

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Einfluss der lungenprotektiven Wirkung von Resveratrol
im Rahmen eines induzierten akuten Lungenversagens
im Großtiermodell**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Louisa Kirchner
aus Mainz

Mainz, 2025

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. Philipp Drees

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Alexander Tobias Ziebart

2. Gutachter: PD Dr. med. habil. Dr. med. dent. Daniel Thiem

Tag der Promotion: 05. Juni 2026

Nachnutzungslizenz: Namensnennung, keine Bearbeitungen (CC-BY-ND-4.0)

Inhaltsverzeichnis

I. Verzeichnis über Abbildungen und Tabellen	4
II. Abkürzungsverzeichnis	6
1. Ziel der Dissertation	9
2. Einleitung.....	10
2.1. Acute Respiratory Distress Syndrome	10
2.1.1. Ätiologie & Definition.....	10
2.1.2. Epidemiologie & Risikofaktoren	13
2.1.3. Pathophysiologie	14
2.1.4. Therapie.....	20
2.2. ARDS und COVID-19	23
2.3. Zytokine und Inflammation	25
2.3.1. Interleukin-6-Gruppe.....	25
2.3.2. Tumornekrosefaktor-alpha.....	26
2.4. Das Polyphenolderivat Resveratrol	27
3. Material und Methoden	30
3.1. Materialliste.....	30
3.1.1. Geräte	30
3.1.2. Medikamente	30
3.1.3. Verbrauchsmaterial.....	31
3.1.4. Software.....	32
3.2. Versuchsaufbau und -ablauf.....	33
3.2.1. Versuchstiere	33
3.2.2. Versuchsvorbereitung.....	33
3.2.3. ARDS-Induktion.....	36
3.2.4. Intervention.....	38
3.2.5. Versuchsende und Organentnahme	39
3.3. Molekularbiologische Untersuchung.....	40
3.4. Histologische Untersuchung	40
3.5. Statistische Analyse	42

4. Ergebnisse	43
4.1. Vitalparameter	44
4.2. Katecholaminlaufrate	47
4.3. Beatmungsparameter	48
4.4. Blutgasanalyse und Blutwerte.....	51
4.5. Molekularbiologische Parameter.....	56
4.5.1. Interleukin-6	56
4.5.2. TNF- α	58
4.6. Wet-to-dry Ratio	60
4.7. Histologische Schnitte	61
5. Diskussion.....	63
5.1. Wertung der Methodik	63
5.1.1. Tiermodelle.....	63
5.1.2. Induktion des ARDS	64
5.1.3. Histologische Auswertung	66
5.2. Diskussion der Ergebnisse.....	67
5.3. Schlussfolgerung	73
6. Literaturverzeichnis	74
7. Danksagung	78
8. Lebenslauf.....	79

I. Verzeichnis über Abbildungen und Tabellen

Abbildungen:

Abbildung 1: Schweregrad und Sterblichkeit des ARDS	12
Abbildung 2: „Teufelskreis“	16
Abbildung 3: Schematische Darstellung der pathophysiologischen Abläufe des ARDS	18
Abbildung 4: Strukturformel trans-Resveratrol	27
Abbildung 5: Ungleichgewicht von reaktiven Sauerstoffspezies zu Antioxidantien	29
Abbildung 6: Bestückung des Versuchstiers	35
Abbildung 7: Modifizierte schematische Darstellung der pathophysiologischen Abläufe des ARDS und der Mechanismen der Double-Hit Induktion	36
Abbildung 8: Elektrische Impedanztomographie	37
Abbildung 9: Versuchsablauf.....	38
Abbildung 10: Histomorphologische Pathologien.	41
Abbildung 11: Darstellung des Horovitz-Index.....	43
Abbildung 12: Vitalparameter	45
Abbildung 13: Darstellung der Laufrate der Katecholamine	47
Abbildung 14: Beatmungsparameter	49
Abbildung 15: Darstellung des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks	52
Abbildung 16: Darstellung des arteriellen Kohlendioxidpartialdrucks	52
Abbildung 17: Darstellung des C-reaktiven Proteins	54
Abbildung 18: Graphische Darstellung der mRNA-Expression von Interleukin-6 in der Lunge.....	56
Abbildung 19: Graphische Darstellung der mRNA-Expression von Interleukin-6 in der Niere	57
Abbildung 20: Graphische Darstellung der mRNA-Expression von TNF-alpha in der Lunge	58
Abbildung 21: Graphische Darstellung der mRNA-Expression von TNF-alpha in der Niere.....	59
Abbildung 22: Graphische Darstellung der Wet-to-dry-Ratio.....	60
Abbildung 23: Graphische Darstellung des histologischen Lungenschadensscore im rechten dorsalen Unterlappen	61

Abbildung 24: Graphische Darstellung des histologischen Lungenschadensscore im rechten ventralen Unterlappen.	62
---	-----------

Tabellen:

Tabelle 1: Berlin Definition des ARDS.	11
Tabelle 2: Ätiologie des ARDS	12
Tabelle 3: Phasen des ARDS.....	19
Tabelle 4: ARDS-Network-Tabelle	21
Tabelle 5: Zeitpunkte und Messungen in der Nachbeobachtungszeit	39
Tabelle 6: Vitalparameter.	46
Tabelle 7: Beatmungsparameter.....	48
Tabelle 8: Blutgasanalyse.....	53
Tabelle 9: Laborchemisch bestimmte Blutwerte.	54

II. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
AKI	Acute kidney injury
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
BAL	bronchoalveoläre Lavage
BE	Base excess
BGA	Blutgasanalyse
CLC	Cardiotrophin-Like Cytokine
cm H ₂ O	Zentimeter Wassersäule
CNTF	Ciliary neurotrophic factor
CO	cardiac output
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CT-1	Cardiotrophin 1
CPAP	continuous positive airway pressure
DNA	deoxyribonucleic acid
E. coli	Escherichia coli
ECMO	extrakorporale Membranoxygenierung
EIT	elektrische Impedanztomographie
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
etCO ₂	Endtidales Kohlenstoffdioxid
EVLWI	enddiastolischer Lungenwasserindex
FiO ₂	Inspiratorische Sauerstoffkonzentration
Fr	French
FRC	funktionelle Residualkapazität
GEDVI	globaler enddiastolischer Volumenindex
gp130	Glykoprotein 130
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
i.m.	Intramuskulär
i.v.	Intravenös
IL	Interleukin
IL-6	Interleukin-6

IL-8	Interleutkin-8
kg	Kilogramm
l/min	Liter pro Minute
LIF	Leukemia inhibitory factor
LPS	Lipopolysaccharid
MAD	Mittlerer arterieller Druck
mbar	Millibar
NO	Stickstoffmonoxid
µg/kgKG	Mikrogramm pro Kilogramm Körpergewicht
mg/kgKG	Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
mPAP	mittlerer pulmonalarterieller Druck
NIV	Nicht-invasive Ventilation
nm	Nanometer
OSM	Oncostatin M
paO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
paCO ₂	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PA-Katheter	Pulmonalis-Katheter
PCWP	Lungenkapillarenverschlussdruck
PiCCO	Pulse Contour Cardiac Output Systems
PEEP	Positiver Endexpiratorischer Druck
PPIA	Peptidylprolyl Isomerase A
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
rt-PCR	real-time Polymerase-Kettenreaktion
SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
ScO ₂	zerebrale Sauerstoffsättigung
SIRS	systemic inflammatory response-Syndrom
TNF-α	Tumornekrosefaktor-alpha
TRALI	transfusionsassoziiierter Lungeninsuffizienz
VILI	ventilator-induced lung injury
WHO	World Health Organization
z.B.	zum Beispiel

ZVD

Zentraler Venendruck

ZVK

Zentralvenöser Katheter

1. Ziel der Dissertation

Im Bereich der Intensivmedizin hat die Behandlung von Patienten mit einem akuten Lungenversagen (auch „Acute Respiratory Distress Syndrome“ oder „ARDS“) einen besonderen Stellenwert. Dies liegt insbesondere an der hohen Letalität der Erkrankung, die für ein schweres ARDS 40% bis 60% beträgt (1). Der Pathomechanismus ist stark assoziiert mit inflammatorischen Vorgängen der Lunge (2). Dies bedingt unter anderem eine erhöhte Permeabilität des alveolären Endothels und Epithels, was zu einem alveolärem und interstitiellem Ödem führt (3). Negative Auswirkungen haben außerdem degenerative Prozesse in den Alveolen und Folgen des entstandenen Ödems, zu denen eine Verminderung des Surfactants, eine Rechtsherzbelastung und eine mechanische Belastung der Lunge durch die inhomogene Belüftung zählen.

Der bisherige Therapieansatz umfasst lungenprotektive Beatmungsstrategien, sowie supportive Maßnahmen. Aus der hohen Letalität und der Notwendigkeit der Beeinflussung der inflammatorischen Komponente erschließt sich die Wichtigkeit weiterer Forschungsbemühungen.

Im Fokus dieser Forschung steht das Polyphenolderivat Resveratrol, welches erstmals in den 1990er Jahren im Rahmen der „French-Paradox“-Studie bekannt wurde (4) und seitdem Gegenstand der Forschung ist. Es konnte ein ausgeprägter anti-inflammatorischer, anti-proliferativer, anti-fibrotischer und kardioprotektiver Effekt nachgewiesen werden (4). Dies könnte sich vor allem günstig auf die beschriebenen pathophysiologischen Veränderungen im ARDS auswirken.

Das Ziel dieser Dissertation ist es, zu untersuchen, ob die intravenöse Gabe von Resveratrol nach einem experimentell induzierten akuten Lungenversagen im Schweinemodell einen signifikanten Einfluss auf die pulmonale Inflammationskaskade hat.

2. Einleitung

2.1. Acute Respiratory Distress Syndrome

Das Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) ist ein Krankheitsbild mit vielfältigen Ursachen. Kennzeichnend für das ARDS sind die Ausbildung eines diffusen Alveolarschadens mit nachfolgendem nicht-kardialen Lungenödem und einer akuten respiratorischen Insuffizienz.

Beim ARDS handelt es sich nicht um ein alleinstehendes Krankheitsbild, sondern um einen Symptomkomplex, der durch das gleichzeitige Auftreten verschiedener organübergreifender Symptome gekennzeichnet ist.

Hierbei kann es sich originär um intrapulmonale Lungenschäden handeln, aber auch systemische Grunderkrankungen, wie eine Sepsis oder metabolische Entgleisungen, können ein ARDS hervorrufen. Das Zusammenspiel dieser verschiedenen pathophysiologischen Vorgänge kann zu einer akuten Verschlechterung der Patienten führen, die je nach Schweregrad eine respiratorische Globalinsuffizienz und somit einen akut lebensbedrohlichen Krankheitsverlauf bedingen kann.

2.1.1. Ätiologie & Definition

Das Syndrom des akuten Lungenversagens, auch Acute Respiratory Distress Syndrome, wurde erstmals 1967 von dem Chirurgen David G. Ashbaugh und Kollegen beschrieben. Hierbei wurden Symptome wie eine schwere Dyspnoe, Tachypnoe, therapieresistente Zyanose, verminderte Lungencompliance und ein diffuses Lungeninfiltrat zu der Syndrombeschreibung des „acute respiratory distress in adults“ zusammengefasst (5). Diese Symptome sind in der aktuell gültigen Berlin Definition des ARDS von 2012 beinhaltet. Basierend auf klinischen und radiologischen Befunden und atemmechanischen Parametern kann hierdurch ein ARDS definiert und von anderen Formen des Lungenversagens, beispielsweise Lungenembolien, Pneumonien oder transfusionsassoziierter Lungeninsuffizienz (TRALI), abgegrenzt werden.

Tabelle 1: Berlin Definition des ARDS. Entnommen und modifiziert aus der S3-Leitlinie „Invasive Beatmung und Einsatz extrakorporaler Verfahren bei akuter respiratorischer Insuffizienz“ der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie & Intensivmedizin, Seite 12

BERLIN DEFINITION NACH DER ARDS DEFINITION TASKFORCE

Klinischer Befund	Akuter Beginn innerhalb einer Woche nach dem auslösenden Ereignis oder neu aufgetretene oder sich verschlechternde respiratorische Symptome
Radiologischer Befund	Beidseitige diffuse Infiltrate in der bildgebenden Diagnostik
Differential-Diagnostik	- Radiologischer Befund kann nicht durch Erguss/Atelektase/Raumforderung erklärt werden - Lungenversagen und -ödem können nicht durch eine kardiale Ursache oder Volumenüberladung erklärt werden
Atemmechanische Parameter	Horovitz-Quotient ≤ 300 mmHg bei einem PEEP/CPAP ≥ 5 cm H ₂ O → Hierüber erfolgt die Einteilung nach dem Schweregrad
Schweregrad <i>Voraussetzung:</i> PEEP/CPAP ≥ 5 cm H ₂ O	Mild: Horovitz-Quotient: 201 – 300 mmHg Moderat: Horovitz-Quotient: 101 – 200 mmHg Schwer: Horovitz-Quotient: ≤ 100 mmHg

Die Einteilung des Schweregrads des ARDS erfolgt anhand des errechneten Horovitz-Index der Patienten (Abb. 1). Hierbei setzt man den arteriellen Sauerstoffpartialdruck in Bezug zur inspiratorischen Sauerstofffraktion, woraus sich folgende Formel ergibt: $\frac{p_aO_2}{F_iO_2}$. Durch den Bezug des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks zur inspiratorischen Sauerstofffraktion kann das Ausmaß einer Oxygenierungsstörung quantifiziert werden. Die physiologischen Werte liegen zwischen 350 – 500 Millimeter-Quecksilbersäule (mmHg). Anhand der Schweregradeinteilung des Syndroms kann eine Prognoseabschätzung getroffen werden.

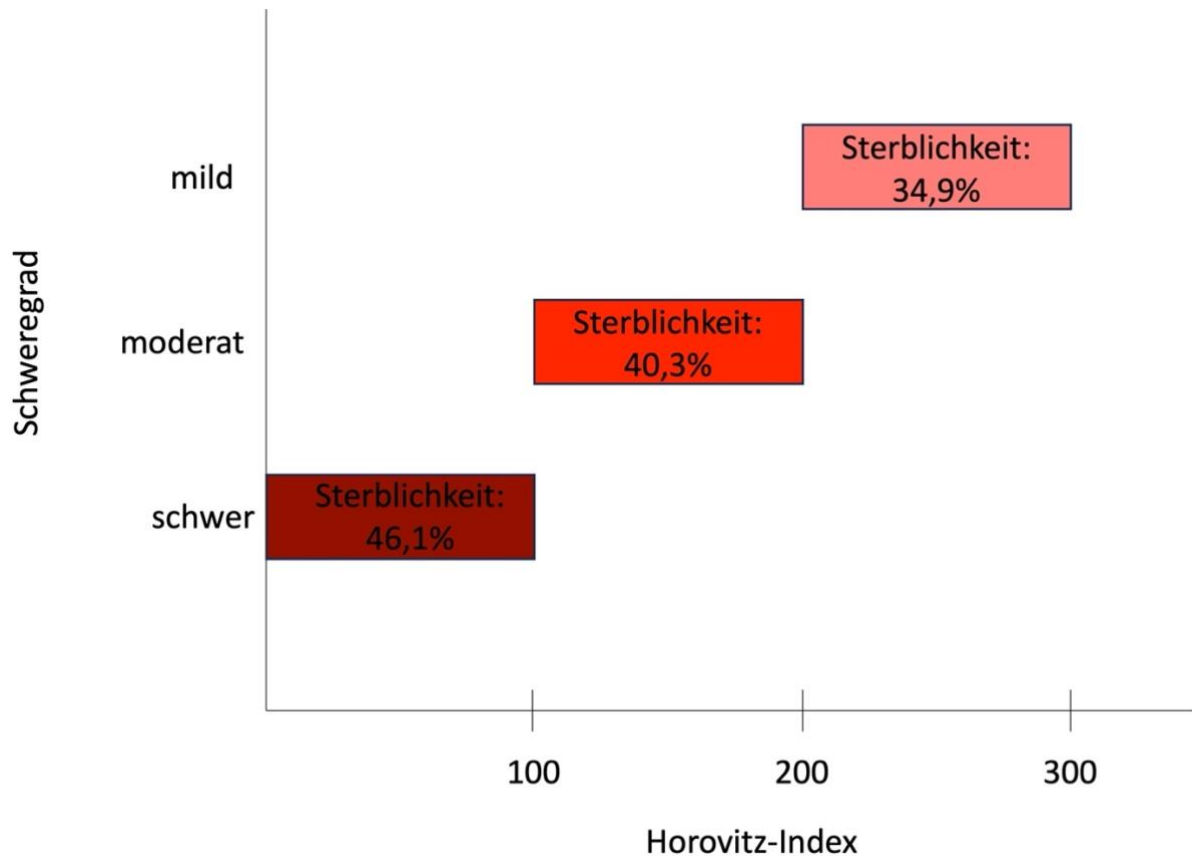


Abbildung 1: Schweregrad und Sterblichkeit des ARDS. Definition nach S3-Leitlinie „Invasive Beatmung und Einsatz extrakorporaler Verfahren bei akuter respiratorischer Insuffizienz“ (6) Seite 12; Sterblichkeit nach LUNG-SAFE von Bellani et al. (2)

Bei dem Syndrom des akuten Lungenversagens lassen sich verschiedene Ursachen abgrenzen. Man kann diese in eine pulmonale und eine systemische Ätiologie unterteilen, wobei einzelne Ursachen teilweise nicht eindeutig zuzuordnen sind.

