et al., 2017; Typpo et al., 2015). Zusammenfassend ist erhöhtes Serum-TFF3 postoperativ in unserer Studienpopulation am ehesten eine Kombination aus einem ablaufenden intestinalen Reparaturprozess und verminderter renaler TFF3-Clearance.

Inwieweit lassen die gemessenen Biomarker Rückschlüsse auf den weiteren postoperativen Verlauf zu?

Als klinische Outcome Parameter wurden die Intubationsdauer, NIV-Dauer, Aufenthaltsdauer im Krankenhaus (LOS) und Zeit bis zum vollen enteralen Nahrungsaufbau definiert. Wir konnten zeigen, dass IFABP und TFF3 signifikant mit diesen korrelieren, wobei IFABP im Urin und TFF3 im Serum die stärksten Korrelationen aufwiesen. Ein möglicher Erklärungsansatz hierfür stellen die unterschiedlichen Freisetzungseigenschaften dieser Proteine dar. Während IFABP als intrazelluläres Protein bei Zellschaden ins Blut freigesetzt wird und nach einer HWZ von ca. 11 Minuten renal eliminiert und im Urin nachweisbar ist, wird TFF3 als Ausdruck einer anhaltenden Epithel-Wiederherstellung kontinuierlich ins Blut sezerniert. Kombiniert man die zwei Biomarker zu einem gemeinsamen Score werden die Korrelationen nochmals deutlich stärker. Wir konnten zeigen, dass die Korrelationen zwölf Stunden nach Herz-OP (T3) am stärksten sind. Wir vermuten, dass dieser Zeitpunkt sowohl den durch die Operation zusätzlich induzierten intestinalen Epithel-Zellschaden, als auch den initiierten

Reparaturprozess erfasst. Damit ergibt sich mit dem Messzeitpunkt zwölf Stunden postoperativ ein möglicherweise kritisches prognostisches Zeitfenster.

Der enterale Nahrungsaufbau bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern nach einer Herz-OP ist nach wie vor eine Herausforderung. Obwohl weitestgehend Konsens darüber besteht, so früh wie möglich damit zu beginnen, wird im klinischen Alltag der Kostaufbau immer wieder reduziert oder unterbrochen. Ernährungsprotokolle sind auf den meisten pädiatrischen Intensivstationen klinische Praxis aber einheitliche Kriterien existieren international hierfür nicht. Der Zusammenhang zwischen Biomarkern und Schwierigkeiten im enteralen Kostaufbau nach herzchirurgischen Eingriffen bei Kindern ist noch nicht ausreichend untersucht worden. Diesbezüglich finden sich unterschiedliche und zum Teil widersprüchliche Angaben in der Literatur zu vergleichbaren Patientenkollektiven. Während manche Autoren keinen Zusammenhang zwischen Serum-IFABP und einem postoperativen Nahrungsaufbau in einem ähnlichen Patientenkollektiv herstellen konnten (Watson et al., 2020), hatte 2015 eine Arbeitsgruppe (Typpo et al., 2015) einen Zusammenhang zwischen niedrigerem Serum-IFABP und Zeichen für eine gestörten Kostaufbau zeigen können. Owens (Owens et al., 2024) wiederum präsentierte eine signifikante Assoziation zwischen erhöhtem IFABP und Nahrungsunverträglichkeit postoperativ. Bigaj (Bigaj et al., 2026) hatten in einer kleinen Studienpopulation (N=28) bei Kindern mit komplexen Herzfehlern den Zusammenhang von Biomarkern und Schwierigkeiten im postoperativen Nahrungsaufbau untersucht. Kinder mit Zeichen einer Unverträglichkeit im enteralen Nahrungsbau zeigten bereits vor Beginn des Kostaufbaus erhöhte IFABP-Werte im Serum. In unserer Arbeit konnten wir zeigen, dass der TI-Score signifikant mit einem verlängerten Nahrungsaufbau (>6 Tage) assoziiert ist. Neben dem TI-Score war lediglich die Intubationsdauer ebenfalls positiv mit einem prolongiertem Kostaufbau assoziiert. Zahlreiche Studien konnten bereits einen Zusammenhang zwischen Fortschritten im postoperativen Nahrungsaufbau und klinischen Variablen (Alten et al., 2015; Watson et al., 2020) aufzeigen. Diese sind allerdings unspezifisch und in der Regel Indikator für Krankheitsschwere und –komplexität. Dennoch werden diese innerklinisch häufig bei Entscheidungen bezüglich des enteralen Nahrungsaufbaus herangezogen. Mit unserer Studie konnten wir zeigen, dass auch Biomarker ein weiterer Baustein in der Steuerung des enteralen Nahrungsaufbaus in dieser speziellen Population

sein können. Bei Kindern mit NEC sind einzelne Biomarker bezüglich ihrer Bedeutung im enteralen Kostaufbau bereits untersucht worden (Coufal et al., 2020). Hier zeigte Serum-Amyloid A mit einer AUC von 0.81 eine bessere Diskriminierungsfähigkeit als IFABP oder TFF3. Der von uns entwickelte TI-Score 12 Stunden postoperativ zeigte sich demgegenüber mit einer AUC von 0.888 nochmals verbessert. Ursächlich hierfür ist am ehesten die Tatsache, dass es sich bei SAA um ein akute-Phase-Protein handelt und somit relativ unspezifisch ist, wohingegen TFF3 und vor allem IFABP als Reaktion auf einen intestinalen Zellschaden freigesetzt werden. Biomarker könnten zukünftig eine Rolle beim enteralen Kostaufbau einnehmen, um Kinder mit einem erhöhten Risiko für einen prolongierten Nahrungsaufbau frühzeitig zu identifizieren und den weiteren Kostaufbau möglichst objektiv zu steuern. Welche Biomarker, einzeln oder in Kombination, hierfür am besten geeignet sind, müssen weitere Studien zeigen. Für den TI-Score scheint die einmalige Messung zwölf Stunden postoperativ möglicherweise ausreichend. Zusätzliche Proben- und vor allem Blutentnahmen könnten so auf ein Minimum reduziert werden.

Die Therapie mit vasoaktiven Substanzen während einer Herz-Operation und in der intensivmedizinischen Anschlussversorgung beeinflusst die Darmperfusion und damit möglicherweise auch die Freisetzung von IFABP und TFF3. Obwohl wir signifikante positive Korrelationen zwischen den getesteten Biomarkern und dem VIS-Score zeigen konnten, ließ sich kein Zusammenhang zwischen erhöhtem Katecholaminbedarf und höheren TI-Scores nachweisen. Andere Autoren hatten hingegen bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern einen Zusammenhang zwischen erhöhtem Katecholaminbedarf und höherem Serum-IFABP herstellen können (Typpo et al., 2015; Watson et al., 2020). Hierbei ist allerdings darauf hinzuweisen, dass auf unserer kinderkardiologischen Intensivstation die Verwendung von Adrenalin und Vasopressin relativ restriktiv gehandhabt wird. Gerade diese beiden Substanzen reduzieren den intestinalen Blutfluss mehr als andere vasoaktive Medikamente (Krejci et al., 2006; Levy et al., 2011; Nygren et al., 2009). In unserem Fall ist die positive Korrelation am ehesten Ausdruck einer allgemeinen Krankheitsschwere. In Folgestudien sollten die unterschiedlichen Katecholamin-Regime und ihr Einfluss auf die Freisetzung von intestinalen Biomarkern berücksichtigt und weiter untersucht werden.

Lässt sich mit Hilfe von Biomarkern die Beeinträchtigung der intestinalen Perfusion in Abhängigkeit von der Schwere des Herzfehlers beurteilen?

Pathan et al. (2011) konnten höhere IFABP-Werte bei Patienten mit Ductus-abhängiger Perfusion nachweisen, während Watson et al. (2020) höheres Serum-IFABP bei Patienten mit einer „single-ventricle“-Physiologie beschrieben haben. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen konnten wir in unserer Studie bei Kindern mit komplexen Herzfehlern und solchen mit einer Shunt-abhängigen Perfusion präoperativ deutliche höhere IFABP-Werte im Urin nachweisen. Dabei zeigte sich innerhalb dieser Gruppe eine breite Verteilung über den gesamten Messbereich. Diese hohe inter-individuelle Variabilität unterstreicht die Heterogenität dieses Patientenkollektivs, insbesondere in der Subgruppe der schweren Herzfehler. Darüber hinaus konnten wir demonstrieren, dass sich mittels Serum-TFF3 bzw. dem TI-Score Herzfehler mit und ohne Shunt-abhängiger Perfusion unterscheiden lassen. Über den gesamten Messzeitraum hatten Kinder mit einer Shunt-abhängigen Perfusion signifikant höhere Serum-TFF3-Werte. Innerhalb der STAT-Kategorien, die international zur Risikostratifizierung des Mortalitätsrisikos einer Korrektur-OP bei Herzfehlern eingesetzt werden, lassen sich OPs mit niedrigem Risiko (STAT 1 & 2) von solchen mit hohem Risiko (STAT 4 & 5) mittels TFF3 und TI-Score differenzieren. Perspektivisch könnten Biomarker wie TFF3 eine Rolle in der präoperativen Risikoabschätzung von Kindern mit angeborenen Herzfehlern einnehmen. Im Kontext der erhöhten TFF3 Werte bei Shunt-abhängigen Herzfehlern müssen allerdings zwei weitere Aspekte berücksichtigt werden. Zum einen die bereits oben beschriebene reduzierte GFR bei Shunt-abhängigen CHDs, welche konsekutiv zu erhöhten TFF3-Werten im Serum führen kann. Zum anderen, dass es sich bei TFF3 nicht um ein Darm-spezifisches Protein handelt. TFF3 findet sich auch in anderen Epithelien, unter anderem im Bronchial-Epithel (Taupin et al., 2003). Erhöhte Serum-Werte müssen daher nicht zwingend die Folge eines intestinalen Zellschadens sein, sondern könnten auch Resultat einer vermehrten Freisetzung aus dem Bronchialsystem sein. Eine mögliche Ursache könnte die bei komplexen Herzfehlern häufig veränderte Hämodynamik zugunsten der Lungenperfusion sein, was zu einer pulmonalen Hyperzirkulation führt. Zurzeit sind kommerziell erhältliche ELISA-KITs nicht in der Lage TFF3 aus verschiedenen Epithelien zu differenzieren. Dies muss bei der Bewertung der Ergebnisse berücksichtigt werden. Hierfür sind weitere

Studien notwendig um zu explorieren, inwieweit erhöhtes Serum-TFF3 bei Shunt-abhängiger Perfusion durch einen epithelialen Schaden des Darms, der Lunge oder durch eine Kombination aus beidem verursacht wird.

Als limitierende Faktoren unserer Studie sind zum einen das Design als unizentrische Studie zu nennen, welches die Vergleichbarkeit / Übertragbarkeit der Ergebnisse erschwert. Als statistisch limitierender Faktor sind neben der kleinen Studienpopulation auch die daraus resultierenden kleinen Subgruppen zu bewerten. Darüber hinaus muss die große Altersbreite innerhalb der Population berücksichtigt werden, auch wenn wir keinen direkten Zusammenhang zwischen Biomarkern und Patientenalter nachweisen konnten. Zusätzlich muss das Fehlen eines standardisierten Ernährungsprotokolls auf der PCICU bei der Bewertung der Ergebnisse bezüglich des postoperativen Kostaufbaus in Betracht gezogen werden. Auf Grund der Gruppeneinteilungen der Biomarker mussten wir bei der Analyse der Biomarker im Urin auf eine Kreatinin-Korrektur verzichten. Eine zu erwartende perioperativ abnehmende Diurese und damit auch eine eingeschränkte renale Elimination der Biomarker könnten die Ergebnisse beeinflusst haben und müssen bei der Interpretation ebenfalls berücksichtigt werden.

1.5 Zusammenfassung

Kinder mit angeborenen Herzfehlern stellen ein besonderes Patientenkollektiv dar. Der postoperative Verlauf nach Herzoperation ist oftmals kompliziert und langwierig. Perioperativ sind diese Kinder bezüglich gastrointestinaler Komplikationen wie der nekrotisierenden Enterokolitis besonders gefährdet. Inwieweit Biomarker zur Abschätzung des intestinalen Zellschadens hier eine Hilfestellung geben können, ist bis jetzt nicht hinreichend untersucht worden. Das intestinale Fettsäure-bindende Protein ist ein darmspezifisches Protein, welches bei Schädigung von Darmzellen vermehrt im Blut und auch im Urin messbar ist. Der Trefoil Faktor 3 ist ein kurzkettiges Protein das unter anderem im Gastrointestinaltrakt in Folge eines Epithelschadens aktiv sezerniert wird. Wir konnten in unserer Arbeit zeigen, dass die intestinalen Biomarker bereits präoperativ deutlich erhöht sind. Dies deutet auf einen bereits entstandenen intestinalen Zellschaden hin, welcher am ehesten in der intestinalen Minderperfusion in Folge der veränderten Hämodynamik begründet liegt. Ein unmittelbar postoperativer Anstieg der Biomarker

weist auf einen perioperativ entstandenen intestinalen Epithelzellschaden hin, mit einem rasch einsetzten Reparaturprozess. Innerhalb von sechzig Stunden postoperativ fallen die initial erhöhten Werte des intestinalen Fettsäure-bindende Proteins auf ein präoperatives Niveau, sodass der perioperativ entstandene Schaden am intestinalen Epithel nur temporär zu sein scheint. Die analysierten Biomarker zeigten signifikante Korrelationen mit klinischen Verlaufsparemtern (Intubationsdauer, Dauer der nicht-invasiven Beatmung, Krankenhausaufenthalt und Dauer des enteralen Nahrungsaufbaus), welche für das intestinale Fettsäure-bindende Protein im Urin und für den Trefoil Faktor 3 am stärksten waren. Wir entwickelten einen kombinierten Biomarker-Score, mit dem wir nochmals verbesserte Korrelationen mit den Outcome-Parametern nachweisen konnten. Dieser kombiniert nicht nur die zwei Biomarker sondern auch zwei unterschiedliche Aspekte: zum einen den intestinalen Epithelzellschaden (intestinales Fettsäure-bindende Protein) und zum anderen den hierdurch in Gang gesetzten Reparaturprozess (Trefoil Faktor 3). Der Messzeitpunkt zwölf Stunden postoperativ scheint hier besonders geeignet, um eine prognostische Aussage über den postoperativen Verlauf zu treffen.

Kinder mit komplexen Herzfehlern und solche mit Shunt-abhängiger System- oder Lungenperfusion wiesen in unserer Arbeit höhere Biomarker-Konzentration auf als solche mit simplen bzw. nicht Shunt-abhängigen Herzfehlern. Ob Biomarker zukünftig eine zusätzliche Komponente in der präoperativen Risiko-Abschätzung in diesem Patientenkollektiv darstellen können, müssen weitere Studien zeigen.

Postoperativ ist der Nahrungsaufbau bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern oft prolongiert und wird häufig auch auf Grund unspezifischer Parameter unterbrochen. Eine objektivere Steuerung des enteralen Nahrungsaufbaus wäre wünschenswert, um einerseits den Kostaufbau zu beschleunigen und gleichzeitig intestinale Komplikationen wie eine nekrotisierende Enterokolitis wenn möglich zu reduzieren. Mit dem entwickelten Biomarker-Score 12 Stunden postoperativ konnten wir in Regressionsanalysen einen weiteren unabhängigen Prädiktor für einen verzögerten Kostaufbau identifizieren. Zudem konnten wir demonstrieren, dass sich mittels des Scores 12 Stunden nach der Herzoperation ein prolongierter enteraler Nahrungsaufbau mit guter Sensitivität und Spezifität vorhersagen lässt. Inwieweit Biomarker und insbesondere der Biomarker-Score

eine Rolle in der perioperativen Risikoevaluation und dem postoperativen Nahrungsaufbau bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern spielen können, müssen weitere, prospektive Studien zeigen.

1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Ali EA, Syed A, Khailova L, Iguidbashian JP, Suarez-Pierre A, Klawitter J, Stone M, Mancuso CA, Frank BS, Davidson JA. Novel Biomarkers of Necrotizing Enterocolitis in Neonates Undergoing Congenital Heart Disease Surgery: A Pilot Cohort Study. *J Am Heart Assoc* 2023; 12: 10–12

Alten JA, Rhodes LA, Tabbutt S, Gaies M. Perioperative feeding management of neonates with CHD: Analysis of the Pediatric Cardiac Critical Care Consortium (PC4) registry. *Cardiol Young* 2015; 25: 1593–1601

Bigaj K, Munoz AC, Yuying L, Nair S. Biomarkers for feeding intolerance in infants with complex heart defects undergoing palliation surgery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2026

Boerter N, Freudenthal NJ, Bagci S, Kratz T, Breuer J, Mueller N. IFABP and TFF3 as predictors for intestinal health in the perioperative setting in children with congenital heart disease. *Front Cardiovasc Med* 2025; 12: 1–11

Cantinotti M, Giovannini S, Murzi B, Clerico A. Diagnostic , prognostic and therapeutic relevance of B-type natriuretic hormone and related peptides in children with congenital heart diseases. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 567–580

Capaldo C, Nusrat A. Cytokine regulation of tight junctions. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1788: 864–871

Cheng S, Yu J, Zhou M, Tu Y, Lu Q. Serologic Intestinal-Fatty Acid Binding Protein in Necrotizing Enterocolitis Diagnosis: A Meta-Analysis. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 1–8

Coufal S, Kokesova A, Tlaskalova-Hogenova H, Frybova B, Snajdauf J, Rygl M, Kverka M. Urinary I-FABP, L-FABP, TFF-3, and SAA Can Diagnose and Predict the Disease Course in Necrotizing Enterocolitis at the Early Stage of Disease. *J Immunol Res* 2020; 2020: 3074313.

Derikx JP, Evennett NJ, Degraeuwe PL, Mulder TL, van Bijnen AA, van Heurn LWE, Buurman WA. Urine based detection of intestinal mucosal cell damage in neonates with suspected necrotising enterocolitis. *Gut* 2007; oct: 1473–1475

Derikx JP, van Waardenburg DA, Thuijls G, ..., Buurman WA. New insight in loss of gut barrier during major non-abdominal surgery. *PLoS ONE* 2008; 3(12):e3954

Dossinger V, Kayademir T, Blin N, Gött P. Down-regulation of TFF expression in gastrointestinal cell lines by cytokines and nuclear factors. *Cell Physiol Biochem* 2002; 12: 197–206

Gaies MG, Gurney JG, Yen AH, Napoli ML, Gajarski RJ, Ohye RG, Charpie JR, Hirsch JC. Vasoactive–inotropic score as a predictor of morbidity and mortality in infants after cardiopulmonary bypass. *Pediatr Crit Care Med* 2010; 11: 234–238

Glatz JF, van der Vusse. Cellular fatty acid-binding proteins: their function and physiological significance. *Prog Lipid Res* 1997; 35: 243–282

Guthmann F, Borchers T, Wolfrum C, Wustrack T, Bartholomäus S, Spener F. Plasma concentration of intestinal- and liver-FABP in neonates suffering from necrotizing enterocolitis and in healthy preterm neonates. *Mol Cell Biochem* 2002; 239: 227–234

Habes Q, Linssen V, Nooijen S, Kiers D, Gerretsen J, Pickkers P, Scheffer GJ, Kox M. Markers of Intestinal Damage and their Relation to Cytokine Levels in Cardiac Surgery Patients. *Shock* 2017; 47: 709–714

Holmes JH, Lieberman JM, Probert CB, ..., Hall AL. Elevated intestinal fatty acid binding protein and gastrointestinal complications following cardiopulmonary bypass: A preliminary analysis. *J Surg Res* 2001; 100: 192–196

Jeffries HE, Wells WJ, Starnes VA, Wetzel RC, Moromisato DY, Anesthesiology D, Medicine CC, Surgery C, Angeles CHL, Angeles L. Gastrointestinal Morbidity After Norwood Palliation for Hypoplastic Left Heart Syndrome. *Ann Thorac Surg* 2006: 3–8

Kalfa D, Charpentier A, Dragulescu A. Ischaemic intestinal disease in neonates with congenital heart defects: the timing of cardiac surgery does matter. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2010; 95: F75-76

Kano H, Takahashi H, Inoue T, Tanaka H, Okita Y. Transition of intestinal fatty acid-binding protein on hypothermic circulatory arrest with cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 2017; 32: 200–205

Kessler U, Hau E, Kordasz M, Haefeli S, Tsai C. Congenital Heart Disease Increases Mortality in Neonates With Necrotizing Enterocolitis. *Front Pediatr* 2018; 6: 1–6

Krejci V, Hildebrand LB, Sigurdsson GH. Effects of epinephrine, norepinephrine, and phenylephrine on microcirculatory blood flow in the gastrointestinal tract in sepsis. *Crit Care Med* 2006; 34: 1456–1463

Levy B, Perez P, Perny J, Thivillier C, Gerard A. Comparison of norepinephrine-dobutamine to epinephrine for hemodynamics, lactate metabolism, and organ function variables in cardiogenic shock. A prospective, randomized pilot study. *Crit Care Med* 2011; 39: 450–455

Mannoia K, Boskovic DS, Slater L, Plank MS, Angeles DM, Gollin G. Necrotizing enterocolitis is associated with neonatal intestinal injury. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 81–85

Mao Q, Yu Z, Nie L, Wang F, Dong Y, Qi X, Salomon J. Gastrointestinal injury in cardiopulmonary bypass : current insights and future directions. *Front Pharmacol* 2025: 1–15

Mara J, Gentles E, Alfheaid HA, Diamantidi K, Spenceley N, Davidson M, Young D, Gerasimidis K. An evaluation of enteral nutrition practices and nutritional provision in children during the entire length of stay in critical care. *BMC Pediatr* 2014; 14: 1–9

Miño SC, Fussell M. Meeting the demands of critical illness in children: The importance of nutrition in pediatric intensive care. *Pediatr Crit Care Med* 2014; 15: 667–668