Tabelle 2: Ätiologie des ARDS: modifiziert nach Reske et al. (7)

Pulmonale (direkte) Ursachen	Systemische (indirekte) Ursachen
– Bakterielle/virale/mykotische Infektion – Chemische Noxen (z.B. durch Aspiration) – Lungenembolie – Inhalationstrauma – Mechanische Schäden (z.B. Lungenkontusion)	– Sepsis – Schock – Schädel-Hirn-Trauma – Polytrauma – Metabolische Entgleisungen – Disseminierte intravasale Gerinnung – COVID-19

COVID-19 nimmt hierbei einen besonderen Stellenwert ein. Einerseits zählt die Erkrankung aufgrund der durch den Erreger severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2) ausgelösten Pneumonie zu den direkten Ursachen, andererseits führt die virale Infektion zu systemischen Pathologien, wie einer Inflammation, sowie einer Schädigung des Gefäßendothels und daraus entstehende thromboembolische Ereignisse. Diese zählen zu den indirekten Ursachen eines ARDS.

2.1.2. Epidemiologie & Risikofaktoren

Zur klinischen Einordnung der Relevanz des ARDS betrachtete die bisher größte prospektive Kohortenstudie „Global Impact of Severe Acute Respiratory Failure (LUNG SAFE) study“ von Bellani et al. im Jahr 2014 459 verschiedene Kliniken und dokumentierte die Inzidenz des Syndroms auf den Intensivstationen. Der Beobachtungszeitraum betrug hierbei 4 Wochen und es wurden Kliniken aus 50 verschiedenen Ländern über 5 Kontinente verteilt einbezogen (2). Von den 29.144 beurteilten Patienten erfüllten 10,4% die ARDS-Kriterien nach der oben beschriebenen Berlin Definition. Unter den beatmeten intensivpflichtigen Patienten lag der Anteil bei 23,4%.

Anhand der Studie ließen sich verschiedene Risikofaktoren identifizieren. Den größten Stellenwert nahmen hierbei Pneumonien ein, die bei 59,4% der untersuchten Patienten festgestellt wurden. Weitere wichtige Risikofaktoren stellen die Sepsis extrapulmonaler Genese (16%) und Aspirationen (14,2%) dar. Außerdem wurden nicht-kardiogene Schockzustände, Rauchgasinhalationen, Traumen, Bluttransfusionen, Lungenkontusionen, Medikamentenüberdosierungen, Verbrennungen und Ertrinken als Risikofaktoren identifiziert (2). Viele der eingeschlossenen Patienten hatten außerdem chronische Erkrankungen wie COPD (21,7%), Diabetes (21,7%) oder eine Immundefizienz (12,1%) (2).

Je nach Schweregrad ließ sich eine Sterblichkeit von 34,9% beim leichten ARDS, von 40,3% beim mittelschweren ARDS und von 46,1% beim schweren ARDS ermitteln (2) (siehe Abb. 1). Die Daten aus dieser Studie zeigen, dass das Syndrom mit einer hohen Sterblichkeit und einer hohen Inzidenz bei beatmeten Patienten einhergeht. Allerdings hatten viele eingeschlossene Patienten Komorbiditäten wie Malignome und/oder waren immunsupprimiert (8). Diese Faktoren könnten die Sterblichkeit beeinflusst haben, wodurch unklar ist, wie hoch diese auf das Krankheitsbild des ARDS bezogen

tatsächlich ist. Aus der LUNG SAFE-Studie geht außerdem hervor, dass nur 51% der Patienten und Patientinnen mit mildem ARDS und 79% der Patienten mit schwergradigem ARDS diagnostiziert wurden. Darüber hinaus wurden weniger als zwei Drittel der Patienten mit dem optimalen Atemzugvolumen beatmet (2).

Zur Einordnung des Outcomes der überlebenden Patienten fand im Rahmen der Studie von Angus et al. eine einjährige Nachbeobachtung der eingeschlossenen Patienten statt. Die hier beobachteten Patienten waren vor ihrer Erkrankung gesund oder hatten wenig relevante Komorbiditäten. Patienten mit schwerer Sepsis oder anderen schweren nicht-pulmonalen Grunderkrankungen wurden ausgeschlossen. Als operationalisierende Instrumente wurden Messungen der Lungenfunktion, sowie die Bewertung der Lebensqualität mittels der Quality of Well-Being Scale genutzt. Hierbei wurde festgestellt, dass die Patienten ein schlechtes qualitätsbereinigtes Überleben hatten, was mit einer erheblichen Krankheitslast einherging (9). Die spezifischen Ursachen für diese Folgen bleiben in den oben genannten Studien unklar. Alle oben beschriebenen Parameter verdeutlichen, dass das Syndrom des akuten Lungenversagens ein unzureichend behandeltes und erforschtes Krankheitsbild ist. Sowohl die hohen Inzidenzen von Intensivpatienten, deren hohe Letalität, als auch die Langzeitfolgen, die sich bei den überlebenden Patienten zeigen, erfordern weitere Studien. Der bisherige Forschungsstand zeigt vor allem, dass es wichtig ist, das Syndrom früher zu erkennen und spezifischer zu behandeln.

2.1.3. Pathophysiologie

Der physiologische Gasaustausch in der Lunge findet über die alveolo-kapilläre Barriere statt. Hierbei handelt es sich um eine Einheit, die aus dem Alveolarepithel, der Basalmembran und dem Kapillarendothel besteht. Um einen suffizienten Gasaustausch gewährleisten zu können, ist es essenziell, dass diese Einheit einerseits eine sehr dünne, andererseits eine intakte Barriere darstellt. Das Alveolarepithel besteht aus flachen Typ-I-Pneumozyten, die durch spezielle Zell-Zell-Kontakte, wie Tight-junctions und Zonulae occludentes, eng verbunden sind und kaum einen parazellulären Transport zulassen. Um einen funktionierenden Gasaustausch zu gewährleisten, ist ein konstantes Gleichgewicht zwischen Diffusion und Barriere für Flüssigkeiten und Makromolekülen grundlegend. Neben dem beschriebenen Aufbau des Epithels ist das ausgeglichene Verhältnis zwischen interstitiellen onkotischen und intravaskulären hydrostatischen Drücken wichtig.

Das Alveolarepithel besteht aus wandbildenden Typ-I-Pneumozyten und kubischen Typ-II-Pneumozyten. Letztere bilden Surfactant und sind für die Proliferation und Regeneration der Typ-I-Pneumozyten zuständig. Surfactant ist eine Substanz, die zu 90% aus Lipiden besteht und immunologisch wirksame Proteine beinhaltet. Synonym wird er als Anti-Atelektase-Faktor bezeichnet. Da Alveolen mit einem Flüssigkeitsfilm bedeckt sind und Wasser eine große Oberflächenspannung hat, würden die Alveolen mit ihrer kleinen Oberfläche ohne den lipidreichen Surfactant kollabieren, also Atelektasen bilden.

Die beschriebenen direkten und indirekten Ursachen eines ARDS führen in der Lunge zu der Aktivierung verschiedener Signalwege, die die alveolo-kapilläre Einheit schädigen. Hierbei spielen vor allem neutrophile Granulozyten eine Rolle, die nach einer solchen Gewebsschädigung in den Kapillaren akkumulieren. Durch die zunehmende Akkumulation der Granulozyten kommt es zur Aktivierung von weiteren Immunzellen und zur Freisetzung verschiedener Mediatoren aus deren Zytoplasma. Hierzu gehören proinflammatorische und prokoagulatorische Zytokine, Chemokine, Sauerstoffradikale und Proteasen (7). Durch die Aktivierung der Granulozyten können diese Mediatoren aus den Blutgefäßen in die Alveolen migrieren (10). Dieser Effekt wird durch die Größenverhältnisse der Immunzellen und der Kapillaren zusätzlich verstärkt. Während eine Kapillare im alveolären Endstromgebiet circa 2 µm misst, sind Neutrophile Granulozyten mit 6-8 µm deutlich größer, was die Migration der Zellen in die Alveolen begünstigt (11). Die freigesetzten Mediatoren, wie die Zytokine Interleukin-1β (IL-1β), Tumornekrosefaktor (TNF) und IL-6, sowie Chemokine, wie IL-8 (10), wirken lokal auf die Kapillarendothelzellen und die Pneumozyten, die das Alveolarepithel bilden. Hierdurch entsteht eine gesteigerte Endothelpermeabilität, sowie eine Schädigung der Pneumozyten. Dieser Gewebedefekt führt zu einer kaskadenartig verstärkten Degranulation der akkumulierten Granulozyten. Durch die weitere Ausschüttung von Mediatoren kommt es zusätzlich zur lokalen Wirkung auf das Alveolarepithel zu einer systemischen Distribution und einer negativen Wirkung auf ferne Organsysteme. Die proinflammatorischen Botenstoffe interagieren mit anderen Organen und können über einen sogenannten „Crosstalk“ zu einer Leber- oder Niereninsuffizienz führen (Abb. 2). ARDS-Patienten haben ein deutlich erhöhtes Risiko eine akute Nierenschädigung (AKI) zu entwickeln (12). In einer Studie von Darmon et al. wurden 8029 Patienten untersucht, von denen 31,3% eine AKI entwickelten. Hierbei zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen der Entwicklung

des AKI bei Patienten mit ARDS (44,3%) und ohne (27,4%) (12). Dieser Nierenschädigung liegen mehrere Mechanismen zugrunde. Die Niere hat neben dem Herz den höchsten Sauerstoffverbrauch pro Gramm Gewebe, was sie empfindlich gegenüber Hypoxämien macht (13). Solche Zustände der Sauerstoffminderversorgung kommen im Rahmen eines ARDS vor. Zusätzlich schädigend wirkt sich eine Freisetzung proinflammatorischer Zytokine auf die Niere aus. Liu et al. konnten nachweisen, dass es einen direkten Zusammenhang zwischen erhöhten IL-6, Plasminogenaktivator-Inhibitor-1 und löslichem Tumornekrosefaktor-Rezeptor Typ I und II und dem Auftreten einer AKI gibt (14).

Wie oben beschrieben, gehören Organinsuffizienzen zu den extrapulmonalen Ursachen für ein ARDS. Dementsprechend kann ein solcher Crosstalk zu einer Verstärkung des bereits bestehenden ARDS führen. Die gegenseitige Verstärkung kann dann in einen sogenannten Circulus vitiosus münden (Abb. 2).

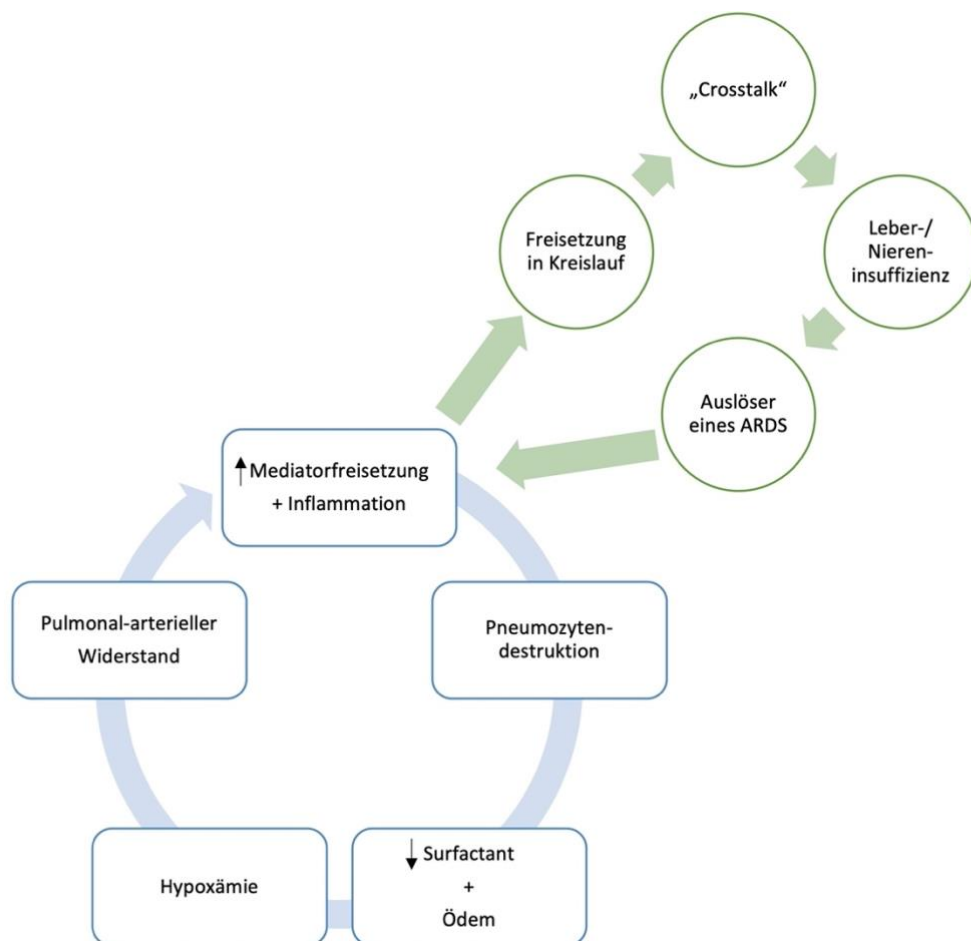


Abbildung 2: „Teufelskreis“ durch die Mediatorfreisetzung bei einem ARDS; blau stellt hierbei die pathophysiologischen Vorgänge dar, die lokal in der Lunge und auf Zellebene stattfinden. Grün dargestellt sind die systemischen Wirkungen der Mediatorfreisetzung auf Organebene.

Neben der vermehrten Degranulation der Immunzellen kommt es durch die Schädigung der Pneumozyten zu weiteren Effekten. Hierzu zählen eine defekte alveolo-kapilläre Barrierefunktion und eine gestörte Surfactant-Synthese (7) (Abb. 3). Die Barriere zwischen Kapillaren und Alveolen ist beim ARDS meist durch die Ursache des Syndroms bereits geschädigt, sodass es zu einer lokalen Permeabilitätserhöhung kommt. Durch die weitere Schädigung der Epithelzellen beidseits der Schranke wird dieser Effekt verstärkt. Es entwickelt sich ein proteinreiches interstitielles und alveoläres Ödem. Dies sorgt einerseits dafür, dass die Compliance der Lunge abnimmt, andererseits wird der Gasaustausch gestört. Zusätzlich führen die Plasmaproteine, die durch die Permeabilitätserhöhung in die Alveolen gelangen, zu einer Beeinträchtigung der Funktion des Surfactants (15). Dieser kann durch die geschädigten Pneumozyten nicht ausreichend nachgebildet werden. Der Mangel an Surfactant führt zum Kollabieren der kleinen Atemwege und somit zur Bildung von Atelektasen. Die Folge ist eine Konsolidierung der Lunge mit konsekutiver Belüftungsstörung. Es kommt zur Abnahme des endexpiratorischen Lungenvolumens und einem Verlust der Gasaustauschfläche (7). Dies führt zu einer systemischen Hypoxämie und Hyperkapnie. Durch die physiologische hypoxische pulmonale Vasokonstriktion kommt es in den minderbelüfteten Lungenbereichen zur Vasokonstriktion. Je nach Größe der minderbelüfteten Lungenareale, stellt dies eine massive pulmonal-arterielle Widerstandserhöhung dar, die eine Rechtsherzbelastung bedingt (Abb. 3).

Ein weiterer Mechanismus, der den Widerstand im Lungenkreislauf erhöht, ist die Bildung von Mikrothromben. Durch die, am Kapillarendothel ablaufende, Entzündungsreaktion werden Thrombozyten und die Gerinnungskaskade aktiviert. Die Thrombozyten setzen vasokonstriktorische Zytokine frei und reduzieren vasodilatatorisch wirksame Enzyme, wie das endotheliale Angiotensin Converting Enzyme (ACE) (10). Durch oben beschriebene Mechanismen fließt ein unphysiologisch großer Anteil des Herzzeitvolumens (HZV) durch minderbelüftete Lungenbereiche, wodurch kein ausreichender Gasaustausch stattfinden kann.

Dieses sogenannte Shuntvolumen setzt sich aus einem anatomischen und einem funktionellen Anteil zusammen. Anatomisch sind physiologisch die Vasa privata der Lunge verantwortlich, die das desoxygenierte Blut in die Venae pulmonales ableiten. Als funktionelles Shuntvolumen bezeichnet man den Anteil des HZV, der schlecht belüftete Lungenabschnitte perfundiert. Hierbei handelt es sich physiologisch um

einen Anteil von circa 2% des gesamten HZV. Im Fall des ARDS kann sich dieses Shuntvolumen auf 50% des HZV vergrößern (7, 16).