Montagnana M, Danese E, Lippi G. Biochemical markers of acute intestinal ischemia: possibilities and limitations. *Ann Transl Med* 2018; 6: 341

Müller N, Rothkegel ST, Boerter N, Sumaria K, Breuer J, Freudenthal NJ. Perioperative urinary NT-ProBNP values and their usefulness as diagnostic and prognostic markers in children with congenital heart disease. *Clin Chim Acta* 2021; 518: 28–32

Nakov R, Velikova T, Nakov V, Ianiro G, Gerova V, Tankova L. Serum trefoil factor 3 predicts disease activity in patients with ulcerative colitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 788–794

Ng EWY, Poon TCW, Lam HS, Cheung HM, Ma Y, Chan KY, Raymond P, Wong O, Leung KT. Gut-associated biomarkers L-FABP, I-FABP, and TFF3 and LIT score for diagnosis of surgical necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Ann Surg* 2013; 258: 1111–1118

Nygren A, Thorén A, Ricksten SE. Vasopressin decreases intestinal mucosal perfusion: A clinical study on cardiac surgery patients in vasodilatory shock. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009; 53: 581–588

Olivero C, Carbone F, Liberale L, Montecucco F. Precision medicine in intestinal ischemia: the emerging role of biomarkers. *Intern Emerg Med* 2025; 20: 369–379

Owens J, Qiu H, Knoblich C, ..., Salomon JD. Feeding intolerance after pediatric cardiac surgery is associated with dysbiosis, barrier dysfunction, and reduced short-chain fatty acids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2024; 327: G685-G696

Pathan N, Burmester M, Adamovic T, ..., Mitchell JA. Intestinal injury and endotoxemia in children undergoing surgery for congenital heart disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184: 1261-1269

Pelsters MM, Namiot Z, Kisielewski W, Namiot A, Januszkiewicz M, Hermens WT, Glatz JF. Intestinal-type and liver-type fatty acid-binding protein in the intestine. Tissue distribution and clinical utility. *Clin Biochem* 2003; 36: 529–535

Peters WHM, Roelofs, Æ Hennie M J, Wigmore ÆSJ. Liver Manipulation Causes Hepatocyte Injury and Precedes Systemic Inflammation in Patients Undergoing Liver Resection. *World J Surg* 2007; Oct; 31 10: 2033–2038

Samson MH. Quantitative measurements of trefoil factor family peptides: possibilities and pitfalls. *Scand J Clin Lab Invest* 2013; Apr; 73: 193–202

Sands BE, Podolsky DK. The trefoil peptide family. *Annu Rev Physiol* 1996; 58: 253–273

Schurink M, Scholten IG, Kooi EM, Hulzebos CV, Kox RG, Groen H, Heineman E, Bos AF, Hulscher JB. Intestinal fatty acid-binding protein in neonates with imminent necrotizing enterocolitis. *Neonatology* 2014; 106: 49–54

Taupin D, Podolsky DK. Trefoil factors: Initiators of mucosal healing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 721–732

Taupin DR, Kinoshita K, Podolsky DK. Intestinal trefoil factor confers colonic epithelial resistance to apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 799–804

Tume L, Carter B, Latten L. A UK and Irish survey of enteral nutrition practices in paediatric intensive care units. *Br J Nutr* 2013; 109: 1304–1322

Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 799–809

Typpo KV, Larmonier CB, Deschenes J, Redford D, Kiela PR, Ghishan FK. Clinical characteristics associated with postoperative intestinal epithelial barrier dysfunction in children with congenital heart disease. *Pediatr Crit Care Med* 2015; 16: 37–44

Vieten D, Corfield A, Carroll D, Ramani P, Spicer R. Impaired mucosal regeneration in neonatal necrotising enterocolitis. *Pediatr Surg Int* 2005; 21: 153–160

Watson JD, Urban TT, Tong SS, Zenge J, Khailova L, Wischmeyer PE, Davidson JA. Immediate Post-operative Enterocyte Injury, as Determined by Increased Circulating Intestinal Fatty Acid Binding Protein, Is Associated With Subsequent Development of Necrotizing Enterocolitis After Infant Cardiothoracic Surgery. *Front Pediatr* 2020; 8

Weiss SL, Gossett JG, Kaushal S, Wang D, Backer CL, Wald EL. Comparison of gastrointestinal morbidity after Norwood and hybrid palliation for complex heart defects. *Pediatr Cardiol* 2011; 32: 391–398

Wright J, Hameedi S, Gadde R, Schafer C, Xia J, Sbragia L, Olutoye OO. Intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) as a sensitive and specific biomarker for necrotizing enterocolitis (NEC) in pre-term infants. *J Pediatr Surg* 2026; 61 (1):162741

Xu L, Teng X, Guo J, Sun M. Protective Effect of Intestinal Trefoil Factor on Injury of Intestinal Epithelial Tight Junction Induced by Platelet Activating Factor. *Inflammation* 2012; 35: 308–315

Yu Y, Jin H, Holder D, ..., Gerhold DL. Urinary biomarkers trefoil factor 3 and albumin enable early detection of kidney tubular injury. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 470–477

2. Veröffentlichung

Dieser Publikationsdissertation liegt die folgende, unabhängig begutachtete Veröffentlichung zugrunde:

Boerter N, Freudenthal NJ, Soyhan B, Kratz T, Breuer J, Mueller N. IFABP and TTF3 as predictors for intestinal health in the perioperative setting in children with congenital heart disease. *frontiers in cardiovascular medicine*. 2025; 12: 1–11

<https://doi.org/10.3389/fcvm.2025.1633172>

3. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Klinik für Kinderkardiologie des Universitätsklinikums Bonn unter Betreuung von PD Dr. Nicole Müller durchgeführt.

Die Konzeption dieser Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit PD Dr. Nicole Müller (OÄ Kinderkardiologie; Universitätsklinikums Bonn) und Prof. Dr. Johannes Breuer (Direktor der Abteilung für Kinderkardiologie; Universitätsklinikum Bonn)

Die folgenden Analysen wurden nach Einarbeitung durch Mitarbeiter der AG Holdenrieder (Nikolai Trimpop; Makbule Kobilay) von mir in Zusammenarbeit mit Nikolai Trimpop und Makbule Kobilay durchgeführt: Bestimmung der Biomarker-Konzentrationen mittels Sandwich-ELISA.

Die folgenden Analysen wurden durch das Zentrallabor / die BioBank des Universitätsklinikum Bonn unter der Leitung von Prof. Dr. Stefan Holdenrieder durchgeführt: Bestimmung pro- und anti-inflammatorischer Zytokine (Proinflammatory Panel) mittels Chemilumineszenz-basierter Immunoassays.

Das zur Auswertung verwendete Datenmaterial wurde durch mich eigenständig generiert und zusammengestellt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch Dr. Noa Freundenthal (OÄ Kinderkardiologie; Universitätsklinikums Bonn) durch mich. Die graphische Ausarbeitung im Anschluss erfolgte eigenständig.

Die Interpretation und Diskussion der Ergebnisse des Original-Manuskripts erfolgte in Zusammenarbeit mit PD Dr. Nicole Müller (OÄ Kinderkardiologie; Universitätsklinikums Bonn) und PD Dr. Soyhan Bagci (OA Neonatologie und pädiatrische Intensivmedizin, Universitätsklinikum Bonn).

Eine erneute Überarbeitung des Manuskripts im Rahmen des Review-Prozesses erfolgte hauptverantwortlich durch mich mit Unterstützung von PD Dr. Nicole Müller, PD Dr. Soyhan Bagci, und Dr. Tobias Kratz (Abteilung Kinderkardiologie; Universitätsklinikum Bonn)

Ich übernehme die volle Verantwortung für den Inhalt der veröffentlichten Dissertationsschrift.

Ich versichere, die Dissertationsschrift selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

4. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Menschen danken, die mir bei der Fertigstellung meiner Promotion und dieser Arbeit zur Seite gestanden haben.

Frau PD Dr. Nicole Müller, meiner langjährigen Doktormutter und Betreuerin, die mich stets bei der Fertigstellung dieser Promotion unterstützt und immer an deren Vollendung geglaubt hat.

Herrn PD Dr. Soyhan Bagci für seinen wissenschaftlichen Rat und Expertise, die entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Frau Dr. Noa Freudenthal für ihre stete Hilfsbereitschaft in wissenschaftlichen Fragen sowie ihre kritischen Anregungen zur Verbesserung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt außerdem meiner Familie sowie meiner Partnerin für ihre ständige Unterstützung, Verständnis und Geduld während der Fertigstellung der Promotionsarbeit.

5. Publikation (PDF-Version)



OPEN ACCESS

EDITED BY

Giulia Iannaccone,
Catholic University of the Sacred Heart, Italy

REVIEWED BY

Jesse Aaron Davidson,
Children's Hospital Colorado, United States
Jaime Silva-Gburek,
Children's Mercy Kansas City, United States

*CORRESPONDENCE

Nicole Mueller
✉ nicole.mueller@ukbonn.de

RECEIVED 22 May 2025

ACCEPTED 09 October 2025

PUBLISHED 30 October 2025

CITATION

Boerter N, Freudenthal NJ, Bagci S, Kratz T, Breuer J and Mueller N (2025) IFABP and TFF3 as predictors for intestinal health in the perioperative setting in children with congenital heart disease. *Front. Cardiovasc. Med.* 12:1633172. doi: 10.3389/fcvm.2025.1633172

COPYRIGHT

© 2025 Boerter, Freudenthal, Bagci, Kratz, Breuer and Mueller. 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.

IFABP and TFF3 as predictors for intestinal health in the perioperative setting in children with congenital heart disease

Nicolas Boerter¹, Noa Judith Freudenthal², Soyhan Bagci³, Tobias Kratz², Johannes Breuer² and Nicole Mueller^{2*}

¹Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Bonn, Bonn, Germany, ²Department of Pediatric Cardiology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany, ³Department of Neonatology and Pediatric Intensive Care, University Hospital Bonn, Bonn, Germany

Introduction: Children with congenital heart disease (CHD) undergoing cardiac surgery are at heightened risk of gastrointestinal complications due to imbalances in systemic and pulmonary blood flow, often resulting in impaired intestinal perfusion and mucosal injury. Intestinal biomarkers such as intestinal fatty acid binding protein (IFABP) and trefoil factor 3 (TFF3) indicate intestinal damage. This study investigates intestinal fatty acid binding protein (IFABP) and trefoil factor 3 (TFF3) as biomarkers for intestinal cell damage and their potential utility in predicting clinical outcomes particularly the progression of enteral feeding post-surgery.

Methods: Serum and urine samples from 85 children with congenital heart defects were analyzed pre- and postoperatively at 6 time points focusing on IFABP and TFF3. IFABP and TFF3 levels were measured via ELISA and categorized into ordinal groups based on previous pediatric reference data and observed population distributions. A composite score (TI-score) combining urinary IFABP and serum TFF3 categories was created to improve predictive strength for outcome parameters. The primary outcome was time to full enteral nutrition; secondary outcomes included duration of invasive and non-invasive ventilation, vasoactive-inotropic score (VIS), and length of hospital stay.

Results: Of 85 analyzed patients, 73% showed elevated preoperative serum IFABP levels (>336 pg/ml), with postoperative peaks at ICU admission and normalization within 60 h. The TI-score, combining both biomarkers, showed the strongest correlations with clinical outcomes such as duration of invasive ventilation (IV), duration of non-invasive ventilation (NIV), ventilation duration, time to full enteral nutrition and length of hospital stay ($p < 0.01$). TI-score at 12 h post-surgery independently predicted delayed enteral feeding and outperformed single biomarkers (AUC = 0.888; cut-off 6.5, sensitivity 84.4%, specificity 85%). Children with complex CHD or extracardiac shunts had significantly higher biomarker levels and TI-scores throughout the perioperative period.

Conclusion: IFABP and TFF3 are reliable biomarkers for assessing intestinal injury in children undergoing cardiac surgery. The TI-score provides enhanced prognostic value and may serve as a practical tool to guide clinical management and nutritional planning in this vulnerable population.

KEYWORDS

IFABP, TFF3, intestinal perfusion, congenital heart disease, enteral feeding

1 Introduction

Maintaining a balanced pulmonary-to-systemic blood flow is critical in children with shunt-dependent congenital heart disease (CHD) as imbalances can compromise intestinal perfusion and oxygen delivery (1). This mismatch predisposes these patients to intestinal ischemia and related complications, including necrotizing enterocolitis (NEC), which occurs with increased incidence and mortality in this population (2, 3). During cardiac surgery, altered hemodynamics can further impair gut perfusion, leading to ischemia-reperfusion injury and mucosal damage (4, 5).

Intestinal fatty acid binding protein (IFABP), a cytosolic protein expressed predominantly in enterocytes of the small intestinal villi (6), is rapidly released into circulation upon mucosal damage and cleared renally with a plasma half-life of approximately 11 min (7). Elevated IFABP levels in blood and urine have been reported in several conditions involving intestinal injury (8–10), including in children undergoing cardiac surgery (11–13). Human models showed significant correlations between the extent in histological damage and the increase in circulating IFABP (14) and in neonates with NEC IFABP levels correlated with the length of bowel resection (15). Intestinal trefoil factor 3 (TFF3), secreted by goblet cells of the gastrointestinal tract (16), promotes mucosal repair by facilitating epithelial restitution, angiogenesis, and tight junction stabilization (17–19). Its release increases in response to epithelial injury or inflammation, and its levels show wide inter-individual variability across biological fluids (18). Despite its recognized role in mucosal protection, TFF3 has not been comprehensively evaluated in the context of pediatric cardiac surgery.

Given the challenges of enteral nutrition in CHD patients postoperatively (20, 21) particularly due to the risk of gastrointestinal complications, we evaluated the diagnostic and prognostic utility of IFABP and TFF3 in this setting. The aim of this study was to measure IFABP and TFF3 as surrogate parameter for intestinal epithelial integrity in children undergoing CHD surgery in serum and urine to explore their diagnostic and prognostic value. We specifically evaluated their association with clinical outcomes, including time to initiation and advancement of enteral nutrition, in order to investigate their potential relevance for postoperative nutritional management. Notably, the influence of anesthesia induction on intestinal cell integrity in this context has not been previously addressed. We evaluated both IFABP and TFF3, measured in two different biological mediums (serum and urine), in children undergoing CHD surgery, to explore their combined association with clinical outcomes. We specifically assessed these biomarkers before, during and after with or without cardiopulmonary bypass (CPB), to characterize their perioperative dynamics and to explore their association with relevant clinical outcomes, including the initiation and advancement of enteral nutrition.

2 Material and methods

From May 2015–April 2017, 85 children aged between birth and 6 years undergoing cardiac surgery for CHD were included in the study with written informed consent from their caregivers. Children who had multiple procedures were treated as separate cases if their age, weight, and hemodynamic situation changed significantly. The ethics committee of the University of Bonn approved the study (application number 375/13), which complied with the Declaration of Helsinki.

Two pediatric cardiologists classified patients according to their underlying condition into a simple—and a complex congenital heart disease group.

The **Simple congenital heart disease** group included patients with AV Canal (AVC), ventricular septal defect (VSD), atrial septal defect (ASD), sinus-venosus-defect (SVD), aortopulmonary window (APW) and partial anomalous pulmonary venous return (PAPVR).

The **Complex congenital heart disease** group included patients with critical valvular aortic stenosis, Coarctation of the aorta (CoA) with duct-dependent circulation, hypoplastic left heart syndrome (HLHS), Hypoplastic right heart syndrome (HRHS), pulmonary atresia (PA), tricuspid atresia (TA), Ebstein anomaly, D-transposition of the great arteries (D-TGA), double outlet right ventricle (DORV), tetralogy of Fallot (TOF), and total anomalous pulmonary venous return (TAPVR).

Patients were classified as having a “Shunt” in any case of duct or BT-Shunt dependent body-/lung perfusion before surgery.

Surgeries: ASD repair, VSD repair, AVC repair, SVD repair, APW repair, TOF repair, Coarctation repair, arterial switch, PA-banding, BT-shunt, Norwood procedure, Glenn procedure, Fontan procedure, surgical correction of Common trunk (Rastelli procedure with PA-conduit), aortic valve repair, hypoplastic arch repair.

2.1 Blood and urine sampling and processing

Blood and urine specimens were collected during routine perioperative sampling at six different time points. Missing values were treated as randomly missing and were excluded pairwise from statistical analysis.

Time points for data collection included T0: on the day before the surgery; T1: before surgery, right after the induction of anaesthesia and placement of the central venous catheter and Foley catheter; T2: postoperatively after administration to the pediatric cardiac intensive care unit (PCICU); T3: 12 h, T4: 48 h and T5: 60 h after surgery.

Blood samples were taken during routine perioperative blood draws from a central venous line, an arterial line, or a peripheral venipuncture. The serum was immediately separated by centrifugation and stored in aliquots at -80°C until analysis. Urine samples were collected via a urine collection bag or an

indwelling catheter when present. Urine samples were also stored in aliquots at -80°C until analysis. All samples were processed and stored at the Liquid Biopsy Biobank, Institute of Clinical Chemistry and Clinical Pharmacology of the University Hospital Bonn. All samples were analyzed for biomarker concentrations within 2 weeks after sampling. In case of a necessary remeasurement a fresh aliquot was used that had not been thawed before.

2.2 Analysis of biomarker concentrations

2.2.1 IFABP

Serum and urinary IFABP concentrations were measured by ELISA according to the manufacturer's protocol (Standard range: 31,3 pg/ml to 2,000 pg/ml) (R&D Systems Minneapolis, USA).

All urine and serum samples for measurement of IFABP concentrations were diluted 1:4.

Samples above the detection limit were diluted at 1:10 and 1:100, respectively.

2.2.2 TFF3

Serum and urinary TFF3 concentrations were measured by ELISA according to the manufacturer's protocol (Standard range: 7,8 pg/ml to 500 pg/ml) (R&D Systems Minneapolis, USA).

Samples for TFF3 were diluted either 1:1,000 (urine) or 1:100 (serum).

All samples were measured in duplicate for quality management.

2.3 Data collection

Data collection from medical records included data for enteral nutrition and hemodynamic status, ventilation and length of hospital stay (LOS).

2.4 Vasoactive-inotropic-score (VIS)

To measure the inotropic support, vasoactive-inotropic-score (VIS), according to Gaies et al. (22) was calculated. The calculation was adapted to the used Catecholamines.

$$\text{VIS} = [\text{dobutamine } (\mu\text{g/kg/min})] * 1 + [\text{corotrope } (\mu\text{g/kg/min})] * 10 + [\text{noradrenaline } (\mu\text{g/kg/min})] * 100 + [\text{suprarenin } (\mu\text{g/kg/min})] * 100 + [\text{vasopressin } (\text{mU/kg/min})] * 10,000.$$

2.5 Classification into groups

Due to a broad distribution of IFABP values, samples were diluted to ascertain values up to 100,000 pg/ml. A further dilution was not always possible due to the small residual specimen volume. Due to the broad distribution with values below or above our measurement range and for better comparability of IFABP and TFF3, a division was carried out, and values were converted into an ordinal scale by classifying them into categories (Table 1). The categories built were based on the span of the latest pediatric publications (23, 24). In a metaanalysis carried out by Cheng et al. for IFABP as an serological marker in diagnosis for NEC in preterm infants. IFABP values $>7,700$ pg/ml were the highest cutoff-value for NEC among the included studies. A similar process was used to categorize TFF3 values. Due to the lack of publication on TFF3 in patients with CHD the categories were defined mathematically. The group ranges were defined according to the values and their occurrence in the examined population (Table 1).

2.6 TI-score

Serum TFF3 and urinary IFABP categories showed the highest correlations considering long-term outcome parameters. In regression analyses only urinary IFABP categories and TFF3 serum categories were significant. Therefore a combined score was created by adding the class ranks of IFABP in urine and TFF3 in serum. Generating a score from 2 (lowest) to 14 (highest class of both markers) by adding the respective category of serum TFF3 and urinary IFABP enables an even more powerful prediction of the outcome parameters.

2.7 Statistical analysis

All statistical analyses were performed by SPSS 25.0 and 28.0 (IBM Corp., Armonk, New York, N.Y., USA). Graphics were produced by SPSS 25.0/28.0 and GraphPad Prism 9.0 (Graphpad Software, San Diego, USA). Normal distribution was assessed by

TABLE 1 Grouping of the analyzed biomarkers.

Group	IFABP urine	IFABP serum	TFF3 urine	TFF3 serum
1	<40 pg/ml	<40 pg/ml	<31,400 pg/ml	<4,072 pg/ml
2	40–340 pg/ml	40–340 pg/ml	31,400–62,800 pg/ml	4,072–8,144 pg/ml
3	340–750 pg/ml	340–750 pg/ml	62,800–94,200 pg/ml	8,144–12,216 pg/ml
4	750–3,050 pg/ml	750–3,050 pg/ml	94,200–1,25,600 pg/ml	12,216–16,288 pg/ml
5	3,050–5,350 pg/ml	3,050–5,350 pg/ml	1,25,600–1,57,000 pg/ml	16,288–20,360 pg/ml
6	5,350–7,650 pg/ml	5,350–7,650 pg/ml	1,57,000–3,20,000 pg/ml	20,360–36,250 pg/ml
7	>7,650 pg/ml	>7,650 pg/ml	>3,20,000 pg/ml	>36,250 pg/ml

using the Kolmogorov–Smirnov test and the Shapiro–Wilk test. Correlations between variables were calculated using Pearson's correlation for metric-scaled variables and Spearman's correlation for ordinal scaled variables.

Paired *t*-test and Wilcoxon rank-sum test were used for within group comparisons. Unpaired *t*-test and Mann–Whitney *U* test were used for between group comparisons.

To compare TTF3 levels and TI-scores depending on the respective STAT-category the Kruskal–Wallis-Test was used. Due to multiple comparisons a *post-hoc* Bonferroni-correction was performed for adjusted *p*-values.