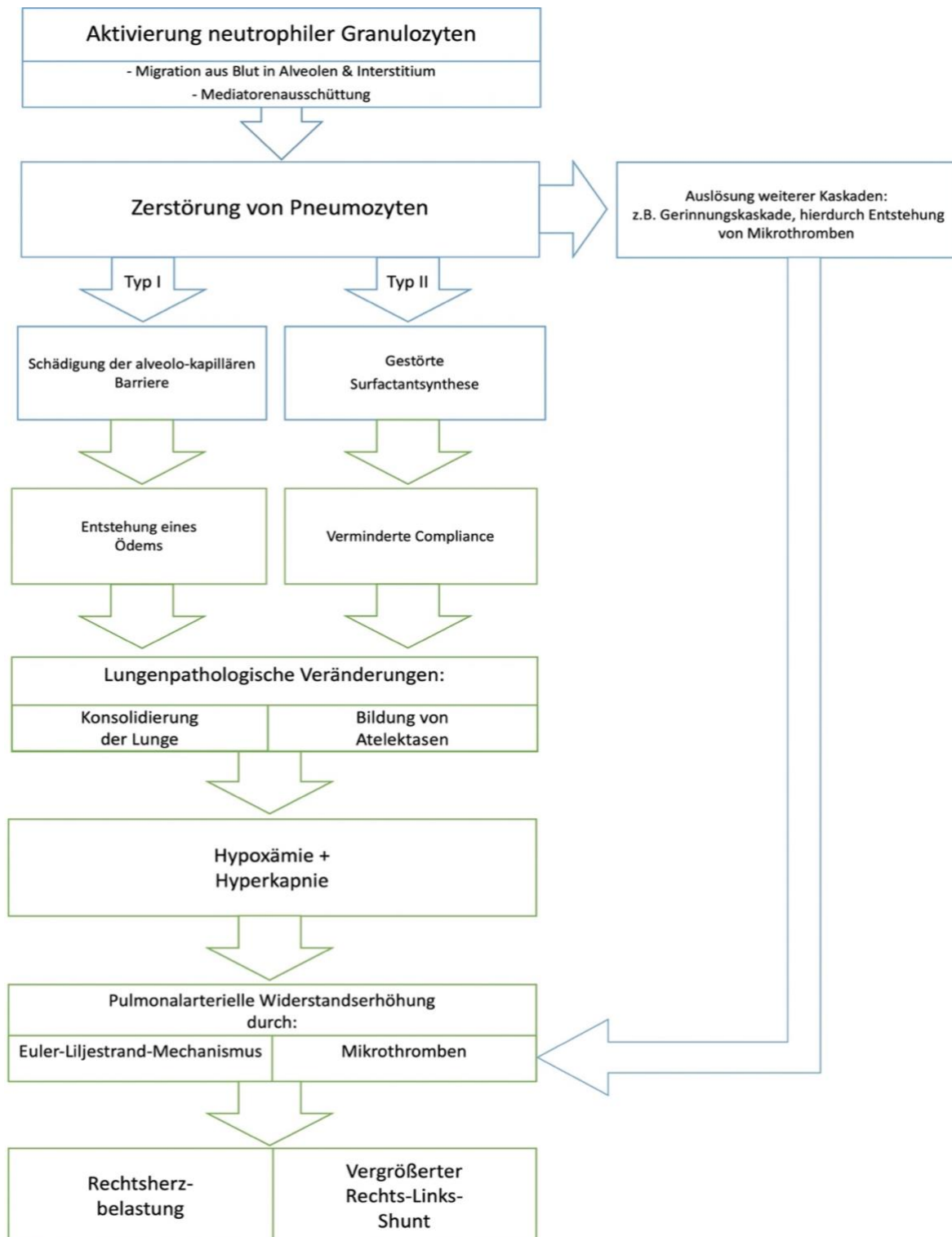


Abbildung 3: Schematische Darstellung der pathophysiologischen Abläufe des ARDS. Blau dargestellt sind lokale Mechanismen, die auf zellulärer Ebene in der Lunge stattfinden. Grün stellen die pathophysiologischen Vorgänge auf Organebene dar.

Die Pathomechanismen führen in ihrer Gesamtheit zu verschiedenen Ausprägungen der Schädigung. Zeitlich kann man das Krankheitsbild in eine exsudative, eine proliferative und eine fibrotische Phase einteilen (Tab. 3). In der exsudativen Phase, die sich auf die ersten 7 Tage beschränkt, werden die Auswirkungen der Inflammation und des Ödems sichtbar. Makroskopisch imponiert ein ödematöses Lungengewebe. In der mikroskopischen Analyse kann man neutrophile Granulozyten und hyaline Membranen nachweisen. Die darauffolgende proliferative Phase beginnt meist ab dem dritten Tag und ist gekennzeichnet durch eine Reorganisation des Lungengewebes. Es findet ein fibrotischer Umbau statt. Dabei proliferieren vor allem Typ-II-Pneumozyten, Fibroblasten und Myofibroblasten. Makroskopisch erkennt man ein festes Lungengewebe, das durch den Verlust der kleinen Atemwege gekennzeichnet ist. In der letzten Phase bilden sich Bullae, die Kapillarmembranen sind verdickt und es findet sich vermehrt fibrotisches Bindegewebe. Diese Phase ist irreversibel. Durch den Umbau des Lungengewebes erinnert das Organ makroskopisch an Lebergewebe, weshalb man auch von einer „Hepatisation“ spricht. Die einzelnen Phasen können sich überschneiden oder erneut auftreten.

Tabelle 3: Phasen des ARDS. Entnommen und modifiziert nach Tomashefski et al. (17)

Phasen	Zeitliche Einordnung	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
Exsudative Phase	Bis Tag 7	Ödematöses Lungengewebe, der Luftgehalt nimmt ab und das Organgewicht nimmt zu	Neutrophile Granulozyten
Proliferative Phase	Tag 7 – 21	Dichtes bindegewebiges Lungengewebe	Mikrothromben, Beginnende Fibrosierung
Fibrotische Phase „Hepatisation“	Ab Tag 21	Derbes kollagenreiches Lungengewebe, Bildung von Bullae	Generalisierte Fibrosierung, Verdickte Kapillarmembranen

2.1.4. Therapie

Die therapeutischen Optionen des ARDS lassen sich in kausale und supportive Ansätze aufteilen. Für den kausalen Ansatz ist die entsprechende Ursache leitliniengerecht zu behandeln. Außerdem spielt eine lungenprotektive Beatmungstherapie eine wichtige Rolle. Bei einem milden bis moderaten ARDS wird eine High-Flow-Sauerstofftherapie empfohlen. Hierbei wird über eine spezielle Nasenkanüle ein erwärmtes und angefeuchtetes Luft-Sauerstoffgemisch mit hoher Flussrate bis zu 60 Liter pro Minute (l/min) appliziert. Eine Alternative stellt die nicht-invasive Ventilation (NIV) dar (6). Diese Beatmungsform unterstützt die Spontanatmung des Patienten durch einen kontinuierlichen Druckgradienten. Über eine Gesichts- oder Nasenmaske wird mit einem dauerhaften positiven endexpiratorischen Druck (PEEP) das Auftreten von Atelektasen vermindert. Der Patient atmet spontan und gibt Atemfrequenz und Tidalvolumen vor.

Bei einem schweren ARDS (Horovitz-Quotienten ≤ 100 mmHg) wird eine invasive Beatmung notwendig. Um den mechanischen und inflammatorischen Stress zu reduzieren, der durch eine invasive Beatmungsform entsteht, ist hierbei eine lungenprotektive Beatmung anzustreben. Es konnte nachgewiesen werden, dass unphysiologische Beatmungsparameter die Lunge mechanisch schädigen und inflammatorische Prozesse zu einer weiteren Verschlechterung der Gesamtsituation führen (18). Zur Lungenprotektion wird das Atemzugvolumen auf ≤ 6 ml/kgStandardKG und der Beatmungsdruck auf ≤ 30 mbar begrenzt (6). Invasiv beatmete Patienten neigen durch die Intubation, dem daraus fehlenden Glottisschluss und der Analgosedierung zu einer Abnahme der funktionellen Residualkapazität (FRC) und damit zur Atelektasenbildung. Um dem entgegenzuwirken ist die Beatmung mit einem adäquaten PEEP wichtig. Die Beatmung mit einem PEEP führt zu einem verbesserten alveolären Gasaustausch. Andererseits kann ein dauerhaft erhöhter endexpiratorischer Druck zur Überdehnung der Lunge und einem vermehrten Totraum führen. Deshalb ist die korrekte Einstellung des PEEPs entscheidend. Man orientiert sich hierfür an der ARDS-Network-Tabelle, die den PEEP und die Inspiratorische Sauerstoffkonzentration (FiO_2) ins Verhältnis zueinander setzt (6). Diese Tabelle wurde etabliert, um eine optimale Einstellung des PEEPs für Patienten mit einem ARDS herzustellen. Hierfür wird der PEEP schrittweise im Wechsel mit der FiO_2 erhöht. Es gibt drei Tabellen, die sich auf verschiedene Patientengruppen beziehen. Im Folgenden (Tab. 4) ist die Tabelle der Lower PEEP/Higher FiO_2 -Gruppe

dargestellt. Daneben existiert eine Higher PEEP/Lower FiO₂-Gruppe für den Einsatz ohne vorherige Nutzung der Lower PEEP/Higher FiO₂-Tabelle, sowie eine Higher PEEP/Lower FiO₂-Gruppe für den Einsatz nach Nutzung der Lower PEEP/Higher FiO₂-Tabelle.

Tabelle 4: ARDS-Network-Tabelle. Lower PEEP/Higher FiO₂ Modifiziert nach Brower et al. (19)

FiO ₂	0.3	0.4	0.4	0.5	0.5	0.6	0.7	0.7	0.7	0.8	0.9	0.9	0.9	1.0
PEEP	5	5	8	8	10	10	10	12	14	14	14	16	18	18 – 24

Die Leitlinie empfiehlt ARDS-Patienten mit einem höheren PEEP zu beatmen.

Ob das Beatmungsziel erreicht wird, lässt sich über eine arterielle Blutgasanalyse (BGA) evaluieren. Die folgenden Werte werden dabei angestrebt (6):

p_aCO₂: 35 – 60 mmHg

p_aO₂: ≥ 60 mmHg

pH: 7,2 – 7,5

Werden diese Ziele nicht erreicht, muss die Option extrakorporaler Unterstützungssysteme eruiert werden. Entsprechend des gewählten Verfahrens wird die Lungen- und/oder Herzfunktion ersetzt. Bei ARDS-Patienten mit schwerer Oxygenierungsstörung und erhaltener Herzfunktion wird eine veno-venöse extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) eingesetzt. Um die Lungenfunktion zu ersetzen wird ein großes Gefäß kanüliert. Meistens handelt es sich um die Vena femoralis. Das desoxygenierte Blut wird über einen Membranoxygenator gepumpt, der das Blut mit Sauerstoff anreichert und Kohlenstoffdioxid entzieht. Für die Rückgabe des sauerstoffreichen Bluts in den Kreislauf wird meist die Vena jugularis externa genutzt, über die das Blut in den rechten Vorhof gelangt.

Eine andere Form der extrakorporalen Membranoxygenierung stellt die veno-arterielle ECMO dar. Hierbei wird die Pumpfunktion des Herzens übergangen und das Blut über die Arteria femoralis direkt in die Aorta abdominalis eingeschleust. Diese Form setzt man bei Patienten mit schwerer Oxygenierungsstörung und eingeschränkter Herzfunktion ein, ist aber grundsätzlich bei ARDS-Patienten nicht indiziert (6).

Zu weiteren Therapieoptionen mit supportiven Ansatz zählen Lagerungsstrategien und eine restriktive Flüssigkeitstherapie. Letztere ist nur anzuwenden, wenn der mittlere arterielle Druck (MAD) größer 60 mmHg ist und es keine klinischen Zeichen für eine Hypovolämie gibt. Ebenfalls nicht anwendbar ist die Flüssigkeitsrestriktion bei

septischen Patienten aufgrund einer Flüssigkeitsumverteilung und der daraus folgenden relativen Hypovolämie, die für dieses Krankheitsbild typisch ist. Ziel der therapeutischen Flüssigkeitsbegrenzung beim ARDS ist eine Reduktion der Ödembildung und eine verminderte Mediatorfreisetzung.

Eine suffiziente supportive Therapieoption stellt die Bauchlage für Patienten mit respiratorischer Insuffizienz dar. Durch die Lageveränderung findet aufgrund der Schwerkraft eine verstärkte Perfusion der ventralen Lungenabschnitte statt. Außerdem werden atelektatische Bereiche der Lunge im dorsobasalen Bereich rekrutiert. Dies führt zu einer vergrößerten Gasaustauschfläche und einem verbesserten Ventilations-Perfusions-Verhältnisses (20). Es wird ein Intervall von 16 Stunden Bauchlage pro Tag empfohlen. Hierbei sind eine sorgfältige Kontrolle der Atemwegssicherung und eine schonende Lagerung zu beachten.

Weiterhin ist ein MAD von ≥ 65 mmHg anzustreben und falls nötig die Kreislauffunktion mit Katecholaminen zu unterstützen. Hierfür wird ein erweitertes hämodynamisches Monitoring empfohlen.

Eine weitere Therapieoption stellt die inhalative Gabe von Stickstoffmonoxid dar. Durch die vasodilatatorische Wirkung kann eine Verbesserung der Oxygenierung und eine Verminderung des Auftretens kritischer Hypoxämien erreicht werden. Eine mögliche Komplikation der inhalativen Therapie mit Stickstoffmonoxid ist die erhöhte Wahrscheinlichkeit eines akuten Nierenversagens, weshalb die Leitlinie keine routinemäßige Anwendung empfiehlt.

Abgesehen von der Behandlung des Auslösers des ARDS gibt es wenig Ansätze, die die beschriebenen pathologischen Abläufe spezifisch aufhalten. Die Schwere eines ARDS wird grundlegend vom Umfang der inflammatorischen Vorgänge bestimmt, weshalb es entscheidend ist die kaskadenartige Verstärkung einzudämmen.

2.2. ARDS und COVID-19

Das, im Jahr 2019 erstmals in Wuhan (China) aufgetretene, infektiöse SARS-CoV2 sorgte für eine globale Pandemie. Es handelt sich um eine Erkrankung, die sowohl pathophysiologische Veränderung in der Lunge als auch in den Gefäßen der Patienten hervorruft. Das Virus wurde im Dezember 2019 erstmals in Wuhan, China nachgewiesen und dann am 11.03.2020 durch die World Health Organisation (WHO) zu einer globalen Pandemie erklärt. Aufgrund der teils schweren Verläufe und der hohen Infektiosität des RNA-Virus aus der Gruppe der Coronaviren entstanden durch das Virus schwere sozioökonomischen Folgen und viele Todesfälle. Bis heute zeigt das Auftreten des Virus einen dynamischen Verlauf und schwankende Inzidenzen, die sich vor allem saisonal häufen. Auch die stetige Mutation des Virus, aus der neue SARS-CoV-2-Varinaten entstehen, macht eine zuverlässige Prävention und Therapie des Virus schwierig. Das Virus verursacht hauptsächlich milde Erkältungskrankheiten, kann aber vor allem bei immunsupprimierten oder älteren Patienten zu einer schweren Pneumonie führen (21). Auf Basis einer solchen Pneumonie und der daraus resultierenden Alveolarschädigung kann sich ein ARDS entwickeln. Die grundlegenden Pathomechanismen der COVID-19 Erkrankung sind sowohl primär auf das Virus zurückzuführen als auch auf die Immunantwort der Patienten. Hierbei kann es durch die intrazelluläre Virusreplikation zu einer Zytolyse kommen, auf die eine dysregulierte Immunantwort mit einem Zytokinsturm folgt. Auf diese unspezifische Entzündungsreaktion können multiple Organdysfunktionen und eine schwere Endothelzellschädigung folgen, wodurch das Renin-Angiotensin-System dysreguliert wird und thromboembolische Komplikationen auftreten können (22, 23). Bei der schweren Form der COVID-19 Erkrankung handelt es um eine schwere atypische interstitielle Pneumonie, die aufgrund der Lungenpathologie und systemischen Komplikationen zu einem akuten Lungenversagen führen kann, das die ARDS-Kriterien erfüllt (24). Hierbei konnte beobachtet werden, dass das Outcome bei Patienten mit einem, durch COVID-19 ausgelöstem ARDS schlechter ist als bei Patienten mit ARDS anderer Ursache. In der Studie von Wu et al. wurden in den Jahren 2019 bis 2020 201 Patienten mit einer COVID-19-Pneumonie in einem Krankenhaus in Wuhan eingeschlossen, von denen 41,8% ein ARDS entwickelten. Von diesen Patienten starben 52,4% (25). Unter den beatmeten Patienten lag der Anteil bei 65,7 - 94%. Vergleicht man diesen Wert mit der Mortalität, die die Studie von Bellani et al. festgestellt hat (34,9% – 46,1%), ist er signifikant erhöht.

Die Therapie des COVID-19 bedingten ARDS beinhaltet die gleichen Säulen, wie die Behandlung eines ARDS anderer Ätiologie. Zusätzlich wird hierbei eine antivirale Therapie vorgeschlagen (24). Auch die Gabe von Glucocorticoiden wird bei schweren Verläufen empfohlen (26, 27). Außerdem empfiehlt die entsprechende S3-Leitlinie zur Behandlung schwerer COVID-19 Verläufe die Gabe des Januskinase-Inhibitors Baricitinib oder des monoklonalen IL-6-Antikörper Tocilizumab. Antiinflammatorische Therapien sind bei schweren Verläufen des COVID-19 verursachten ARDS somit Bestandteil der Standardtherapie. Diesen Ansatz weiter zu verfolgen und die inflammatorische Komponente des Krankheitsbilds frühzeitig einzudämmen scheint von hoher Relevanz und sollte dementsprechend in weiteren Forschungen untersucht werden.