Independent variables significantly associated with time until full enteral nutrition was achieved were identified using univariate logistic regression. Variables with *p* < 0.05 were used for multivariate linear regression modeling. Significant models (*p* < 0.001) were compared for model accuracy using *R*² and in case of different numbers in variables adjusted *R*².

Univariate logistic regression analysis was used to identify significant clinical factors (*p* < 0.05) for prolonged enteral feeding among tested variables. The identified covariates were entered into a multivariate logistic regression analysis. Backwards elimination was used to assess which were independently associated with prolonged enteral feeding. The variables used for univariate logistic and linear regression were preselected. For a full list of the tested variables see Tables 3, 4.

A ROC analysis was performed to assess the most accurate cut-off value of the TI-score for predicting prolonged enteral feeding. Overall accuracy of TI score 12 h after surgery for predicting prolonged enteral feeding was represented by area under the curve (AUC). *P*-values less than 0.05 were considered to be statistically significant.

3 Results

A total of 85 out of 130 enrolled patients were analyzed. 10 Parents withdrew their permission during the study before sample analysis. 35 patients were excluded before analysis because of incomplete data sets. The remaining 85 patients combined for 99 surgical procedures. Patient characteristics are available in Table 2.

TABLE 2 Patients characteristics.

<i>N</i>	85 patients (99 operative episodes)
Sex (male/female)	57 (67%)/28 (33%)
Age at surgery (range)	1 day to 6 years (median 108 days)
Weight at surgery	1.7–40 kg (median 4.835 kg)
CHD complex/simple (25)	79 (79.8%)/20 (20.2%)
STAT Category 1/2/3/4/5	23 (23.2%)/28 (28.3%)/6 (6%)/33 (33.3%)/9 (9%)
Selective cerebral perfusion during surgery yes/no	16 (16.1%)/83 (83.8%)
Surgeries on/off pump	99 79 (79.8%)/20 (20.2%)
Extracardiac shunt yes/no	58 (58.58%)/41 (41.41%)
Shunt dependent body/lung perfusion	50 (overall) 32 (64%)/18 (36%)

TABLE 3 Univariate regression for TI-score 12 h after surgery. Bold values represent statistically significant values (*p* < 0.05).

Independent variable	<i>p</i> -value
STAT Category	<0.001
Ductal dependent circulation	<0.001
Age at surgery	<0.001
Time of Intubation	0.008
Time of non-invasive ventilation	0.41
Surgery with CPB	0.87
CPB time	<0.001
Aortic-cross-clamp time	0.325
Reperfusion time	<0.001
Minimal temperature during surgery	<0.001
Selective cerebral perfusion	0.48
VIS-score	0.037
Diarrhea	0.56
Gastric residual volume	0.41
Oral intake in first 24 h	0.23

TABLE 4 Univariate linear regression for time until full enteral nutrition (100 ml/kg) was achieved after cardiac repair surgery. Bold values represent statistically significant values (*p* < 0.05).

Independent variable	<i>p</i> -value
STAT Category	<0.001
Age at surgery	0.026
Time of Intubation	<0.001
Time of non-invasive ventilation	<0.001
Surgery with CPB	0.72
Aortic-cross-clamp time	0.22
Minimal temperature during surgery	0.003
Selective cerebral perfusion	0.28
VIS-score 24–48 h after surgery	<0.001
TI-score 12 h after surgery	0.004
Vomiting	0.19
Diarrhea	0.49
Gastric residual volume	0.63

3.1 Serum and urinary IFABP

73% of preoperative IFABP serum values exceeded the previously reported cut-off value of 336 pg/ml (23). Most values belonged to groups 3–4, with only 2% having values above 7,650 pg/ml (group 7). After the introduction of anaesthesia (T1) IFABP levels increased significantly (*p* < 0.001) with 10% of IFABP values above 7,650 pg/ml. Less than 10% of the included children had normal values after anaesthesia induction. IFABP levels peaked at T2 (after admission to PCICU) with 17% of IFABP values above 7,650 pg/ml and only 5.5% in groups 1 & 2. In the following days, IFABP levels decreased gradually reaching a similar distribution to T0 within 60 h after surgery (23% vs. 27%). Urinary IFABP levels did not increase to the same extent at T1 (56% < 340 pg/ml). During the rest of the study period IFABP categories for urine showed similar course-like serum values, peaking at T2 right after surgery (36% > 7,650 pg/ml) and returning to baseline levels within 60 h after surgery (61% < 340 pg/ml).

3.2 Serum and urinary TFF3

Unlike IFABP, presurgery urine values for TFF3 (mean 170.386 pg/ml) decreased after the introduction of anaesthesia (mean 133.384 pg/ml). While rising immediately after surgery (T2) (mean 149.843 pg/ml), urinary values showed another significant decrease ($p < 0.001$) by over 50% until 36 h post-surgery (mean 80.298 pg/ml). At T5, TFF3 levels began to increase again (mean 89.678 pg/ml). TFF3 in serum also dropped from T0 (mean 17.464 pg/ml) to T1 (mean 14.289 pg/ml), while increasing continuously afterwards until 60 h after surgery (mean 16.089 pg/ml).

The ordinal scales of IFABP levels correlated significantly in serum and urine at every time after surgery (T2: rho 0.546 $p < 0.001$; T3: rho 0.486 $p < 0.001$; T4 rho 0.278 $p = 0.016$; T5 rho 0.281 $p = 0.033$). TFF3 categories in serum and urine showed significant correlations ($p < 0.001$) during the whole study period (rho 0,339 –0,645).

3.3 Outcome parameters

Urinary IFABP values showed significant correlations at T3 for the duration of invasive ventilation (rho: 0.386), duration of non-invasive ventilation (rho: 0.447), length of stay (rho: 0.443) and time until complete enteral nutrition (rho: 0.523), all at a significance level of $p < 0.001$.

For TFF3, serum category correlations were stronger for the same outcome parameters than urinary categories across all examined time points. Like IFABP, correlations with duration of invasive ventilation (rho: 0.440), duration of non-invasive-ventilation (rho: 0.410), length of stay (rho: 0.475) and time until full enteral nutrition (rho: 0.465) were the strongest at T3 ($p < 0.01$).

Urinary IFABP and serum TFF3 also correlated during the whole study period. (T0: 0.645; T1: 0.339; T2: 0.408; T3: 0.498; T4: 0.481; T5: 0.435; $p < 0.01$).

3.4 TI-score

The TI-score correlated significantly with the examined long-term outcome parameters from (T1)–(T5). Like the single biomarkers, the newly generated score showed the highest correlations 12 h after surgery (T3). (Spearman's rho 0.497 for the duration of invasive ventilation; 0.485 for duration of non-invasive ventilation; 0.61 for time until full enteral nutrition and 0.532 for length of hospital stay with $p < 0.01$). The TI-score showed stronger correlations with long-term outcome parameters than the biomarkers on their own.

3.5 Clinical parameters

IFABP in urine and TFF3 in serum showed significant positive correlations with VIS-score and serum lactate. Urinary IFABP at

T3 correlated with VIS from 6 h–72 h after surgery ($p < 0.001$ –0.0015). Serum TFF3 correlated at T2 with VIS-scores from 24 h–72 h after surgery ($p = 0.008$ –0.048). Using the TI-score at T2 improved the correlations ($p < 0.001$ –0.003). The TI-score correlated significantly with serum lactate levels (from 6 h–72 h after surgery) from T1–T5. T1 (rho 0.349; $p = 0.005$). T2 (rho 0.384; $p < 0.001$). From T3–T5 (rho 0.419/0.499/0.564; $p < 0.001$).

3.6 Clinical variables associated with TI score 12 h after surgery

We conducted univariate regression analysis to identify ($p < 0.05$) significantly associated with TI score 12 h after surgery (see Table 3). The significant variables were entered in multivariate linear regression modeling. Forward and backward procedures were conducted to identify those independently associated with higher TI-scores 12 h at T3. The only covariates independently associated with TI score 12 h after surgery were minimal temperature during surgery ($p = 0.002$), STAT category ($p = 0.002$) and ductal dependent circulation ($p = 0.017$).

3.7 Enteral feeding and gastrointestinal complications

Gastrointestinal complications and signs of feeding intolerance (emesis, gastric residual volume, diarrhea) showed no association with the tested biomarkers. There were no cases of NEC in our study population.

There was no significant difference between different types of nutrition (breast milk, follow-up milk, pre-milk) and their respective biomarker values. In general we do not prescribe TPN post surgery. Infants on partial parenteral nutrition (PPN) received only tea as oral intake and did not differ in biomarker levels from those who received enteral nutrition.

The TI-score after surgery and the amount of fed milk 48–72 h post-op showed significant inverse correlations (T2 rho: –0.425; $p < 0.001$; T3 rho: –0.471; $p < 0.001$; T4 rho: –0.478 $p < 0.001$; T5: rho: –0.303; $p = 0.026$).

We performed a multivariable linear regression analysis to identify those factors associated with time until full enteral nutrition. Variables significant in univariate analysis were added to the multivariate modeling. For a full list of the tested variables in univariate analysis see Table 3. The TI-score 12 h after surgery was independently associated with delayed enteral feeding progress. Due to high collinearity between the different VIS-scores we chose the VIS-score with the highest significance (VIS 24–48 h) for final modeling. The most accurate model (adjusted $r^2 = 0.764$) included invasive ($p < 0.001$) and non-invasive ventilation duration ($p < 0.001$), VIS-score 24–48 h ($p < 0.001$) and TI-score 12 h after surgery ($p = 0.036$).

Binary logistic regression analysis was performed to identify clinical markers associated with prolonged enteral feeding. 6 days until complete enteral nutrition (100 mg/kg bodyweight/day) was defined as a cut-off point for prolonged enteral

TABLE 5 Univariate logistic regression for predicting prolonged enteral feeding (>6 days). Bold values represent statistically significant values ($p < 0.05$).

Independent variable	OR (95% CI)	p -value
STAT Category	2.227 (1.555–3.191)	<0.001
Age at surgery	0.993 (0.988–0.997)	0.002
Time of Intubation	1.030 (1.017–1.044)	<0.001
Time of non-invasive ventilation	1.002 (1.000–1.005)	0.084
Surgery with CPB	1.200 (0.453–3.180)	0.714
Aortic-cross-clamp time	1.013 (1.002–1.023)	0.016
Minimal temperature during surgery	0.726 (0.600–0.878)	<0.001
Selective cerebral perfusion	10.156 (2.148–48.015)	0.003
VIS-score 24–48 h after surgery	1.125 (1.054–1.201)	<0.001
TI-score 12 h after surgery	1.894 (1.422–2.521)	<0.001
Vomiting	0.191 (0.028–1.313)	0.092
Defecation frequency	0.638 (0.419–0.969)	0.035
Gastric residual volume 24–48 h after surgery	1.039 (1.003–1.077)	0.033

OR, odds ratio; CI, confidence interval; VIS-score, vasoactive-inotropic score; TI-score, TFF3 IFABP.

feeding. Independent variables associated with prolonged enteral feeding were identified by using univariable logistic regression and entered into the multivariate models. For a full list of tested

variables in univariate analysis see Table 4. In a multivariable logistic regression model only duration of invasive ventilation ($p = 0.028$) and TI-score 12 h after surgery ($p = 0.009$) proved to be significant independent predictors (for further details see Tables 5, 6) for prolonged enteral feeding ($n = 72$ AUC 0.888; Figure 1). A reasonable cut-off value for TI-score 12 h after surgery seems to be 6.5 with a sensitivity of 84.4% and a specificity of 85%.

3.8 Hemodynamics

The two biomarkers significantly differ in children with and without extracardiac vascular shunts. Those with extracardiac shunts showed significantly higher serum TFF3 levels (see Figure 2). The TI-score was also able to discriminate between these two conditions and was also superior to the individual measurements here ($p < 0.02$ at all times). There was no statistical significant difference between ductal dependent systemic perfusion and ductal dependent pulmonary circulation in biomarker levels or TI-score.

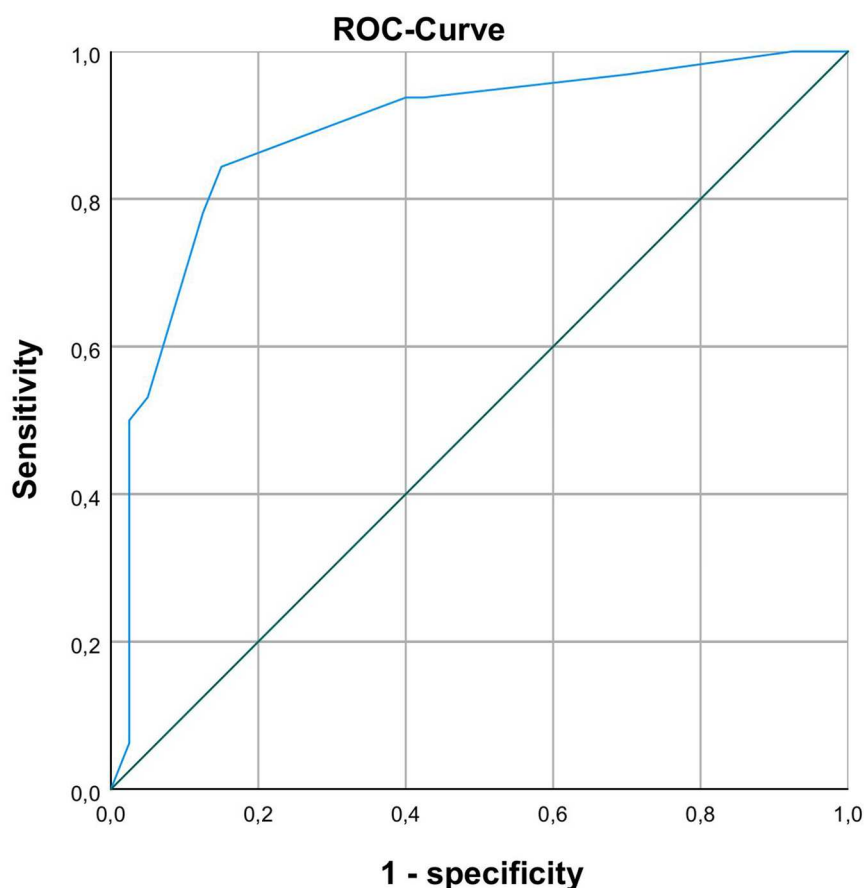


FIGURE 1

ROC-analysis with AUC 0.888 for differentiating between normal and prolonged enteral feeding process with TI-scores 12 h after surgery.

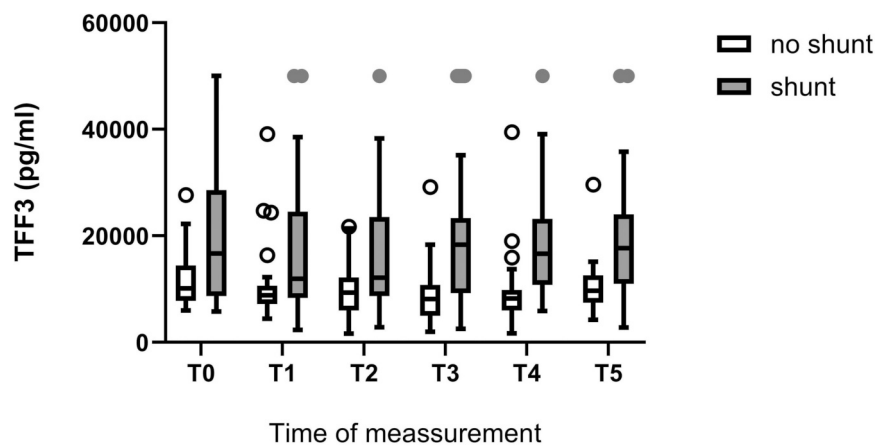


FIGURE 2

Comparison of serum TFF3 levels in CHD children with and without extracardiac shunt. T0: $p = 0.045$ T1: $p = 0.05$ T2: $p = 0.025$ T3: $p = 0.01$ T4: $p = 0.01$ T5: $p = 0.042$.

3.9 Simple vs. complex congenital heart defects

Children with complex (25) cardiac defects showed significantly higher IFABP categories in urine ($p = 0.045$) with a wide range from 1–7 before surgery than those with simple defects (all values below 340 pg/ml). For TFF3, categories also were significantly higher in children with complex CHD from T2–T4 (p : T2: 0.022; T3: 0.001; T4: 0.021). They also had significant higher TI-scores from T1–T5 (p : T1: 0.02; T2: 0.036; T3: <0.001; T4: 0.018; T5: 0.046). The different STAT categories showed significant differences in their mean ranks for serum TFF3 levels from T0–T5 (see Figure 3) and for TI-score from T1–T5. After Bonferroni correction for multiple comparisons

the only differences that remained significant for serum TFF3 were between STAT category 1&4; 1&5, 2&4 and 2&5. For TI-score significant differences were found between STAT categories 1&4 (T1–T4); 1&5 (T1–T5); 2&4 (T1, T3–5) and 2&5 (T2–T5). A sub-analysis to decrease the heterogeneity of our study group further by grouping patients with the same type of CHD showed no significant differences between a specific heart defect and the tested biomarkers or TI-score (data not shown).

4 Discussion

This study evaluated the combination of IFABP and TFF3 in urine and blood as perioperative biomarkers in children with

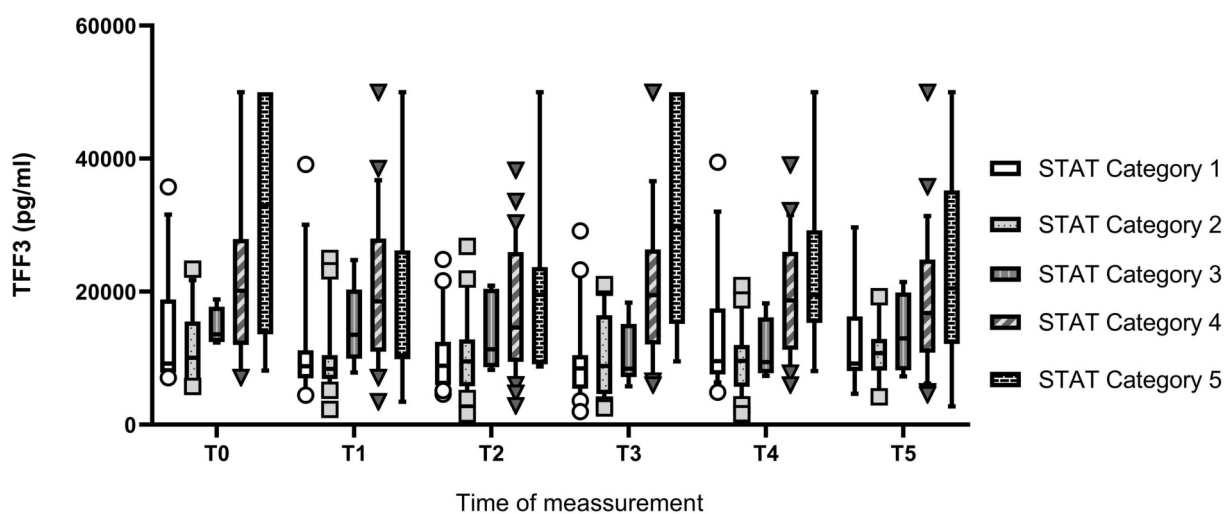


FIGURE 3

Comparison of serum TFF3 levels in CHD children depending on their STAT category. Significant differences after Bonferroni correction: T0: 2&5 ($p = 0.048$). T1: 1&4 ($p = 0.02$); 2&4 ($p = 0.014$). T2: 1&4 ($p = 0.044$); 1&5 ($p = 0.026$); 2&4 ($p = 0.029$); 2&5 ($p = 0.024$). T3: 1&4 ($p = 0.001$); 1&5 ($p = 0.003$); 2&4 ($p = 0.011$); 2&5 ($p = 0.011$). T4: 1&4 ($p = 0.019$); 1&5 ($p = 0.015$); 2&4 ($p = 0.011$); 2&5 ($p = 0.015$). T5: 2&4 ($p = 0.01$); 2&5 ($p = 0.022$).

TABLE 6 Multivariate model for predicting prolonged enteral feeding (>6 days). Bold values represent statistically significant values ($p < 0.05$).

Independent variable	OR (95% CI)	P Value
Time of Intubation	1.017 (1.002–1.032)	0.028
TI-score 12 h after surgery	1.613 (1.128–2.305)	0.009

congenital heart disease (CHD). Rather than attempting to provide definitive diagnostic performance, our analysis focuses on describing the perioperative kinetics of these biomarkers and exploring their association with clinical outcomes.

Our findings align with recurrent themes across the CHD literature: (i) preoperative IFABP elevation consistent with impaired splanchnic perfusion, (ii) sharp postoperative rises after cardiopulmonary bypass (CPB), and (iii) associations with adverse gastrointestinal outcomes. These patterns have been reported by Typpo et al. (11) and Watson et al. (12) and are reinforced by recent studies linking postoperative IFABP to feeding intolerance and NEC (Owens et al., 2024; Ali et al., 2023). Building on this foundation, our dual-matrix (serum/urine) and dual-pathway (injury/repair) approach extends prior work by examining IFABP together with TFF3.

We explicitly interpret circulating IFABP as a surrogate of enterocyte injury rather than a direct histologic measure. This interpretation is supported by human intestinal ischemia models (14, 26) as well as porcine (27, 28) and mouse (29) models. Heida et al. (15) showed a strong association in their preterm NEC-cohort between IFABP levels in serum/urine and the length of intestinal resection. Ali et al. (30) further demonstrated increased IFABP at the time of clinical NEC in neonates after CHD surgery, and Owens et al. (31) reported higher postoperative IFABP together with tight-junction proteins (claudin-2, claudin-3) in children who developed feeding intolerance, strengthening the biological plausibility of IFABP as an epithelial-injury marker. However it must be noted that injury in that context lacks a clear definition. Is injury defined by presentation of gastrointestinal symptoms/signs of feeding intolerance, by increases in biomarker levels or by histological changes? Different studies (14, 29, 32) demonstrated that a short (15–30 min) period of ischemia is enough to cause significantly increasing IFABP levels while presenting no relevant macroscopic damage. On a histological level subepithelial spaces appeared while the epithelial lining was still unimpaired. This has to be considered when using IFBAP as a surrogate for intestinal injury.