2.3. Zytokine und Inflammation

Zytokine sind parakrin, endokrin oder autokrin wirksame Gewebshormone, die eine wichtige Rolle als Mediatoren einnehmen. Es handelt sich um Polypeptide, die sowohl für Signalwege des Immunsystems als auch als Wachstumshormone wichtige Funktionen einnehmen. Man teilt die proinflammatorischen Zytokine in verschiedene Klassen ein. Zytokine binden meist an Rezeptoren mit mehreren Untereinheiten, wobei die vom Zytokin gebundene funktionelle Untereinheit entscheidend ist für die Klassenzuordnung. Die Zytokine der gleichen Klasse lösen somit meist eine ähnliche Reaktion aus. Hierbei unterteilt man Interleukine, Interferone, die TNF-Superfamilie und Chemokine. Die jeweiligen Klassen spielen im proinflammatorischen Signalweg entsprechend ihrer Funktion verschiedene Rollen. Interleukine und Interferone dienen vor allem der Kommunikation zwischen den Zellen, wohingegen Chemokine Botenstoffe sind und Zellen des Immunsystems in entzündetes Gewebe locken.

2.3.1. Interleukin-6-Gruppe

Das Wort Interleukin (IL) kommt aus dem Griechischen und bedeutet „zwischen“ („inter-“) und weiß („-leukin“). Die Hauptaufgabe der Interleukine ist die Kommunikation zwischen Leukozyten. Insgesamt unterscheidet man 15 Subtypen, die von verschiedenen Zellen sezerniert werden, aber innerhalb der Untergruppe die gleiche Funktion haben. Zur Interleukin-6-Gruppe zählen IL-6, Ciliary neurotrophic factor (CNTF), Leukemia inhibitory factor (LIF), Oncostatin M (OSM), Cardiotrophin 1 (CT-1), Cardiotrophin-Like Cytokine (CLC) und IL-26 (28). Eine Gemeinsamkeit ist die Rezeptoruntereinheit Glykoprotein 130 (gp130). Die Interleukine der IL-6-Gruppe werden vor allem von Monozyten, Makrophagen und Endothelzellen produziert. Die Synthese wird durch eine Antigenbindung auf den entsprechenden Zellen ausgelöst. Eine verstärkte Produktion erfolgt in Anwesenheit von Prostaglandin E₂ (29).

Ein wichtiger Transkriptionsfaktor für die Synthese von IL-6 ist z.B. NF-κB (30). IL-6 wird posttranslational modifiziert, wobei die Funktion der Modifizierung noch nicht final geklärt ist. Das sezernierte IL-6 bindet dann an spezielle IL-6-Rezeptoren auf Hepatozyten oder Leukozyten und löst hier eine Signalkaskade über das oben beschriebene gp130 aus. In dieser Kaskade wird die gebundene Janus-Kinase phosphoryliert und der JAK-STAT-Weg initiiert (31). Diese Signalwege lösen intrazellulär Mechanismen aus, die für die Immunreaktion der jeweiligen Immunzelle relevant sind. Dazu zählt die Produktion von Akute-Phase-Proteinen in der Leber und

die Stimulation von T- und B-Lymphozyten. IL-6 kann außerdem einen Komplex mit dem löslichen IL-6-Rezeptor eingehen und an das gp130, das sich auf vielen Zellmembranen befindet, binden. Diesen Weg nennt man IL-6-Trans-Signaling (32). Es hat sich herausgestellt, dass sich die Blockade von IL-6 positiv auf die Therapie von Autoimmunerkrankungen auswirkt (33, 34). Wie beschrieben, wurde ein Einfluss von Resveratrol beobachtet, wodurch die Transkription des IL-6 runterreguliert und dieses weniger produziert wird. Hierdurch wird die proinflammatorische Wirkung des Interleukins geschwächt. In dieser Studie wurde deshalb die Serumkonzentration von IL-6 untersucht, verglichen und graphisch dargestellt.

2.3.2. Tumornekrosefaktor-alpha

Die TNF-Superfamilie gehört zu den proinflammatorischen Zytokinen. Es handelt sich um Proteine, die die Eigenschaft haben, an einen membranständigen Rezeptor der TNF-Superfamilie zu binden und so zu proinflammatorischen Reaktionen beitragen. Diese Art von Rezeptor ist nahezu ubiquitär vorhanden, sodass die Tumornekrosefaktoren auf verschiedene Zellen wirken. Das Peptidhormon TNF- α ist dabei von großer klinischer Relevanz. Nachdem TNF- α an den Rezeptor gebunden hat, wird der Komplex mittels Clathrin-vermittelter Endozytose internalisiert und aufgespalten. Durch die Freisetzung in der Zelle werden verschiedene weitere Signalproteine aktiviert. Zu diesen zählen Transkriptionsfaktoren, Caspasen, sowie mitochondriale Proteine. Durch die Aktivierung dieser Botenstoffe, kommt es zur Apoptose, zur Zelldifferenzierung oder -proliferation oder zur Produktion von Zytokinen. Außerdem werden Sauerstoffradikale und Stickstoffmonoxid (NO) produziert (35). Manche TNF-Rezeptoren zählen zu den sogenannten Death-Rezeptoren. Diese besitzen intrazellulär eine Rezeptordomäne namens Death-Domäne, durch die bei TNF- α -Bindung proapoptotische Caspasen aktiviert werden. Aus den beschriebenen Mechanismen lässt sich die hohe Relevanz von TNF- α für Entzündungsprozesse ableiten. Auch bei überschießenden Reaktionen des Immunsystems, die Krankheitsbilder wie systemic inflammatory response-syndrome (SIRS), Sepsis und ARDS definieren, wird diesem speziellen Zytokin eine tragende Rolle zugeschrieben (36). Resveratrol wurde eine hemmende Wirkung auf die TNF- α -Produktion in Monozyten nachgewiesen, worauf mutmaßlich ein Teil der antiinflammatorischen Effekte von Resveratrol zurückzuführen ist (37).

2.4. Das Polyphenolderivat Resveratrol

Resveratrol (trans-3,5,4'-Trihydroxystilben) ist ein natürlich vorkommender sekundärer Pflanzenstoff aus der Gruppe der polyphenolischen Phytoalexine. Phytoalexine sind pflanzliche Stoffe, die antimikrobiell wirken und Pflanzen vor schädlichen Mikroorganismen schützen. Resveratrol ist beispielsweise in Wein, Beeren, Traubenschalen und Nüssen zu finden (38). Synthetisiert wird es durch die Resveratrol-Synthase. Es besitzt zwei Phenolringe, wobei drei Phenylgruppen durch Hydroxylgruppen substituiert sind, die freie Radikale abfangen können oder mit Makromolekülen interagieren. Es kommt sowohl in cis- als auch in trans-Form vor, wobei das trans-Isomer stabiler ist (39).

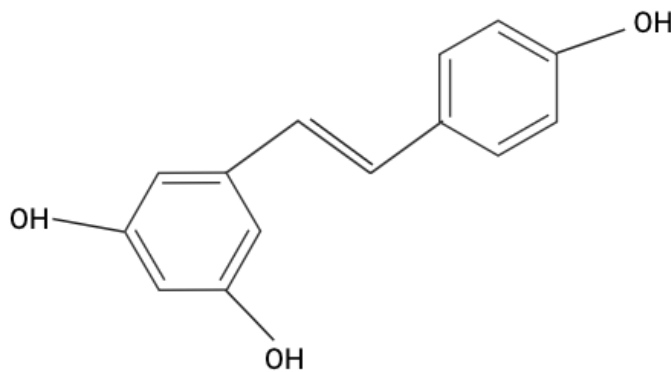


Abbildung 4: Strukturformel trans-Resveratrol. Summenformel von Resveratrol: $C_{14}H_{12}O_3$. Created with biorender.com (2023), Abgerufen auf: <https://app.biorender.com/biorender-templates>

Das Vorhandensein von Resveratrol in Pflanzen hemmt die Entstehung von Infektionen, die zum Beispiel durch einen Pilzbefall entstehen. Die Synthese des Polyphenols wird durch einen parasitären Befall oder Stressfaktoren hochreguliert (39). Deshalb wurden Pflanzen, die Resveratrol enthalten, schon früh in der traditionellen Medizin eingesetzt. Isoliert wurde Resveratrol erstmal 1939 von dem Wissenschaftler Takaoka (40). Seitdem ist Resveratrol Bestandteil vieler Forschungen. Studienergebnisse zeigen eine ausgeprägte antikanzerogene, entzündungshemmende, immunmodulatorische und stark antioxidative Wirkung (4). Oxidativer Stress entsteht durch das vermehrte Anfallen reaktiver Sauerstoffspezies (ROS). Zu den ROS zählt man chemische Verbindungen, die Sauerstoff enthalten und eine hohe Reaktionsbereitschaft zeigen. Typische ROS im menschlichen Stoffwechsel sind Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Hyperoxid-Anion (O_2^-) und Hydroxyl-Radikale ($OH^\cdot$). ROS werden bei der Zellatmung in den Mitochondrien hauptsächlich über die NADPH-

Oxidase gebildet oder von Immunzellen im Rahmen der unspezifischen Immunabwehr (41). In hohen Konzentrationen führen sie zu oxidativem Stress, da es durch die hohe Reaktionsbereitschaft dieser Sauerstoffverbindungen zur Schädigung verschiedenster zellulärer Strukturen kommt. Zellmembranen können hierdurch genauso Schaden nehmen, wie Enzyme, Proteine und die Desoxyribonukleinsäure (DNA). Oxidativer Stress ist einer der wesentlichen Faktoren für die entstehenden Endothelschäden im ARDS (41). Die antioxidative Wirkung von Resveratrol ist über das Vorhandensein mehrerer Phenolringe, die durch funktionelle Hydroxylgruppen und konjugierte Doppelbindungen gekennzeichnet sind, zu erklären (Abb.4). Durch die konjugierten Doppelbindungen ist das Molekül zur Elektronendelokalisation befähigt (41). Außerdem reguliert Resveratrol die Expression verschiedener NADPH-Oxidasen herunter, was zu einer verminderten Produktion von ROS führt. Durch diese Effekte wird intrazellulär Malondialdehyd und ROS reduziert und die Produktion anderer antioxidativen Proteine gesteigert, was die Zelle vor oxidativem Stress schützt (Abb. 5). Außerdem reguliert Resveratrol die Expression der NADPH-Oxidase herunter. Nachgewiesen wurde dies durch Wang et al., die entsprechende Mechanismen *in vitro* an intestinalen Caco-2 Zellen beobachten konnten, nachdem diese mit Wasserstoffperoxid behandelt wurden (42).

Ein Aspekt des immunmodulatorischen Effekts von Resveratrol wurde 2019 von Pinheiro et al. beschrieben. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Resveratrol in Monozyten zu einer reduzierten Expression von IL-8 und TNF- α führt, ohne dabei zytotoxisch zu wirken (37). Außerdem wurde nachgewiesen, dass Resveratrol die Transkription und Translation von IL-6 in Makrophagen supprimiert (43). Darüber hinaus wird Resveratrol mit positiven Effekten bei verschiedenen chronisch entzündlichen Erkrankungen wie Diabetes, Adipositas, Neurodegeneration, Krebs und Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Verbindung gebracht (4, 44, 45). In der Studie von Karakisi et al. konnte gezeigt werden, dass Resveratrol durch die Reduktion oxidativer Schäden zu einer verminderten Lungenschädigung bei Ratten führt (46). Hierfür wurden die Versuchstiere in eine Kontrollgruppe und eine Interventionsgruppe unterteilt. Bei beiden Gruppen wurden Gefäßklemmen temporär an die Aorta abdominalis angebracht, um eine Ischämie zu erzeugen. Nach dieser Zeit folgte eine Reperusionszeit. In der Interventionsgruppe wurde intraperitoneal 10 Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht (mg/kgKG) Resveratrol 15 Minuten vor Ischämiebeginn und unmittelbar nach der Reperusionszeit verabreicht. Die erzeugte Ischämie und

proinflammatorische Zytokine, die aus den ischämischen Bereichen freigesetzt wurden, lösten ein SIRS aus. Außerdem führte die Ischämie und freigesetzte reaktive Sauerstoffspezies aus aktivierten neutrophilen Granulozyten zu massiven Membranschäden. Auf diese Mechanismen folgte eine akute mikrovaskuläre Schädigung der Lunge und ein ARDS. In der Studie von Karakisi et al. wurden zur Ergebnissicherung die Spiegel der Glutathionperoxidase und der Katalase bestimmt. Hierbei handelt es sich um antioxidative Enzyme, die Zellen vor oxidativem Stress und dessen Folgen schützen. Außerdem wurde der Malondialdehydspiegel gemessen, welcher die Schwere der Membranschädigung widerspiegelt. Es konnte gezeigt werden, dass unter der Gabe von Resveratrol der Malondialdehydspiegel signifikant erniedrigt und die antioxidativ wirkende Glutathionperoxidase erhöht war. Diese und weitere Studien zeigen, dass Resveratrol eine therapeutische Wirkung auf Krankheitsbilder hat, in deren pathophysiologischen Vorgängen oxidativer Stress eine Hauptrolle spielt (40, 41, 46). Diese Wirkung wird durch die verminderte ROS-Erzeugung und die Hochregulation antioxidativer Substanzen erzielt.

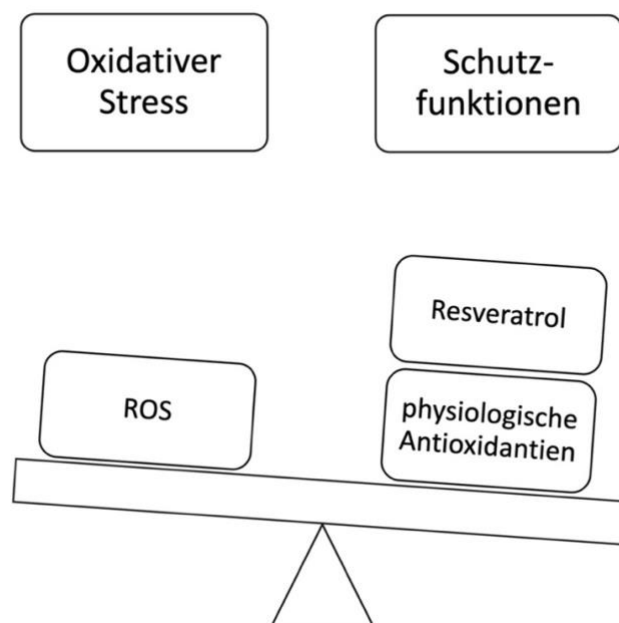


Abbildung 5: Ungleichgewicht von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) zu Antioxidantien, welches durch Resveratrol zu Gunsten der Schutzfunktionen überwiegt.