Serum and urinary IFABP demonstrated divergent kinetics. Serum concentrations rose rapidly, capturing acute peri-induction and intraoperative events, whereas urinary IFABP changed more slowly, likely reflecting renal handling and cumulative injury. Unfortunately due to classification into groups we were not able to normalize urinary biomarker levels to creatinine. Changes in diuresis during our study period can therefore confound our result. This has to be taken into account when comparing our results to other studies.

Interestingly prior studies (11, 31) sampled pre-operative after anesthesia induction. We observed that induction coincides with

early IFABP increases. On the one hand this could explain even higher pre-operative values in their study cohort. On the other hand it indicates that anesthetic-related reductions in systemic vascular resistance may transiently impair splanchnic perfusion and promote early enterocyte injury. This finding opens a potential therapeutic window: optimizing hemodynamics and perfusion during anesthetic induction may mitigate early intestinal epithelial compromise before surgical intervention begins.

Serum TFF3 was markedly elevated preoperatively and rose until 60 h postoperatively, consistent with restitution biology (17, 33). However, we also acknowledge an alternative explanation: reduced renal clearance may contribute to higher circulating TFF3 particularly in shunt-dependent lesions with lower baseline GFR. Owens (31) reported reduced glomerular function and persistent barrier dysfunction after CPB, which may reinforce this interpretation. The postoperative decline in urinary TFF3 is compatible with clearance effects. Importantly, Ali (30) demonstrated increased circulating TFF3 (together with TFF2 and IFABP) at clinical NEC onset in neonates with CHD, supporting its association with true intestinal injury. Taken together, serum TFF3 likely reflects both reparative activity and altered clearance, which must be considered in interpretation.

4.1 Combined biomarkers as a potential predictor for postoperative course

Both IFABP and TFF3 showed significant correlations with clinical parameters such as duration of intubation, time on non-invasive ventilation, hospital length of stay, and time to full enteral nutrition. Notably, urinary IFABP had better associations when categorized into diagnostic ranges, while TFF3 demonstrated more consistent predictive value in serum. These findings align with their respective pharmacokinetics and release mechanisms: IFABP reflects acute epithelial disruption, whereas TFF3 reflects a more prolonged reparative response. Combining both markers into a composite TI score improved correlations with outcomes. The strongest correlations were observed at T3 (12 h post-surgery), suggesting that this timepoint captures both the extent of intestinal injury and the initial reparative response and may serve as a critical window for prognostication.

4.2 Nutrition

The literature on feeding outcomes is heterogeneous. Typpo (11) reported lower IFABP with higher intolerance scores, but also found early enteral feeding linked to improved tolerance. Watson (12) did not see an association with time to feeds but did report a link between postoperative IFABP and later NEC. In a more homogeneous neonatal/young infant cohort, they did not find an association with time to enteral feeding (which tracked clinical factors such as cardiovascular support), but did show an independent association between postoperative IFABP and later clinical NEC. Owens (31) linked higher postoperative

IFABP and tight-junction proteins (claudin-2/-3) to feeding intolerance, while Ali (30) observed IFABP elevations at clinical NEC onset in postoperative CHD patients. In our study, the TI-score provided stronger prognostic associations with feeding outcomes, suggesting complementary contributions of injury (IFABP) and repair/clearance-affected (TFF3) biology. The diagnostic performance of the TI-score at 12 h post-surgery (AUC = 0.888) surpassed that of other biomarkers for enteral feeding like serum amyloid A in NEC patients (34), possibly due to higher specificity of IFABP and TFF3 for intestinal injury. Enteral feeding in children post-cardiac surgery is currently guided by clinical judgement, with significant inter-institutional variability (35, 36). Current data suggest that biomarkers can play a role in predicting progress in enteral feeding but further studies are necessary to find the most suitable biomarker or a combination thereof.

The TI-score could provide an objective biomarker-based tool to identify children at risk for delayed enteral feeding and help tailor nutrition protocols. A single measurement at 12 h post-surgery may suffice, minimizing sample burden while maximizing prognostic value.

4.3 Vasoactive inotropic score

The treatment with different vasoactive medications during surgery and at PICU affects intestinal perfusion and therefore influences IFABP and TFF3. We also demonstrated significant correlations between IFABP/TFF3 and VIS-score, although the VIS-score was not independently associated with higher TI-scores. This contrasts with studies by Typpo (11) and Watson (12), likely due to our institution's restrictive use of vasopressin and epinephrine. Both agents are known to impair splanchnic perfusion more severely than other catecholamines (37–42). This suggests that institutional vasoactive practices may influence biomarker expression and thus need to be accounted for in future multicenter studies.

4.4 Differences in cardiac defects

Subgroup analysis revealed that both TFF3 and TI-score distinguished between children with and without shunt-dependent lung or body perfusion. Children with complex CHD requiring shunts showed significantly higher biomarker levels preoperatively, with broader interindividual variability. This underscores the physiological heterogeneity in this patient population and suggests that biomarkers like TFF3 may aid in stratifying risk even before surgery. However the above mentioned lower GFR in shunt-dependent lesions may elevate circulating TFF3 due to reduced clearance, limiting subgroup (shunt vs. no shunt) interpretation. We were not able to show differences between ductal dependent systemic and pulmonary circulation. Nevertheless this aspect should be further analysed in studies with larger cohorts. Patients with ductal

dependent systemic circulation might be at a higher risk for gastrointestinal complication. The lack of significant differences in our cohort could also be confounded by the small number of patients. TFF3 and TI-Score were also able to discriminate between low risk (STAT 1&2) and high risk (STAT 4&5) surgical procedures. The small subgroups of STAT categories haven't to be taken into account here, when comparing these findings with our studies. It must be noted that TFF3 is not specific to intestinal epithelium. It is also expressed in the respiratory tract (43), and higher levels in shunt-dependent CHD may partly reflect pulmonary epithelial injury due to volume overload. Current ELISA assays do not differentiate the source of TFF3, highlighting the need for more specific assays in future studies.

5 Conclusion

IFABP and TFF3 are promising, mechanistically grounded biomarkers that reflect intestinal injury and repair following cardiac surgery in children with CHD. The TI-score, particularly at 12 h post-surgery, offers valuable prognostic information for clinical outcomes, including duration of mechanical ventilation and time to full enteral nutrition. Future studies should explore the integration of these biomarkers into perioperative care protocols and assess their utility in guiding nutritional and hemodynamic management in this high-risk population.

6 Limitations

Our study has several limitations. As a single-centre trial, generalizability is restricted. The cohort heterogeneity in terms of cardiac defects resulted in small subgroup sizes, limiting statistical power. We evaluated biomarker levels as surrogate for intestinal injury, while not assessing for actual histological changes or intestinal epithelial damage. Even though age was not independently associated with progress in enteral nutrition or biomarker levels, the wide range of age in our study cohort still makes it a potential confounder of our results. The age of our data-set (2015–2017) limits the transferability especially as fast-track procedures have increased until today. The absence of a standardized feeding protocol in the ICU introduces variability in outcome assessment. We were not able to account for all clinical factors influencing the decision making process in enteral feeding (such as the general clinical impression of the patient as well as personal work habits and experience of the physicians and nursing staff) hence these could confound our results. The fact that we were not able to correct the urinary biomarker levels for urine creatinine concentration limits the validity of the urinary biomarker analysis. Especially as impaired renal clearance can result in increased circulating biomarkers like TFF3. Finally, limited blood volume in pediatric patients constrained the availability of samples for repeated measurements and dilutions.

Data availability statement

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

Ethics statement

The studies involving humans were approved by The ethics committee of the University of Bonn approved the study (application number 375/13). The studies were conducted in accordance with the local legislation and institutional requirements. Written informed consent for participation in this study was provided by the participants' legal guardians/next of kin.

Author contributions

NB: Conceptualization, Formal analysis, Investigation, Writing – original draft. NF: Formal analysis, Writing – review & editing. SB: Investigation, Writing – review & editing. TK: Writing – review & editing. JB: Conceptualization, Writing – review & editing. NM: Conceptualization, Investigation, Writing – original draft.

Funding

The author(s) declare financial support was received for the research and/or publication of this article. This study was partially funded by the KinderHerz Innovationspreis NRW 2018 (funding number unknown).

References

1. Kalfa D, Charpentier A, Dragulescu A. Ischaemic intestinal disease in neonates with congenital heart defects: the timing of cardiac surgery does matter. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* (2010) 95(1):F75–76. doi: 10.1136/adc.2009.162719
2. Kessler U, Hau E, Kordasz M, Haefeli S, Tsai C. Congenital heart disease increases mortality in neonates with necrotizing enterocolitis. *Front Pediatr.* (2018) 6:1–6. doi: 10.3389/fped.2018.00312
3. Jeffries HE, Wells WJ, Starnes VA, Wetzel RC, Moromisato DY, Anesthesiology D, et al. Gastrointestinal morbidity after norwood palliation for hypoplastic left heart syndrome. *Ann Thorac Surg.* (2006) 81(3):982–7. doi: 10.1016/j.athoracsur.2005.09.001
4. Tsunooka N, Hamada Y, Imagawa H, Nakamura Y, Shiozaki T, Suzuki H, et al. Ischemia of the intestinal mucosa during cardiopulmonary bypass. *J Artif Organs.* (2003) 6(2):149–51. doi: 10.1007/s10047-003-0211-2
5. Dong GH, Wang CT, Li Y, Xu B, Qian JJ, Wu HW, et al. Cardiopulmonary bypass induced microcirculatory injury of the small bowel in rats. *World J Gastroenterol.* (2009) 15(25):3166–72. doi: 10.3748/wjg.15.3166
6. Pelsers MMAL, Namiot Z, Kisielewski W, Namiot A, Januszkiewicz M, Hermens WT, et al. Intestinal-type and liver-type fatty acid-binding protein in the intestine. Tissue distribution and clinical utility. *Clin Biochem.* (2003) 36(7):529–35. doi: 10.1016/S0009-9120(03)00096-1
7. Peters WHM, Roelofs AEMJ, Wigmore AESJ. Liver manipulation causes hepatocyte injury and precedes systemic inflammation in patients

Acknowledgments

The authors would like to thank the nursing team of the pediatric cardiac intensive care unit for their support. We also acknowledge the assistance of Prof. Dr. Stefan Holdenrieder and his team at the liquid biopsy biobank as well as Nikolai Trimpop and Makubule Kobilya.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted without any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Generative AI statement

The author(s) declare that no Generative AI was used in the creation of this manuscript.

Any alternative text (alt text) provided alongside figures in this article has been generated by Frontiers with the support of artificial intelligence and reasonable efforts have been made to ensure accuracy, including review by the authors wherever possible. If you identify any issues, please contact us.