3. Material und Methoden

3.1. Materialliste

3.1.1. Geräte

Beatmungsgerät	Engström Carestation Healthcare (Madison, USA)
Blutgasanalyse	Radiometer ABL 800 Basic (Willich, D)
EIT	Goe-MF II, CareFusion (San Diego, CA, USA)
Monitor	Datex Ohmeda S5, GE Healthcare Finland Oy (Helsinki, Finland)
Perfusor	Braun Perfusor FM (Melsungen, D)
PICCO	Pulsion Medical Systems PICCO Plus (München, D)
Pipetten	Eppendorf Research 10/100/200/1000 (Hamburg, D)
ELISA	Porcine Quantikine ELISA Kits; R/D Systems, (Wiesbaden, D)
rt-PCR	Lightcycler 480 PCR System; Roche Applied Science, (Penzberg, D)
Sonographie	Sonosite MicroMexx Ultrasound (Bothell, USA)

3.1.2. Medikamente

Norepinephrin	Arterenol, Sanofi aventis (Frankfurt a.M., D)
Atracurium	Atracurium, Hikma (Gräfelfing, D)
Fentanylcitrat	Fentanyl, Janssen (Neuss D)
Glucose-Monohydrat	Glucosteril 40 %, Fresenius Kabi (Bad Homburg, D)
Kaliumchlorid	1 M-Kaliumchlorid 7,46%, Fresenius Kabi (Bad Homburg, D)
Ketamin	Ketamin-Hameln, Hameln Pharmaceuticals GmbH
Midazolamhydrochlorid	Midazolam, Hameln (Hameln, D)
Ölsäure	Ölsäure reinst Ph. Eur NF Applichem GmbH (Darmstadt, D)
Propofol	Propofol 2%, Fresenius, Kabi (Bad Homburg, D)
Resveratrol	Resveratrol 98 %, Carl Roth GmbH + Co.(Karlsruhe, D)
Azaperon	Stresnil, Lilly Deutschland GmbH, Abteilung Elanco Animal Health (Bad Homburg, D)
Sterofundin	Sterofundin ISO, B Braun (Melsungen, D)

3.1.3. Verbrauchsmaterial

Absaugkatheter	Absaugkatheter Ideal CH14, 52 cm, gerade B. Braun (Melsungen AG, D)
Endotrachealtubus	Rüsch Supersafetey Clear (Kamunting, Malaysia)
Führungsstab	Durchmesser 4.3, Rüsch ???
Kompressen	MaiMed VK non sterile (Neuenkirchen, D)
Einmalrasierer	MedicalCare & Serve premium plus (Willich, D)
Einmalhandschuhe	Semper Care premium Latex (Nothamptonshire, Großbritannien)
ZVD-System	Smiths Medical Medex Logical (Grasbrunn, D)
Spülsystem	Smiths Medical Infusions-Set 3-fach (Grasbrunn, D)
Leitung	Smiths Medical RR-Messschlauch (Grasbrunn, D)
Picco-System	PULSION PCCO Monitoring Kit (München, D)
Drucksystem	Smiths Medical Monitoring Set (Grasbrunn, D)
Spritze 2, 5, 10, 20 ml	BD Discardit II, Becton Dickinson (Fraga, Spain)
Perfusor-Leitung	Fesenius Kabi Injectomat line (Bad Homburg, D)
Braunüle	B Braun Vasofix Safetey 22G, (Melsungen, D)
Kombistopfen	B Braun Cambi Stopper (Melsungen, D)
3-Wege-Hahn	BD Conecta (Helsingburg, Schweden)
Monovetten	Sarstedt S-Monovetten (Nürnberg, D)
Kryogefäß	Nalgene Cryoware Cryovine (New York, USA)
Kanüle	BD Microlance 3 20 G, Becton Dickinson (Fraga, Spain)
Laryngoskop	Teleflex Medical GmbH (Fellbach, Österreich)
Laryngoskopspatel	Stainless Macintosh Gr. 4, Welch Allyn (Skaneateles Falls, NY USA)
Punktionsnadel	Smiths Medical Seldinger Nadel (Grasbrunn, D)
Schallkopfüberzug	Udo Heisig Flexasoft Ultraschallbezug (Putzbrunn, D)
Abdecktuch	Care Fusion Convertors (Chateaubriant, Frankreich)
Infusionssystem	Codan Infusion Set (Lensahn, D)
Infusomatsystem	B Braun Original Infusomat line (Melsungen, D)
Fixierung	BSN Fixomull Strech (Hamburg, D)
Perfusorspritze	BD Perfusion 50 Syringe (Drogeheide, Irland)

Perfusorleitung	Original Perfusor syringe 50ml Luer Lock, B.Braun (Melsungen AG, D)
EKG-Elektroden	Covidien Kendall ECG Elektrodes (Mansfield, USA)
Ultraschall-Gel	Bonz Ultraschall Gel Sonosid (Herrenberg, D)
Desinfektionsmittel farblos	Schülke octeniderm farblos (Nordenstest, D)
Pipettenspitzen	Biozym Safe Seal-Tips Professional (Oldendorf, D)
SpO ₂ -Sensor	Masimo Radical 7, Masimo Corporation (Irvine, CA USA)
pO ₂ -Sensor	Neofox Oxygen sensor 300 micron fiber, Ocean optics (Largo, FL USA)
PA-Katheter	Swan Ganz 7,5 Fr 110cm, Edwards Lifesciences LLC, (Irvine CA, USA)
Trichter	PE-Trichter, 60 mm, Aquintos-Wasseraufbereitung GmbH, (Voerde, D)
Schleuse	Radifocus Introducer II, Größe 5-8 Fr, Terumo Corporation (Tokio, Japan)
Schleuse	Set 8,5 und 9 Fr, 10 cm, Arrow international inc. (Reading, PA USA)
Seldinger Kanüle	Smith-Medical Deutschland GmbH (Grasbrunn, D)

3.1.4. Software

GraphPad Prism und SigmaPlot wurden genutzt, um die statistische Auswertung und graphische Darstellung der Ergebnisse umzusetzen. Mit Biorender wurden Abbildungen erstellt.

Biorender	https://www.biorender.com
GraphPad Prism	Prism Version 10.0.2 (2023), GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)
SigmaPlot	Version 12.5, Systat Software, (USA)

3.2. Versuchsaufbau und -ablauf

Die Versuche fanden im Großtierlabor der Klinik für Anästhesiologie der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz statt und wurden alle im Jahr 2021 unter Einhaltung des deutschen Tierschutzgesetzes durchgeführt. Die Experimente wurden vom Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz genehmigt (Koblenz, Genehmigungsnummer: G20-1-135).

3.2.1. Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 20 männliche Schweine der Rasse *Sus scrofa domestica*, die zum Versuchszeitpunkt drei Monate alt waren. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 25 und 30 Kilogramm (kg)

Vor Versuchsbeginn fand eine Randomisierung der Tiere in drei Gruppen statt:

Resveratrol intravenös (i.v.) high-dose: 8 Tiere

Resveratrol i.v. low-dose: 8 Tiere

Placebo: 4 Tiere

Insgesamt: 20 Tiere

Die Tiere wurden am Tag des Versuchs vom Bauern des zertifizierten Zuchtbetriebs geliefert. Bis dahin hatten die Tiere jederzeit freien Zugang zu Wasser. Nahrung wurde den Tieren bis 6 Stunden vor Versuchsbeginn zu Verfügung gestellt, danach blieben sie zum Aspirationsschutz nüchtern.

3.2.2. Versuchsvorbereitung

Bereits vor Versuchsbeginn wurden die Tiere zur Stressminderung mit 10 Milligramm (mg) Midazolam, 80 mg Stresnil und 50 mg Ketamin intramuskulär analgosediert. Darauf erfolgte im Labor die Etablierung einer intravenösen Venenverweilkanüle in der Ohrrendvene zur Anästhesieeinleitung. Die Dosierung hierfür betrug 4 Mikrogramm pro Kilogramm Körpergewicht ($\mu\text{g/kgKG}$) Fentanyl, 3-4 mg/kgKG Propofol und einer einmaligen Dosis des Muskelrelaxans Atracurium von 0,5 mg/kgKG. Das Tier wurde präoxygeniert und endotracheal intubiert, sowie mit einer Magensonde bestückt. Die korrekte Tubuslage wurde durch Auskultation, sowie eine kontinuierliche Kapnometrie kontrolliert. Die Beatmung erfolgte volumenkontrolliert zeitgesteuert mit 6-8 ml/kg Tidalvolumen, einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration von 40%, einem Positiv end-expiratorischen Druck (PEEP)

von 5-10 Millibar (mb) und einem zeitlichen Verhältnis von Inspiration zu Expiration von 1:2. Die Respiratorfrequenz orientierte sich am endtidalen Kohlenstoffdioxid (CO₂). Zielwerte waren hierbei endexpiratorische Kohlenstoffdioxid-Werte im Bereich zwischen 35 und 45 mmHg und ein arterieller Sauerstoffpartialdruck (paO₂) von 60 bis 120 mmHg.

Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde eine großlumige Venenverweilkanüle in eine oberflächliche–Bauchvene gelegt, über die kontinuierlich 5 bis 10 Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht pro Stunde (mg/kg/KG/h) Propofol, 8 bis 12 Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht pro Stunde (µg/kg/KG/h) Fentanyl, sowie 5-8 Milliliter pro Kilogramm Körpergewicht pro Stunde (ml/kg/KG/h) Vollelektrolytlösung zugeführt werden konnte.

Zusätzlich wurde ultraschallgesteuert in Seldinger-Technik folgende Katheter in den Femoralgefäßen platziert:

- (1) Arteria femoralis links: Schleuse 5 French (Fr) – transpulmonale Thermodilution, invasive arterielle Druckmessung
- (2) Vena femoralis links: Schleuse 9 Fr – Pulmonalarterieller Katheter (PA-Katheter)
- (3) Arteria femoralis rechts: Schleuse 4 Fr – Foxy
- (4) Vena femoralis rechts: zentraler Venenkatheter (ZVK), dreilumig

In der linken Leiste wurden die Femoralgefäße punktiert, um eine arterielle invasive Blutdruckmessung durchführen zu können, sowie mithilfe des Pulse Contour Cardiac Output Systems (PiCCO) das Herzzeitvolumen zu bestimmen. Das venöse Gefäß auf der linken Seite diente zum Einschwemmen des PA-Katheters. Dieser wurde zur Überwachung der pulmonalarteriellen Drücke, sowie zur Applikation der Ölsäure im Rahmen der Induktion des akuten Lungenschadens verwendet.

Rechtsseitig wurde arteriell eine Schleuse (4 Fr) eingebracht, über die die Sauerstoff-Spektrometrie gemessen wurde. Das venöse Femoralgefäß der rechten Seite wurde punktiert, um über den dreilumigen ZVK den zentralen Venendruck (ZVD) und das HZV mithilfe des PiCCO-Systems messen zu können. Außerdem konnten hier Medikamente und Volumen appliziert werden (Abb. 6).

Über die gesamte Dauer des Versuchs fand das Monitoring der Vitalparameter statt, wobei Herzfrequenz (HF), Sauerstoffsättigung, invasiver arterieller Blutdruck, ZVD, pulmonalarterieller Druck, endexpiratorisches CO₂, sowie die rektal gemessene Körpertemperatur kontinuierlich aufgezeichnet wurden. Das Tier wurde in Rückenlage

fixiert. Vor Beginn der Induktion des ARDS fand eine Baseline-Messung (baseline healthy Messung (BLH)) statt, bei der die HZV-Messung, der ZVD und der pulmonalarterielle Druck über das PiCCO-System, sowie die funktionelle Residualkapazität dokumentiert wurden. Zusätzlich wurde eine venöse Serumanalyse und eine arterielle / venöse Blutgasanalyse durchgeführt. Außerdem fand eine Aufzeichnung der elektrischen Impedanztomographie (EIT) statt, über die mithilfe der multiplen Inertgas Eliminationstechnik das Perfusions-/Ventilationsverhältnis der Lunge dargestellt werden kann.

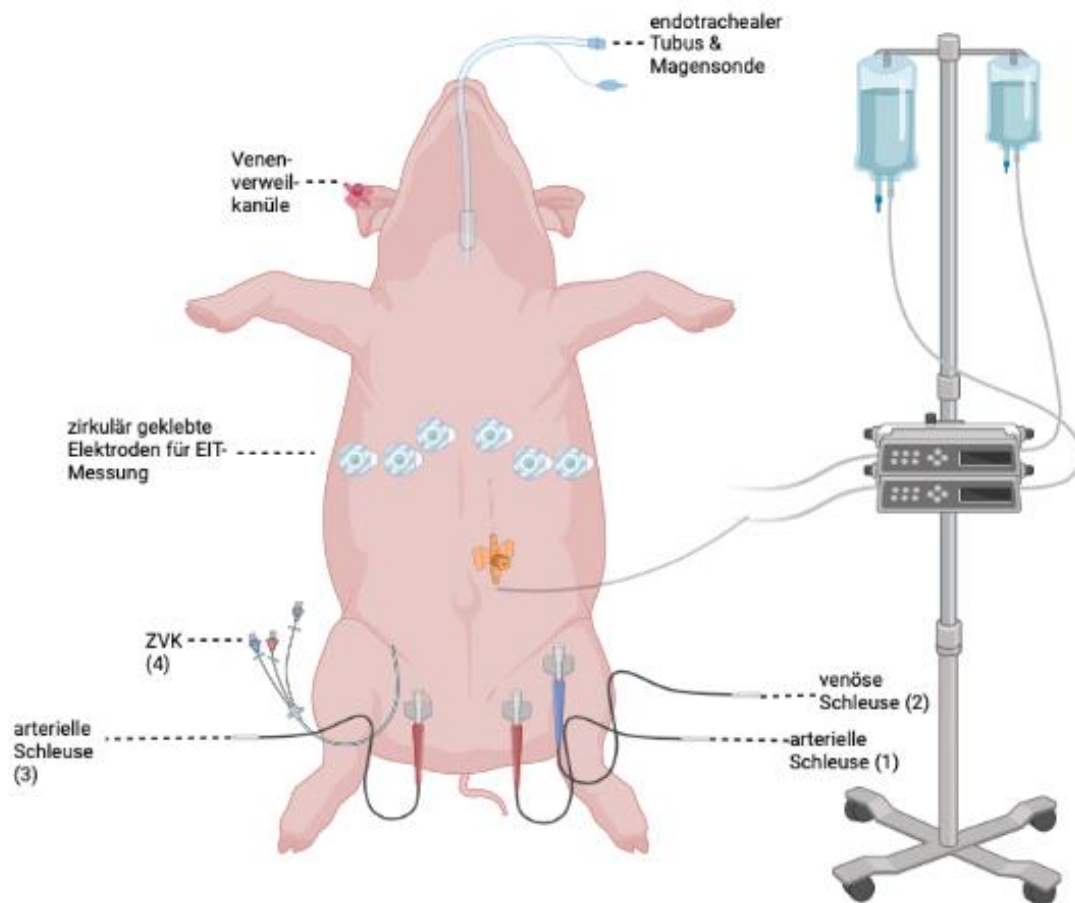


Abbildung 6: Bestückung des Versuchstiers. Linke Leiste: arterielle Schleuse 5 Fr zur transpulmonalen Thermodilution & invasive arterielle Druckmessung (1), venöse Schleuse 9 Fr mit PA-Katheter (2); Rechte Leiste: arterielle Schleuse 4 Fr mit Foxy (3), venös ZVK (4); Adaptiert von "Bestückung", von biorender.com (2023), Abgerufen auf: <https://app.biorender.com/biorender-templates>)

3.2.3. ARDS-Induktion

Zur Induktion des ARDS wurden in dieser Versuchsreihe zwei Schadensmethoden verwendet, welche die pathophysiologischen Veränderungen imitieren sollen (Abb. 7).

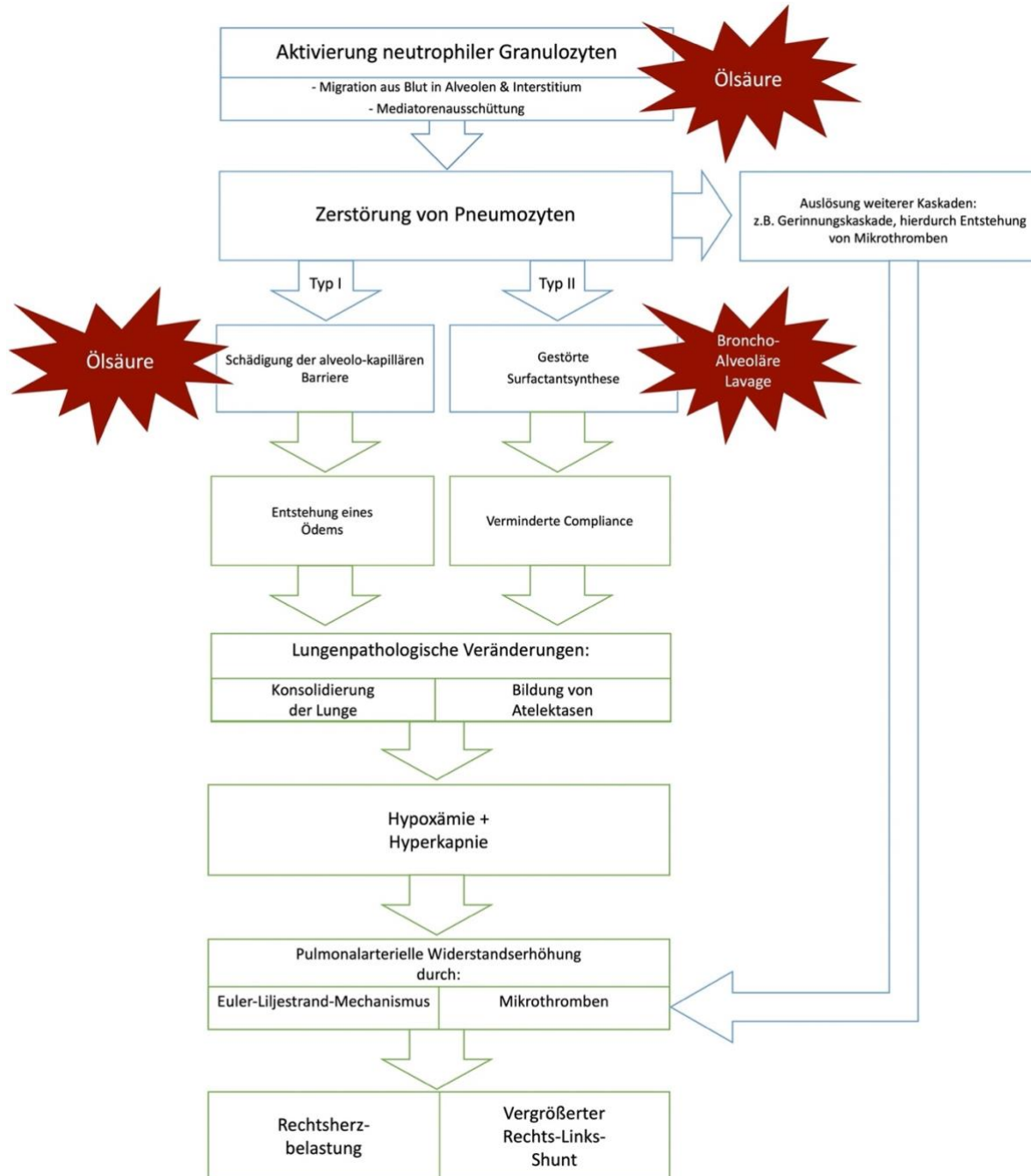


Abbildung 7: Modifizierte schematische Darstellung der pathophysiologischen Abläufe des ARDS und der Mechanismen der Double-Hit Induktion. Blau dargestellt sind lokale Mechanismen, die auf zellulärer Ebene in der Lunge stattfinden. Grün stellen die pathophysiologischen Vorgänge auf Organebene dar. Die Sterne spiegeln die vorgenommenen Interventionen zur Induktion an den entsprechenden pathophysiologischen Äquivalenten wider.

Zunächst fand eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) mit 30 ml/kgKG aufgewärmter Kochsalzlösung statt, bei der sich nach dem Oxygenierungsindex nach Horovitz

gerichtet wurde. Hierbei handelt es sich um den Quotienten aus $p\text{aO}_2$ zu FiO_2 (*Horovitz – Index* = $\frac{p\text{aO}_2}{\text{FiO}_2}$). Der Index wird häufig in der Intensivmedizin angewendet, um das Ausmaß eines Lungenschadens zu quantifizieren. Im vorliegenden Versuch wurden für die BAL Zielwerte kleiner 250 mmHg angestrebt. Gemessen wurde der Oxygenierungsindex mithilfe der $p\text{O}_2$ -Spektrometrie. Die, nach der BAL endotracheal abgesaugte Menge, wurde gemessen und dokumentiert. Danach wurden 0,1 ml/kgKG Ölsäure ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$, $\text{M}0282,47\text{g/mol}$, Dichte 0,9) über den PA-Katheter in einer Zeit von 30 Minuten appliziert, wobei Zielwerte des Oxygenierungsindex von kleiner 100 mmHg erreicht werden sollten. Nach der 15-minütigen Stabilisierungsphase konnte die Applikation der Ölsäure wiederholt werden, sollte sich der Oxygenierungsindex noch nicht bei den entsprechenden Werten befinden (Abb. 9).

Die erste Messung erfolgte nach der Stabilisierungsphase, die den Zeitpunkt T0 kennzeichnete (Abb. 9). Hierbei wurden eine Blutgasanalyse entnommen und das HZV, der ZVD und der pulmonalarterielle Druck bestimmt. Außerdem erfolgte die Aufzeichnung der FRC und der EIT. Bei der EIT werden mittels Elektroden, die zirkulär auf dem Thorax platziert werden, Änderungen des elektrischen Widerstands von Gewebe gemessen (Abb. 8). Da Gewebe, das Luft enthält eine höhere Impedanz aufweist als das restliche Gewebe, sind insbesondere die Ventilationsverhältnisse der Lunge gut darstellbar.

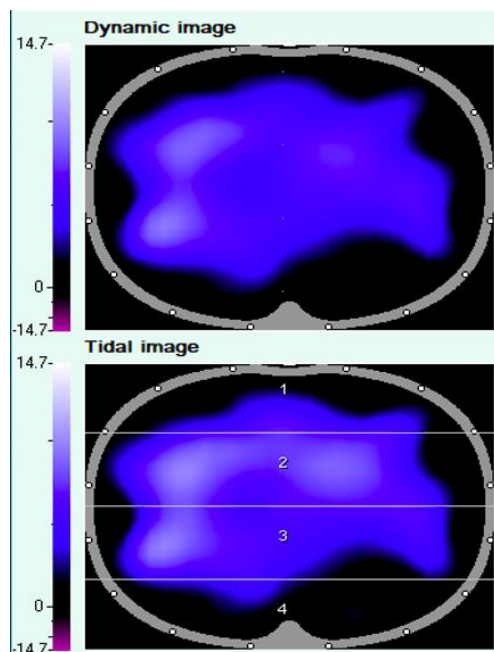


Abbildung 8: Elektrische Impedanztomographie: Schematische Darstellung des Thorax des Versuchstieres als hellgraue Umrandung, wobei die untere Bildhälfte dorsal entspricht. Die weißen Punkte stellen die platzierten Elektroden dar. Innerhalb dieses Bereichs wird schwarz als nicht belüfteter Thoraxabschnitt bewertet, blau steht für die belüfteten Bereiche.

3.2.4. Intervention

Nach einer erfolgreichen Stabilisierungsphase bekamen die Tiere entsprechend der Randomisierung die intravenöse Dosis Resveratrol verabreicht (Abb. 9). Hierbei erhielten die Tiere der low-dose Gruppe einen Bolus über 15 Minuten von 10 mg/kgKG, die Tiere der high-dose Gruppe einen Bolus über 15 Minuten von 20 mg/kgKG und die Tiere der Placebo-Gruppe eine Vehikel-Lösung. Darauf folgte eine achtstündige Beobachtungsphase, in der zu definierten Messzeitpunkten (Tab. 5) einmal pro Stunde eine BGA entnommen, das HZV, sowie der ZVD und der pulmonalarterielle Druck gemessen wurden. Ebenfalls wurden die FRC und die EIT aufgezeichnet. Zusätzlich wurden nach vier und acht Stunden venöse Serumproben für die Laboruntersuchung und Urin entnommen. Außerdem wurden paO_2 -Werte zwischen 60 und 120 mmHg und eine SpO_2 größer 92% angestrebt, die durch die Anpassung des PEEPs und der FiO_2 anhand der ARDS-Network-Tabelle (19) aufrechterhalten wurden. Durch Regulation der Atemfrequenz wurden die paCO_2 -Werte in einem Bereich zwischen 35 und 45 mmHg gehalten. Anhand der gemessenen hämodynamischen Variablen aus dem erweiterten hämodynamischen Monitoring erfolgte die differenzierte Volumen- und Katecholamintherapie, mit der die Zielwerte beibehalten wurden (MAD: 60-80 mmHg). Der Blutzuckerspiegel wurde durch die Gabe von Insulin oder Glucose bei Werten zwischen 60 und 180 mg/dl stabilisiert.

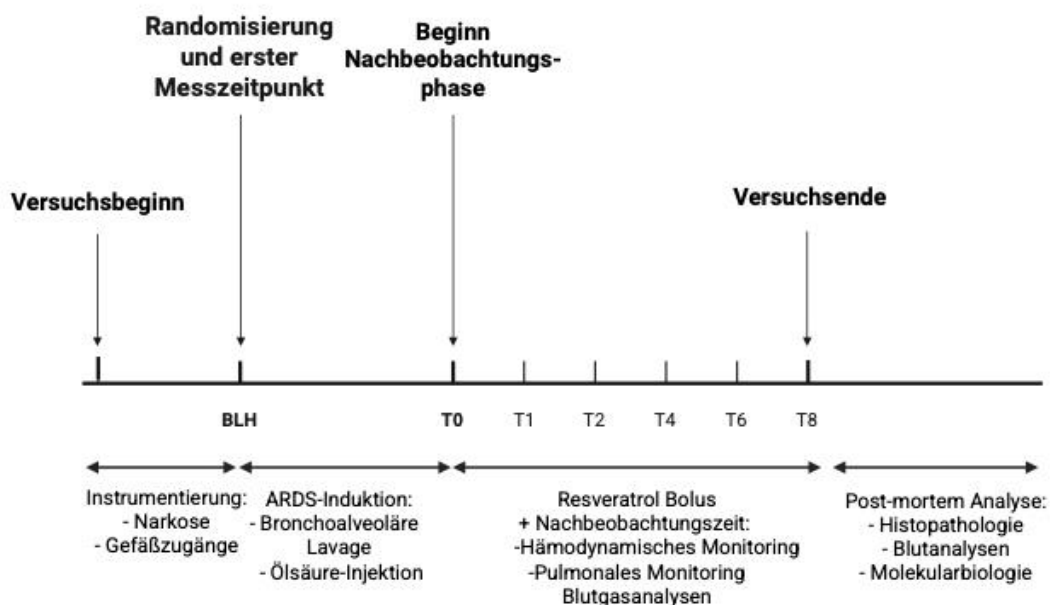


Abbildung 9: Versuchsablauf. Schematische Darstellung, die den Versuchsablauf zusammenfasst. ARDS: acute Respiratory Distress Syndrome, EIT: electrical impedance tomography. Adaptiert von "Experimental Timeline (Horizontal, Black and White)", von biorender.com (2022). Abgerufen auf: <https://app.biorender.com/biorender-templates>

Tabelle 5: Zeitpunkte und Messungen in der Nachbeobachtungszeit

ERHOBENE PARAMETER	BLH	T0	T1	T2	T4	T6	T8
SERUM	X				X		X
LABOR	X				X		X
BGA	X	X	X	X	X	X	X
HZV	X	X	X	X	X	X	X
PA-DRUCK & WEDGE-DRUCK	X	X	X	X	X	X	X
FRC	X	X	X	X	X	X	X
EIT	X	X	X	X	X	X	X
URINPROBE		X			X		X

3.2.5. Versuchsende und Organentnahme

Nach acht Stunden Beobachtungszeit wurde unter Fortführen der Narkose über den ZVK ein Bolus Propofol von 10 mg/kgKG und ein Bolus Kaliumchlorid von 2 mval/kgKG appliziert, wodurch ein Kreislaufstillstand herbeigeführt wurde. Im Anschluss wurden der Thorax und das Abdomen eröffnet und die Lunge, sowie die rechte Niere entnommen. Hieraus wurden Proben gewonnen, die molekularbiologisch aufgearbeitet wurden. Die entsprechenden Schnitte wurden in flüssigem Stickstoff für die molekularbiologische Untersuchung oder in Formalin für die histologische Untersuchung aufbewahrt. Nach der Probengewinnung wurde der rechte Lungenflügel genutzt, um Gewebe für die Wet-to-Dry-Ratio zu entnehmen. Hierbei wurde zunächst das Gewicht direkt nach der Organentnahme bestimmt. Nach 24 Stunden bei 60 Grad im Trockenschrank wurde dann das Trockengewicht bestimmt und das Verhältnis der beiden Gewichte errechnet.

3.3. Molekularbiologische Untersuchung

Die nach Versuchsende entnommenen Schnitte und die über den Versuchszeitraum gesammelten Blutproben wurden molekularbiologisch untersucht. Von Interesse war die Expression der proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-6. Dies erfolgte durch die Verwendung der real-time Polymerase-Kettenreaktion (rt-PCR) mittels des Lightcycler 480 PCR Systems (Roche Applied Science, Penzberg, Germany). Diese Methode dient der quantitativen Analyse der Genexpression der Zytokine. Hierfür wird die DNA zunächst aus den entsprechenden Gewebeproben isoliert und mittels reverser Transkription zu komplementärer DNA umgewandelt. Für das zu untersuchende Zielgen werden dann spezifische Primer verwendet. Hieran erfolgt mittels PCR eine Vervielfältigung des zu untersuchenden Materials und eine Messung durch Fluoreszenz. Während der rt-PCR kann diese in Echtzeit gemessen werden, wodurch die Amplifikation kontinuierlich überwacht wird. Die Ergebnisse der mRNA-Expression wurden dann mit vorherigen Studien verglichen und auf die Peptidylprolyl Isomerase A (PPIA) genormt.

3.4. Histologische Untersuchung

Nach Entnahme des linken Lungenflügels wurden aus dem Unterlappen Proben von ventral und dorsal mit jeweils 2 mm Länge, Breite und Tiefe angefertigt. Das Gewebe wurde in Formalin fixiert und durch das Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Mainz zu Paraffinschnitten verarbeitet. Anschließend erfolgte die Färbung der Schnitte mittels Hämatoxylin-Eosin (HE). Die gefärbten Schnitte wurden lichtmikroskopisch mittels eines etablierten Scores (47) befundet, um den entstandenen Schaden zu quantifizieren. Hierbei wurden 0-5 Punkte für das Ausmaß der jeweiligen Pathologie vergeben, wobei 0 Punkte dem physiologischen Bild entsprachen und 5 Punkte als Maximalvariante der entsprechenden Pathologie gewertet wurden. Die beurteilten Kriterien waren das Ausmaß des alveolären Ödems, des interstitiellen Ödems, der hämorrhagischen Schädigung, der Infiltration mit Immunzellen, der epithelialen Destruktion, der Mikroatelektasen und das Ausmaß der Überblähung der Lunge (Abb. 10).

Diese Kriterien wurden auf jeweils 4 Ausschnitte in 25facher Vergrößerung eines Präparats angewandt. Durch den daraus errechneten Durchschnittswert lässt sich eine Aussage über die Schädigung des Lungenparenchyms treffen. Dies wurde pro

Versuchstier jeweils für den ventralen und dorsalen Schnitt des linken Unterlappens durchgeführt und die Ergebnisse der verschiedenen Gruppen graphisch aufgetragen und miteinander verglichen.

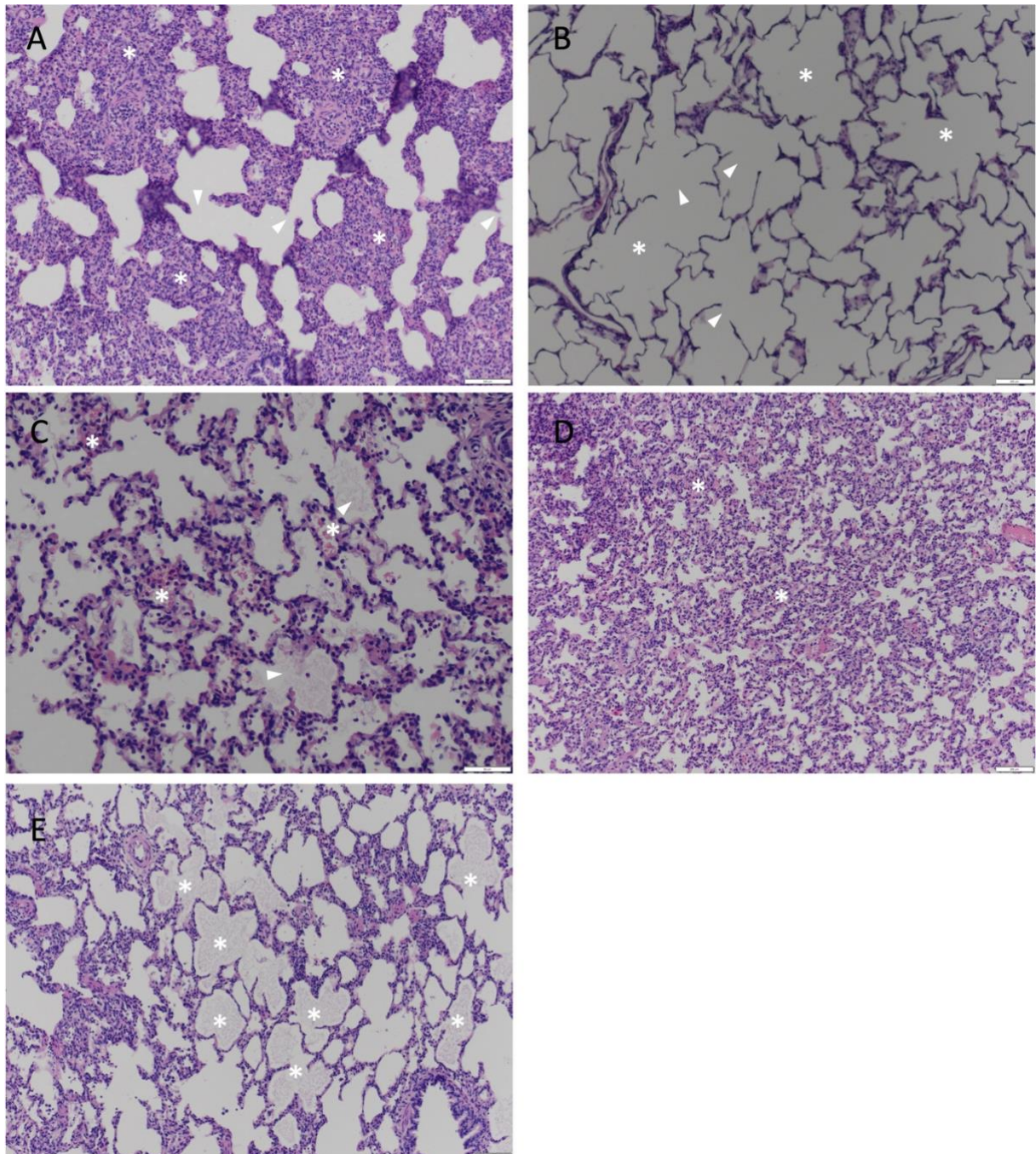


Abbildung 10: Histomorphologische Pathologien. A: dorsaler Unterlappen. * = interstitielle Infiltration und Ödem, Δ = epitheliale Destruktion; B: dorsaler Unterlappen. * = Overdistension, Δ = epitheliale Destruktion; C: ventraler Unterlappen; * = Hämorrhagie, Δ = alveoläres Ödem; D: dorsaler Unterlappen. * = Mikroatelektasen; E: ventraler Unterlappen. * = alveoläres Ödem

3.5. Statistische Analyse

Die Dokumentation und Datenverarbeitung erfolgten mittels Microsoft Excel für Mac (Version 16.84). Die statistische Analyse wurde mit der Software von SigmaPlot ausgewertet (Version 12.5, Systat Software, USA). Alle Werte werden als Mittelwert und Standardabweichung angezeigt. In Diagrammen werden die Werte als Median und Interquartilbereich dargestellt. Zum Vergleich der drei Gruppen im zeitlichen Verlauf wurde eine zweifache Varianzanalyse mittels des Verfahrens analysis of variance (ANOVA) mit wiederholter Messung durchgeführt. Ebenfalls wurde ein sukzessives Mehrfachvergleichsverfahren unter Verwendung der Student-Newman-Keuls-Methode angewandt. Bei dieser werden alle Mittelwerte nach einer Rangfolge geordnet und in Bereiche eingeteilt. Innerhalb dieser Bereiche werden der höchste und niedrigste Mittelwert miteinander verglichen. Ist hier ein signifikanter Unterschied feststellbar, kann die Nullhypothese abgelehnt werden. Die Bereiche der zu vergleichenden Mittelwerte werden immer kleiner gewählt, sodass beim Vergleich von nur noch zwei Mittelwerten und fehlendem signifikanten Unterschied von einer Annahme der Nullhypothese ausgegangen werden kann. Zur Analyse der post-mortem-Parameter, wie die molekularbiologische Untersuchung der Blutproben auf die Zytokine IL-6 und TNF- α , sowie der histologischen Schnitte, wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Hierfür werden die in den Gruppen erhobenen Daten Ränge zugeordnet und deren Summen verglichen. Ein p-Wert $<5\%$, also $p < 0,05$, wurde zur Ablehnung der Nullhypothese als statistisch signifikant akzeptiert.