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.

undergoing liver resection. *World J Surg.* (2007) 31(10):2033–8. doi: 10.1007/s00268-007-9182-4

8. Guthmann F, Borchers T, Wolfrum C, Wustrack T, Bartholomäus S, Spener F. Plasma concentration of intestinal- and liver-FABP in neonates suffering from necrotizing enterocolitis and in healthy preterm neonates. *Mol Cell Biochem.* (2002) 239(1–2):227–34. doi: 10.1023/A:1020508420058

9. Derikx JPM, Evennett NJ, Degraeuwe PLJ, Mulder TL, van Bijnen AA, van Heurn LW, et al. Urine based detection of intestinal mucosal cell damage in neonates with suspected necrotizing enterocolitis. *Gut.* (2007) 56(10):1472–3. doi: 10.1136/gut.2007.128934

10. Coufal S, Kokesova A, Tlaskalova-Hogenova H, Snajdauf J, Rygl M, Kverka M. Urinary intestinal fatty acid-binding protein can distinguish necrotizing enterocolitis from sepsis in early stage of the disease. *J Immunol Res.* (2016) 2016:5727312. doi: 10.1155/2016/5727312

11. Typpo KV, Larmonier CB, Deschenes J, Redford D, Kiela PR, Ghishan FK. Clinical characteristics associated with postoperative intestinal epithelial barrier dysfunction in children with congenital heart disease. *Pediatr Crit Care Med.* (2015) 16(1):37–44. doi: 10.1097/PCC.0000000000000256

12. Watson JD, Urban TT, Tong SS, Zenge J, Khailova L, Wischmeyer PE, et al. Immediate post-operative enterocyte injury, as determined by increased circulating intestinal fatty acid binding protein, is associated with subsequent development of necrotizing enterocolitis after infant

- cardiothoracic surgery. *Front Pediatr.* (2020) 8:267. doi: 10.3389/fped.2020.00267
13. Pathan N, Burmester M, Adamovic T, Berk M, Ng KW, Betts H, et al. Intestinal injury and endotoxemia in children undergoing surgery for congenital heart disease. *Am J Respir Crit Care Med.* (2011) 184:1261–9. doi: 10.1164/rccm.201104-0715OC
 14. Schellekens DHSM, Grootjans J, Dello SAWG, Van Bijnen AA, Van Dam RM, Dejong CHC, et al. Plasma intestinal fatty acid-binding protein levels correlate with morphologic epithelial intestinal damage in a human translational ischemia-reperfusion model. *J Clin Gastroenterol.* (2014) 48(3):253–60. doi: 10.1097/MCG.0b013e3182a87e3e
 15. Heida FH, Hulscher JBF, Schurink M, Timmer A, Kooi EMW, Bos AF, et al. Intestinal fatty acid-binding protein levels in necrotizing enterocolitis correlate with extent of necrotic bowel: results from a multicenter study. *J Pediatr Surg.* (2015) 50(7):1115–8. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2014.11.037
 16. Vieten D, Corfield A, Carroll D, Ramani P, Spicer R. Impaired mucosal regeneration in neonatal necrotizing enterocolitis. *Pediatr Surg Int.* (2005) 21(3):153–60. doi: 10.1007/s00383-004-1312-6
 17. Taupin D, Podolsky DK. Trefoil factors: initiators of mucosal healing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* (2003) 4(9):721–32. doi: 10.1038/nrm1203
 18. Samson M. Quantitative measurements of trefoil factor family peptides: possibilities and pitfalls. *Scand J Clin Lab Invest.* (2013) 73(3):193–202. doi: 10.3109/00365513.2013.765962
 19. Xu L, Teng X, Guo J, Sun M. Protective effect of intestinal trefoil factor on injury of intestinal epithelial tight junction induced by platelet activating factor. *Inflammation.* (2012) 35(1):308–15. doi: 10.1007/s10753-011-9320-x
 20. Floh AA, Slicker J, Schwartz SM. Nutrition and mesenteric issues in pediatric cardiac critical care. *Pediatr Crit Care Med.* (2016) 17(8):S243–9. doi: 10.1097/PCC.0000000000000801
 21. Giannone PJ, Luce WA, Nankervis CA, Hoffman TM, Wold LE. Necrotizing enterocolitis in neonates with congenital heart disease. *Life Sci.* (2008) 82:341–7. doi: 10.1016/j.lfs.2007.09.036
 22. Gaies MG, Gurney JG, Yen AH, Napoli ML, Gajarski RJ, Ohye RG, et al. Vasoactive-inotropic score as a predictor of morbidity and mortality in infants after cardiopulmonary bypass*. *Pediatr Crit Care Med.* (2010) 11(2):234–8. doi: 10.1097/PCC.0b013e3181b806f1c
 23. Derikx JPM, van Waardenburg DA, Thuijls G, Willigers HM, Koenraads M, van Bijnen AA, et al. New insight in loss of gut barrier during major non-abdominal surgery. *PLoS One.* (2008) 3(12):e3954. doi: 10.1371/journal.pone.0003954
 24. Cheng S, Yu J, Zhou M, Tu Y, Lu Q. Serologic intestinal-fatty acid binding protein in necrotizing enterocolitis diagnosis: a meta-analysis. *Biomed Res Int.* (2015) 2015:1–8. doi: 10.1155/2015/156704
 25. Müller N, Rothkegel ST, Boerter N, Sumaria K, Breuer J, Freudenthal NJ. Perioperative urinary NT-ProBNP values and their usefulness as diagnostic and prognostic markers in children with congenital heart disease. *Clin Chim Acta.* (2021) 518:28–32. doi: 10.1016/j.cca.2021.03.005
 26. Derikx JPM, Matthijssen RA, de Bruïne AP, van Bijnen AA, Heineman E, van Dam RM, et al. Rapid reversal of human intestinal ischemia-reperfusion induced damage by shedding of injured enterocytes and reepithelialisation. *PLoS One.* (2008) 3(10):e3428. doi: 10.1371/journal.pone.0003428
 27. Mohankumar K, Killingsworth CR, Britt McIlwain R, Timpa JG, Jagadeeswaran R, Namachivayam K, et al. Intestinal epithelial apoptosis initiates gut mucosal injury during extracorporeal membrane oxygenation in the newborn piglet. *Lab Invest.* (2014) 94(2):150–60. doi: 10.1038/labinvest.2013.149
 28. Salomon JD, Qiu H, Feng D, Owens J, Khailova L, Lujan SO, et al. Piglet cardiopulmonary bypass induces intestinal dysbiosis and barrier dysfunction associated with systemic inflammation. *Dis Model Mech.* (2023) 16(5):dmm049742. doi: 10.1242/dmm.049742
 29. Chen J, Yan Z, Lin Z, Fan Y, Bao X, Chen X, et al. I-FABP protein/mRNA and IL-6 as biomarkers of intestinal barrier dysfunction in neonates with necrotizing enterocolitis and SPF BALB/c mouse models. *J Int Med Res.* (2024) 52(6):03000605241254788. doi: 10.1177/03000605241254788
 30. Ali EA, Syed A, Khailova L, Iguidbashian JP, Suarez-Pierre A, Klawitter J, et al. Novel biomarkers of necrotizing enterocolitis in neonates undergoing congenital heart disease surgery: a pilot cohort study. *J Am Heart Assoc.* (2023) 12(15):10–2. doi: 10.1161/JAHA.123.030712
 31. Owens J, Qiu H, Knoblich C, Gerjevic L, Izard J, Xu L, et al. Feeding intolerance after pediatric cardiac surgery is associated with dysbiosis, barrier dysfunction, and reduced short-chain fatty acids. *Am J Physiol—Gastrointest Liver Physiol.* (2024) 327(5):G685–96. doi: 10.1152/ajpgi.00151.2024
 32. Kanda T, Tsukahara A, Ueki K, Sakai Y, Tani T, Nishimura A, et al. Diagnosis of ischemic small bowel disease by measurement of serum intestinal fatty acid-binding protein in patients with acute abdomen: a multicenter, observer-blinded validation study. *J Gastroenterol.* (2011) 46(4):492–500. doi: 10.1007/s00535-011-0373-2
 33. Sands BE, Podolsky DK. The trefoil peptide family. *Annu Rev Physiol.* (1996) 58:253–73. doi: 10.1146/annurev.ph.58.030196.001345
 34. Coufal S, Kokesova A, Tlaskalova-Hogenova H, Frybova B, Snajdauf J, Rygl M, et al. Urinary I-FABP, L-FABP, TFF-3, and SAA can diagnose and predict the disease course in necrotizing enterocolitis at the early stage of disease. *J Immunol Res.* (2020) 2020:3074313. doi: 10.1155/2020/3074313
 35. Slicker J, Sables-Baus S, Lambert LM, Peterson LE, Woodard FK, Ocampo EC. Perioperative feeding approaches in single ventricle infants: a survey of 46 centers. *Congenit Heart Dis.* (2016) 11(6):707–15. doi: 10.1111/chd.12390
 36. Tume L, Carter B, Latten L. A UK and Irish survey of enteral nutrition practices in paediatric intensive care units. *Br J Nutr.* (2013) 109(7):1304–22. doi: 10.1017/S0007114512003042
 37. Nygren A, Thorén A, Ricksten SE. Vasopressin decreases intestinal mucosal perfusion: a clinical study on cardiac surgery patients in vasodilatory shock. *Acta Anaesthesiol Scand.* (2009) 53(5):581–8. doi: 10.1111/j.1399-6576.2008.01900.x
 38. Martikainen TJ, Tenhunen JJ, Giovannini I, Uusaro A, Ruokonen E. Epinephrine induces tissue perfusion deficit in porcine endotoxin shock: evaluation by regional CO₂ content gradients and lactate-to-pyruvate ratios. *Am J Physiol—Gastrointest Liver Physiol.* (2005) 288(3):586–92. doi: 10.1152/ajpgi.00378.2004
 39. Levy B, Perez P, Perny J, Thivilier C, Gerard A. Comparison of norepinephrine-dobutamine to epinephrine for hemodynamics, lactate metabolism, and organ function variables in cardiogenic shock. A prospective, randomized pilot study. *Crit Care Med.* (2011) 39(3):450–5. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181ffe0eb
 40. Woolsey CA, Coopersmith CM. Vasoactive drugs and the gut: is there anything new? *Curr Opin Crit Care.* (2006) 12(2):155–9. doi: 10.1097/01.ccx.0000216584.72427.e4
 41. Zhang W, Shibamoto T, Kuda Y, Shinomiya S, Kurata Y. The responses of the hepatic and splanchnic vascular beds to vasopressin in rats. *Biomed Res.* (2012) 33(2):83–8. doi: 10.2220/biomedres.33.83
 42. Krejci V, Hildebrand LB, Sigurdsson GH. Effects of epinephrine, norepinephrine, and phenylephrine on microcirculatory blood flow in the gastrointestinal tract in sepsis. *Crit Care Med.* (2006) 34(5):1456–63. doi: 10.1097/01.CCM.0000215834.48023.57
 43. Madsen J, Nielsen O, Tornøe I, Thim L, Holmskov U. Tissue localization of human trefoil factors 1, 2, and 3. *J Histochem Cytochem.* (2007) 55(5):505–13. doi: 10.1369/jhc.6A7100.2007