Die Graphen wurden mit GraphPad Prism erstellt. Die Abbildungen wurden mit biorender.com erstellt.

4. Ergebnisse

Alle 20 Versuchstiere überlebten den achtstündigen Beobachtungszeitraum. In den drei miteinander verglichenen Gruppen waren die Bedingungen zum Versuchsbeginn identisch. Unter Kontrolle des Horovitz-Index konnte bei allen Tieren ein vergleichbarer Lungenschaden induziert werden (Abb. 11). Während des Versuchszeitraums blieb der Horovitz-Index innerhalb aller Gruppen gleichmäßig reduziert.

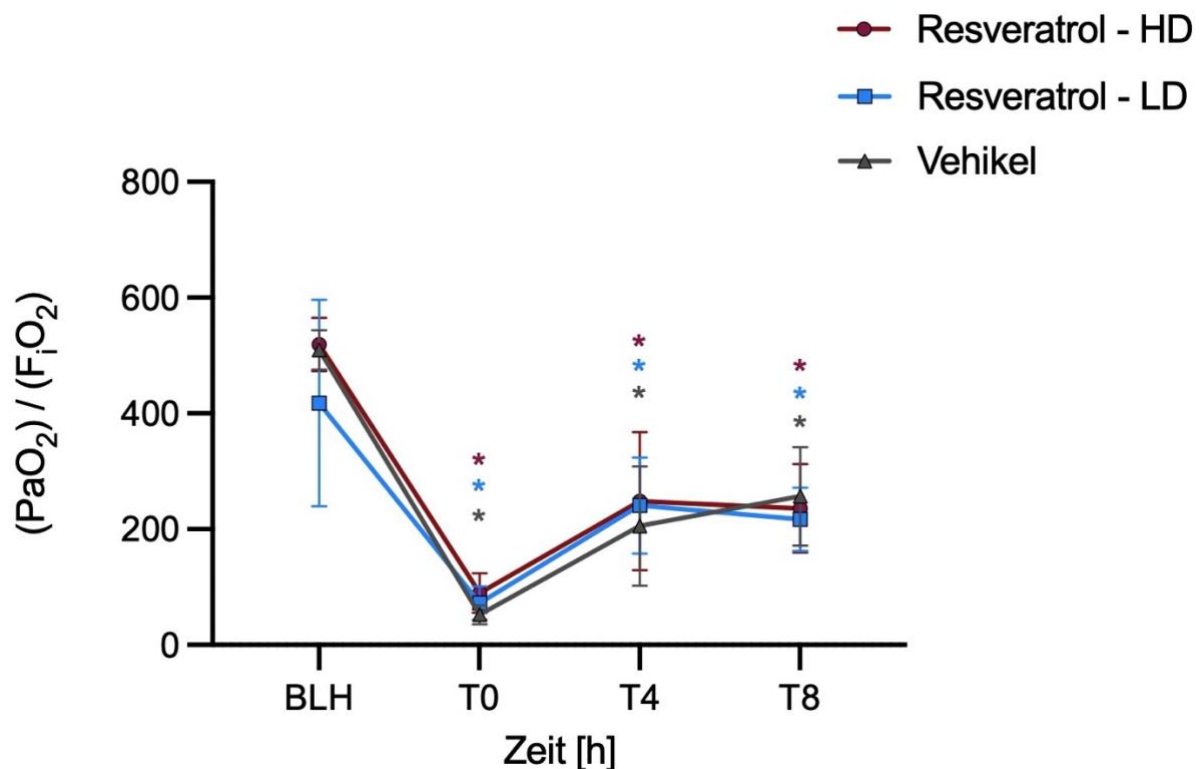


Abbildung 11: Darstellung des Horovitz-Index zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. Induktion des ARDS zwischen Baseline Healthy (BLH) und Messzeitpunkt 0 (T0). * $p < 0,05$ vs. BLH. HD = High Dose; LD = Low Dose; BLH = Baseline Healthy; T4-8 = Messzeitpunkt nach 4, beziehungsweise 8 Stunden. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

Die Auswertung der EIT zeigte keine Veränderungen.

Aus Gründen der Übersicht werden graphisch nur die Messzeitpunkt BLH, T0, T4 und T8 gezeigt.

4.1. Vitalparameter

Die gemessenen Vitalparameter zeigten bei allen Tieren zu Beginn des Versuchs vergleichbare Parameter (Tab. 6). Gemessen wurde an definierten Zeitpunkten der mittlere arterielle Druck, die Herzfrequenz, der mittlere pulmonalarterielle Druck, der zentralvenöse Druck, der Herzindex mittels cardiac output (CO), der Lungenkapillaren-Verschlussdruck (PCWP), der globale enddiastolische Volumenindex (GEDVI), der enddiastolische Lungenwasserindex (EVLWI) und die zerebrale Sauerstoffsättigung. Hierbei konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bei den gemessenen Werten des ZVD, des CO, des PCWP und des GEDVI dargestellt werden.

Die Ausgangswerte des pulmonalarteriellen Drucks zeigten zum Messzeitpunkt BLH keinen Unterschied zwischen den Gruppen.

Beim Messzeitpunkt T0 zeigte sich eine signifikante Erhöhung des Drucks in den beiden Interventionsgruppen im Vergleich zum ersten Messzeitpunkt. Der mittlere pulmonalarterielle Druck (mPAP) blieb bis zur Messung nach 4 Stunden erhöht (Abb. 12). Der mittlere arterielle Druck blieb über den Versuchszeitraum im Mittel bei allen Gruppen im Bereich zwischen 66-81 mmHg, ohne hierbei das Signifikanzniveau zu überschreiten.

In der Resveratrol Low-Dose-Gruppe konnte ein signifikanter Anstieg des MAD zum Zeitpunkt T0 nachgewiesen werden (Abb.12). Die Herzfrequenz blieb überwiegend im gleichen Bereich (Abb. 12). In den Interventionsgruppen konnte bei den Hochdosis-Tieren ein signifikanter Anstieg der Herzfrequenz zum Messzeitpunkt T0 und bei den Niedrigdosis-Tieren nach 4 Stunden festgestellt werden.

Der gemessene enddiastolische Lungenwasserindex war in allen drei Gruppen nach Induktion des ARDS signifikant erhöht. Wie in Abbildung 12 dargestellt, waren die EVLWI-Werte in der HD-Gruppe nach ARDS Induktion erhöht, zeigten aber eine sinkende Tendenz. Im Vergleich zu LD- und Vehikel-Gruppe konnte im Verlauf ein statistisch signifikant niedrigerer EVLWI bei den Tieren der HD-Gruppe festgestellt werden (Abb. 12).

In den folgenden Abbildungen sind die erhobenen Daten mit einem signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen oder Messzeitpunkten graphisch dargestellt.

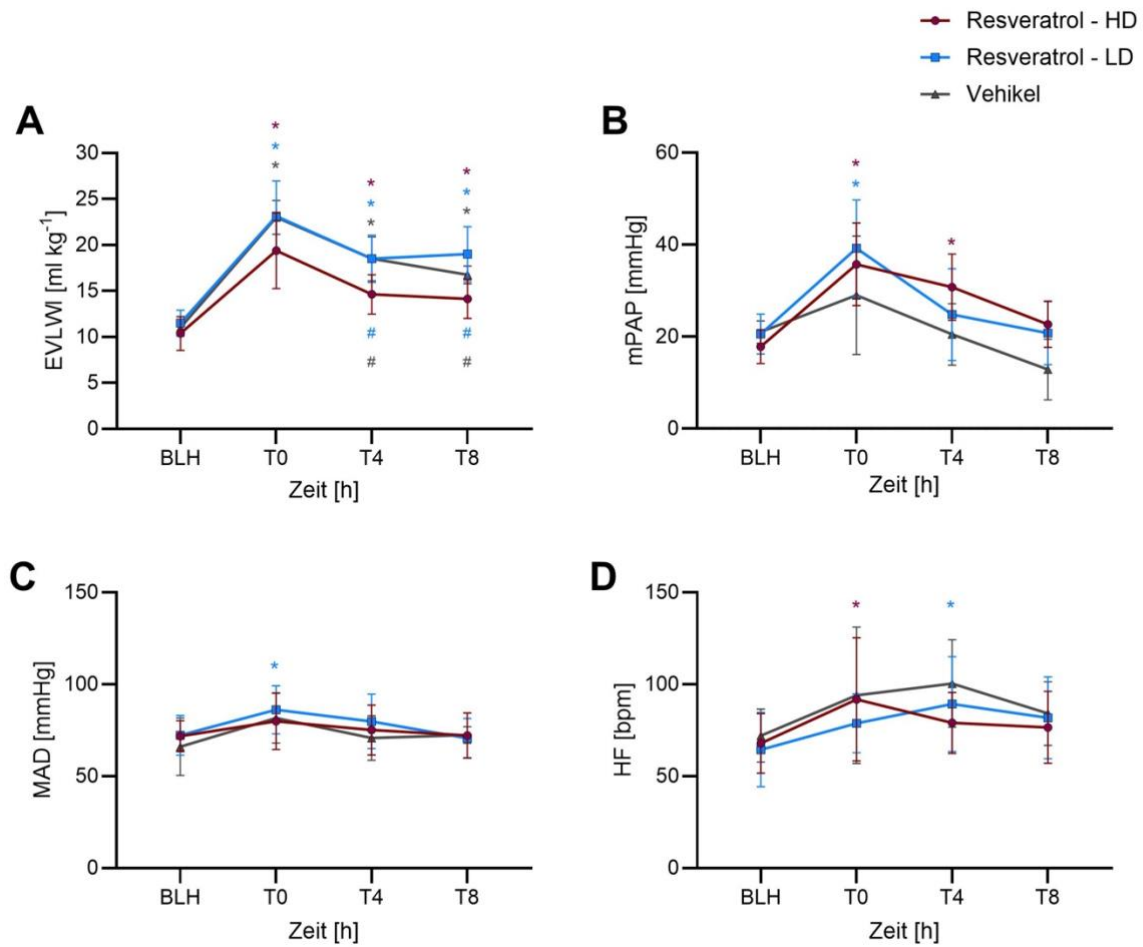


Abbildung 12: Vitalparameter. (A) Darstellung des extravaskulären Lungenwasserindex (EVLWI) zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. (B) Darstellung des mittleren pulmonalarteriellen Drucks (mPAP) zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. (C) Darstellung des mittleren arteriellen Drucks (MAD) zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. (D) Darstellung der Herzfrequenz (HF) zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. Induktion des ARDS zwischen Baseline Healthy (BLH) und Messzeitpunkt 0 (T0). * $p < 0,05$ vs. BLH. # $p < 0,05$ vs. Resveratrol HD (High Dose); LD = Low Dose; T4-8 = Messzeitpunkt nach 4, beziehungsweise 8 Stunden. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

Tabelle 6: Vitalparameter.

Parameter	Group	BLH MW (SD)	T0 MW (SD)	T4 MW (SD)	T8 MW (SD)
MAD [mmHg]	Resveratrol - HD	71 (7)	79 (14)	75 (12)	72 (11)
	Resveratrol - LD	72 (10)	86 (12)*	79 (13)	70 (9)
	Vehikel	66 (13)	81 (11)	70 (10)	72 (4)
HF [min ⁻¹]	Resveratrol - HD	67 (15)	91 (31)*	79 (15)	76 (18)
	Resveratrol - LD	64 (18)	78 (14)	89 (24)*	81 (20)
	Vehikel	72 (12)	94 (32)	100 (20)	84 (15)
mPAP [mmHg]	Resveratrol - HD	17 (3)	35 (8)*	30 (6)*	22 (4)
	Resveratrol - LD	20 (3)	39 (9)*	24 (9)	20 (6)
	Vehikel	21 (2)	29 (10)	20 (5)	12 (4)
ZVD [mmHg]	Resveratrol - HD	7 (2)	8 (2)	7 (1)	8 (1)
	Resveratrol - LD	9 (2)	9 (1)	8 (1)	8 (1)
	Vehikel	10 (1)	9 (2)	9 (1)	9 (2)
CO [l min ⁻¹]	Resveratrol - HD	3,0 (0,5)	2,8 (0,6)	3,0 (0,5)	3,0 (0,7)
	Resveratrol - LD	3,1 (0,6)	3,0 (0,5)	3,0 (0,4)	3,0 (0,5)
	Vehikel	2,9 (0,3)	3,1 (0,4)	3,2 (0,8)	3,2 (0,6)
PCWP [mmHg]	Resveratrol - HD	11 (3)	19 (7)	10 (2)	8 (3)
	Resveratrol - LD	15 (2)	20 (6)	11 (1)	12 (1)
	Vehikel	11 (2)	18 (4)	16 (4)	12 (1)
GEDVI [ml m ⁻²]	Resveratrol - HD	531 (127)	496 (89)	475 (75)	466 (62)
	Resveratrol - LD	537 (79)	497 (77)	492 (98)	498 (75)
	Vehikel	539 (74)	502 (126)	460 (89)	462 (76)
EVLWI [ml kg ⁻¹]	Resveratrol - HD	10,3 (1,7)	19,3 (3,8)*	14,6 (1,9)*	14,1 (1,9)*
	Resveratrol - LD	11,5 (1,3)	23,1 (1,5)*	18,5 (2,3)*/#	19,0 (2,7)*/#
	Vehikel	11,0 (0,7)	23,0 (1,5)*	18,5 (2,0)*/#	16,7 (0,8)*/#
ScO₂ [%]	Resveratrol - HD	62 (6)	48 (11)*	52 (11)	53 (8)
	Resveratrol - LD	65 (6)	44 (10)*	57 (13)	58 (5)
	Vehikel	62 (6)	35 (17)*	54 (10)	60 (6)

* p <0,05 vs. BLH.

p <0,05 im Gruppenvergleich.

MAD: mittlerer arterieller Druck; **HF:** Herzfrequenz; **mPAP:** mean arterial pulmonary pressure; **CO:** cardiac output; **PCWP:** pulmonary capillary wedge pressure; **GEDVI:** global enddiastolic volume index; **EVLWI:** enddiastolic lung water index; **ZVD:** zentraler Venendruck; **ScO₂:** cerebral oxygen saturation; **HD:** high-dose; **LD:** low-dose; **BLH:** Base Line Healthy; **T0-8:** Messzeitpunkt nach 0, 4, 8 Stunden

4.2. Katecholaminlaufrate

Die Versuchstiere bekamen je nach Bedarf während des Versuchs Katecholamine zur Kreislaufunterstützung. Hierfür wurde Noradrenalin über einen Perfusor verabreicht. Es konnte beobachtet werden, dass alle Versuchsgruppen nach der ARDS-Induktion eine signifikant höhere Laufrate hatten, als zum Zeitpunkt der BLH-Messung. Hierbei war der Bedarf an Katecholaminen bei den Tieren der beiden Interventionsgruppen niedriger als in der Vehikelgruppe. Die Laufrate blieb in der Vehikelgruppe signifikant erhöht, wohingegen sich die Interventionsgruppen stabilisierten. Der Katecholaminbedarf näherte sich dem Ausgangsniveau zum Zeitpunkt der BLH-Messung an und es war kein signifikanter Unterschied mehr messbar. Zum Zeitpunkt T4 konnte beobachtet werden, dass in der High-Dose Gruppe die Laufrate signifikant niedriger war als in der Vehikelgruppe (Abb. 13).

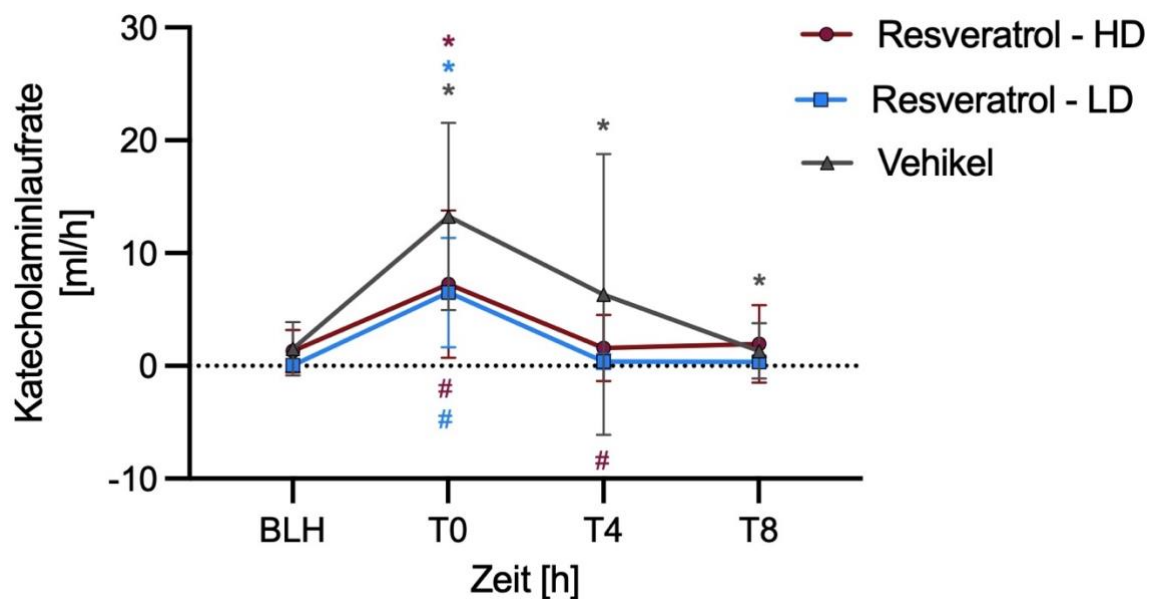


Abbildung 13: Darstellung der Laufrate der Katecholamine zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. Induktion des ARDS zwischen Baseline Healthy (BLH) und Messzeitpunkt 0 (T0). * $p < 0,05$ vs. BLH. # $p < 0,05$ vs. Vehikel; HD = High Dose; LD = Low Dose; BLH = Baseline Healthy; T4-8 = Messzeitpunkt nach 4, beziehungsweise 8 Stunden. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

4.3. Beatmungsparameter

Im Gruppenvergleich ist zu sehen, dass sich die Werte zu Beginn des Versuchs auf einem vergleichbaren Niveau befanden. An der alveolar-arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz ($AaDO_2$) ließ sich in allen Gruppen ein signifikanter Unterschied zur BLH zwischen den Messzeitpunkten zeigen (Abb. 14). Hierbei war die gemessene $AaDO_2$ nach ARDS-Induktion am Messzeitpunkt T0 sowohl in den Interventionsgruppen als auch der Vergleichsgruppe am höchsten. Die weiteren Messwerte zeigten im Verlauf eine Reduktion der $AaDO_2$, allerdings keinen Rückgang auf das Ausgangsniveau und keinen Gruppenunterschied. Die FRC lag zu Beginn des Versuchs in alle Gruppen im Bereich zwischen 500 und 691 ml. Nach der Induktion des Lungenschadens fielen die Werte in den drei Gruppen statistisch signifikant auf Werte zwischen 194 und 333 ml (Tab. 7). Die Tiere der Hochdosis-Interventionsgruppe zeigten zum Messzeitpunkt T8 eine höhere FRC als zum Zeitpunkt BLH, sodass ein statistisch signifikanter Unterschied im Gruppenvergleich abgebildet werden konnte (Abb. 14).

Die inspiratorische Sauerstofffraktion (FiO_2) war bei allen Tieren nach ARDS-Induktion für den restlichen Verlauf des Versuchs signifikant (Tab. 7) erhöht. Die gemessene Sauerstoffsättigung nahm in der Low-Dose Gruppe und den Tieren der Kontrollgruppe nach ARDS-Induktion statistisch signifikant ab, in der High-Dose Gruppe blieben die Werte ähnlich den zu Beginn gemessenen (Tab. 7).

Der inspiratorische Spitzendruck, der mittlere Atemwegsdruck und der positive endexpiratorische Druck erhöhten sich nach ARDS-Induktion statistisch signifikant zur BLH-Messung. Das Tidalvolumen blieb während des Versuchszeitraums unverändert (Tab. 7). Das Atemminutenvolumen zeigte in allen drei Gruppen zum Messzeitpunkt T0 höhere Werte an. In der LD-Gruppe konnte zusätzlich ein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu HD für T4 und T8 gezeigt werden (Abb. 14).

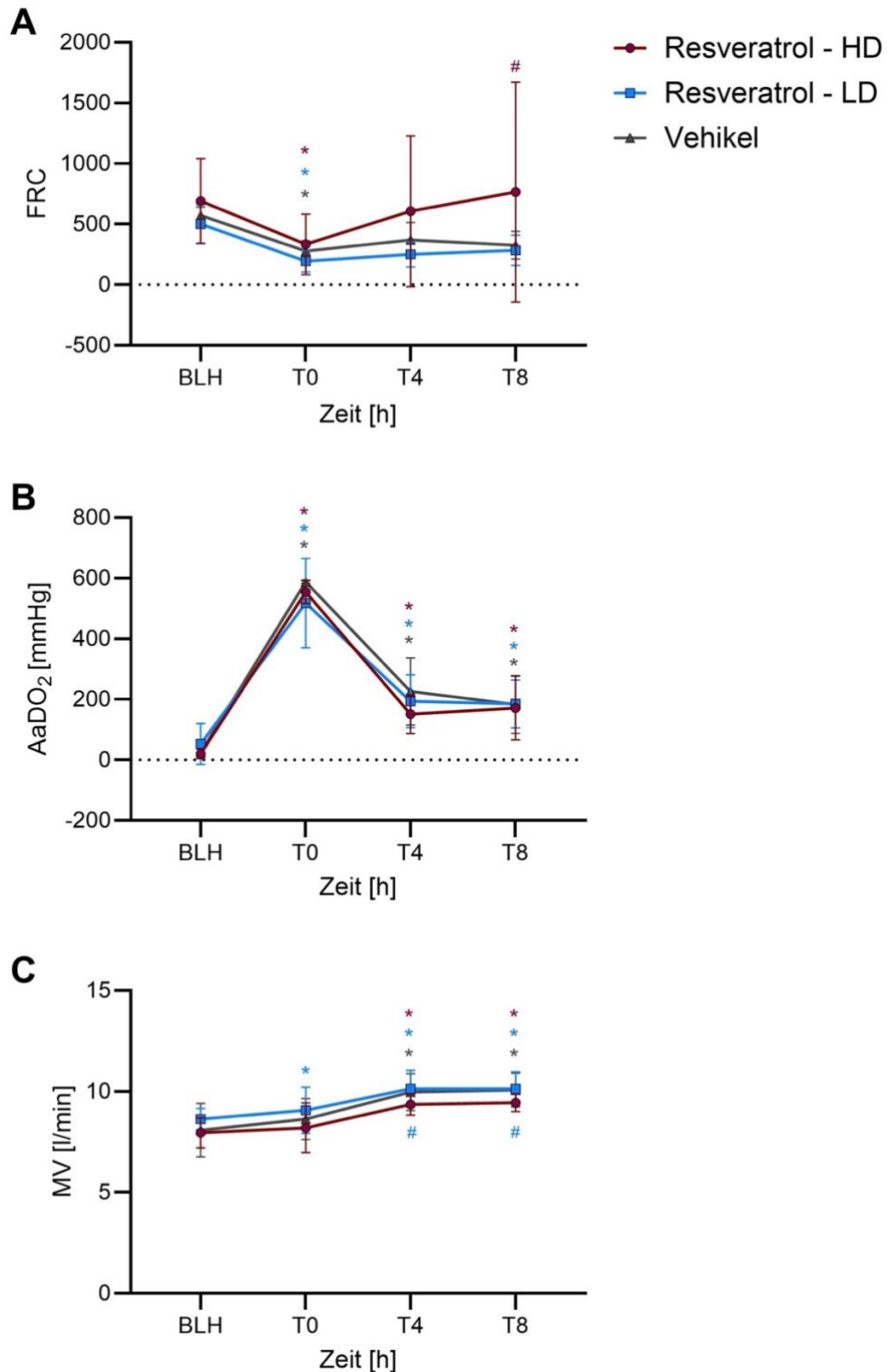


Abbildung 14: Beatmungsparameter. (A) Darstellung der funktionellen Residualkapazität (FRC) zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. (B) Darstellung der alveolar-arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz (AaDO₂) zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. (C) Darstellung des Minutenvolumens zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. Induktion des ARDS zwischen Baseline Healthy (BLH) und Messzeitpunkt 0 (T0). * $p < 0,05$ vs. BLH. # $p < 0,05$ vs. Resveratrol LD (Low Dose) o. HD (High Dose) & Vehikel; T4-8 = Messzeitpunkt nach 4, beziehungsweise 8 Stunden. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

Tabelle 7: Beatmungsparameter.

Parameter	Group	BLH	T0	T4	T8
		MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)
SpO₂ [%]	Resveratrol - HD	99 (0)	91 (5)	95 (3)	96 (2)
	Resveratrol - LD	100 (0)	80 (7)*/#	97 (1)*	97 (1)*
	Vehikel	99 (0)	70 (17)*/#	96 (3)*	87 (18)*
FiO₂ [%]	Resveratrol - HD	40 (0)	100 (0.5)*	50 (10)*	45 (5)*
	Resveratrol - LD	40 (0)	100 (0.5)*	55 (12)*	50 (10)*
	Vehikel	40 (0)	100 (0.5)*	55 (11)*	50 (13)*
PaO₂/FiO₂ [mmHg]	Resveratrol - HD	519 (43)	89 (31)*	248 (111)*	235 (71)*
	Resveratrol - LD	417 (166)	72 (26)*	240 (77)*	217 (51)*
	Vehikel	509 (29)	52 (14)*	205 (89)*	256 (73)*
AaDO₂ [mmHg]	Resveratrol - HD	20 (14)	554 (35)*	151 (59)*	171 (98)*
	Resveratrol - LD	52 (63)	517 (137)*	193 (76)*	185 (73)*
	Vehikel	24 (10)	588 (5)*	225 (95)*	182 (82)*
FRC [ml]	Resveratrol - HD	691 (326)	333 (232)*	606 (581)	764 (848)
	Resveratrol - LD	500 (150)	194 (82)*	251 (96)	284 (117)#
	Vehikel	572 (58)	278 (71)*	368 (125)	326 (98)#
MV [l min ⁻¹]	Resveratrol - HD	8 (1)	9 (0.5)	9,5 (0,5)*	9,5 (0,5)*
	Resveratrol - LD	8,5 (0,5)	9,5 (1)*	10,5 (1)*/#	10,5 (1)*/#
	Vehikel	8 (1)	9 (0,5)	10 (1)*	10 (1)*
TV [ml kg ⁻¹]	Resveratrol - HD	6,1 (0,6)	6,0 (0,5)	6,3 (0,7)	6,3 (0,6)
	Resveratrol - LD	6,0 (0,2)	6,1 (0,2)	6,1 (0,2)	6,1 (0,2)
	Vehikel	6,5 (0,9)	6,7 (1,0)	6,3 (0,5)	6,3 (0,5)
Ppeak [mbar]	Resveratrol - HD	17 (1)	32 (3)*	28 (1)*	27 (3)*
	Resveratrol - LD	17 (1)	32 (5)*	29 (3)*	28 (3)*
	Vehikel	17 (1)	32 (2)*	29 (3)*	28 (4)*
Pmean [mbar]	Resveratrol - HD	8 (0.5)	13 (1)*	15 (2)*	14 (2)*
	Resveratrol - LD	8 (0.5)	13 (2)*	15 (2)*	14 (2)*
	Vehikel	8 (0.5)	12 (1)*	15 (1)*	13 (3)*
PEEP [cm H ₂ O]	Resveratrol - HD	5 (0)	11 (2)*	8 (2)*	7 (0)*
	Resveratrol - LD	5 (0)	11 (1)*	9 (2)*	8 (1)*
	Vehikel	5 (0)	12 (1)*	8 (1)*	7 (2)*

* p <0,05 vs. BLH.

p <0,05 im Gruppenvergleich.

S_pO₂: Sauerstoffsättigung; **AaDO₂**: alveolo-arterial oxygen difference; **PaO₂**: arterieller Sauerstoffpartialdruck; **F_iO₂**: fraction of inspired oxygen; **PaO₂/F_iO₂**: oxygen index; **FRC**: functional residual capacity; **MV**: minute volume; **TV**: tidal volume; **P_{peak}**: peak inspiratory pressure; **P_{mean}**: mean airway pressure; **PEEP**: positive end-expiratory pressure; **HD**: high-dose; **LD**: low-dose; **BLH**: Base Line Healthy; **T0-8**: Messzeitpunkt nach 0, 4, 8 Stunden

4.4. Blutgasanalyse und Blutwerte

Die in der BGA erhobenen Werte zeigten zu Beginn des Versuchs Normwerte in allen Gruppen. Zum Messzeitpunkt T0 lag der pH-Wert der Tiere der HD-Gruppe grenzwertig im unteren Normbereich, bei den Tieren der LD- und Vehikelgruppe im azidotischen Bereich. Die nachfolgenden pH-Wert Bestimmungen zeigten eine Normalisierung des Werts über den weiteren Verlauf. Der Base Excess (BE) blieb über den Versuchszeitraum unauffällig bis auf eine signifikante Erhöhung in der LD-Gruppe zum Messzeitpunkt T8. Bei Betrachtung der Blutgase paO₂ und paCO₂ fällt auf, dass zum Zeitpunkt T0 der arterielle Sauerstoffpartialdruck in allen Gruppen statistisch signifikant abgenommen hat, während der arterielle Kohlendioxidpartialdruck zum gleichen Zeitpunkt signifikant gruppenübergreifend ansteigt. Der PaO₂ blieb in der HD-Gruppe über den Versuchszeitraum weiterhin erniedrigt (Abb. 15). Beim PaCO₂ konnte nach T0 eine Erhöhung in der LD-Gruppe nach 4 Stunden festgestellt werden (Abb. 16).

Die gemessenen Glucose Werte zeigten keinen nennenswerten Auffälligkeiten (Tab. 8). Die Lactat-Werte waren zum Messzeitpunkt T4 und T8 in der Vehikel-Gruppe statistisch signifikant erniedrigt. Dieser Effekt war auch in der LD-Gruppe nach 8 Stunden zu beobachten (Tab. 8). Die gemessenen Kaliumwerte waren in allen Versuchsgruppen jederzeit im Normbereich. Zum Zeitpunkt T4 waren die Kaliumwerte im Vergleich zum Ausgangswert signifikant höher, ohne dass es Unterschiede zwischen den Gruppen gab. In der HD- und Vehikel-Gruppe war dies auch zum Messzeitpunkt nach 8 Stunden zu beobachten (Tab. 8).

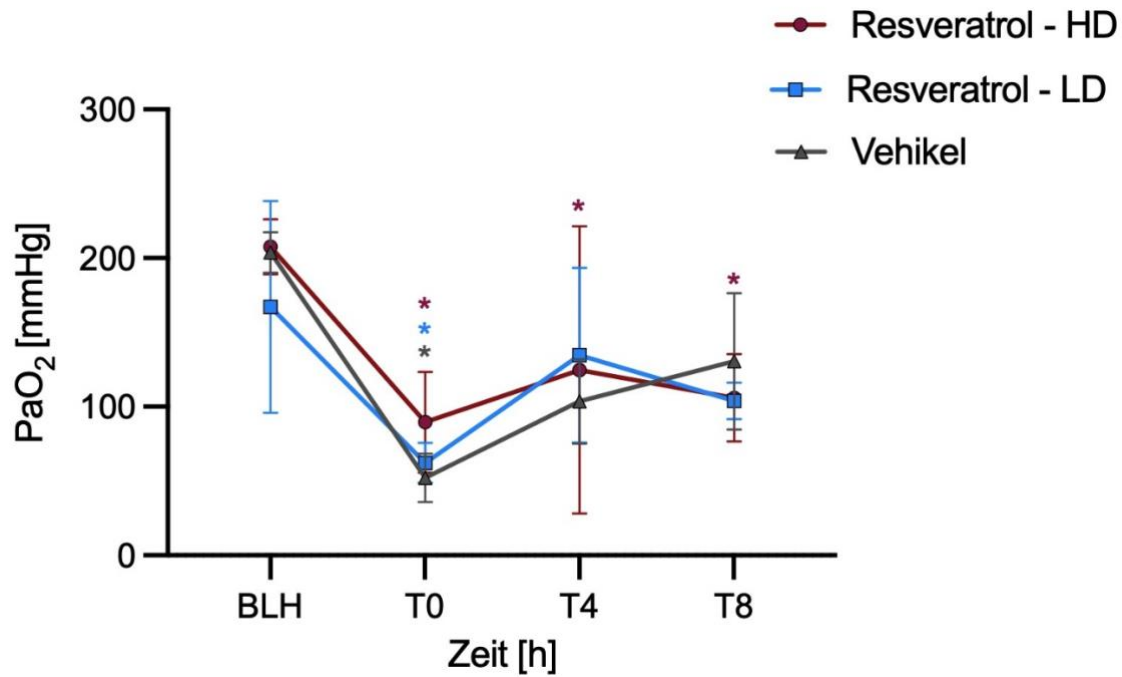


Abbildung 15: Darstellung des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks (PaO_2) zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. Induktion des ARDS zwischen Baseline Healthy (BLH) und Messzeitpunkt 0 (T0). * $p < 0,05$ vs. BLH. HD = High Dose; LD = Low Dose; BLH = Baseline Healthy; T4-8 = Messzeitpunkt nach 4, beziehungsweise 8 Stunden. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

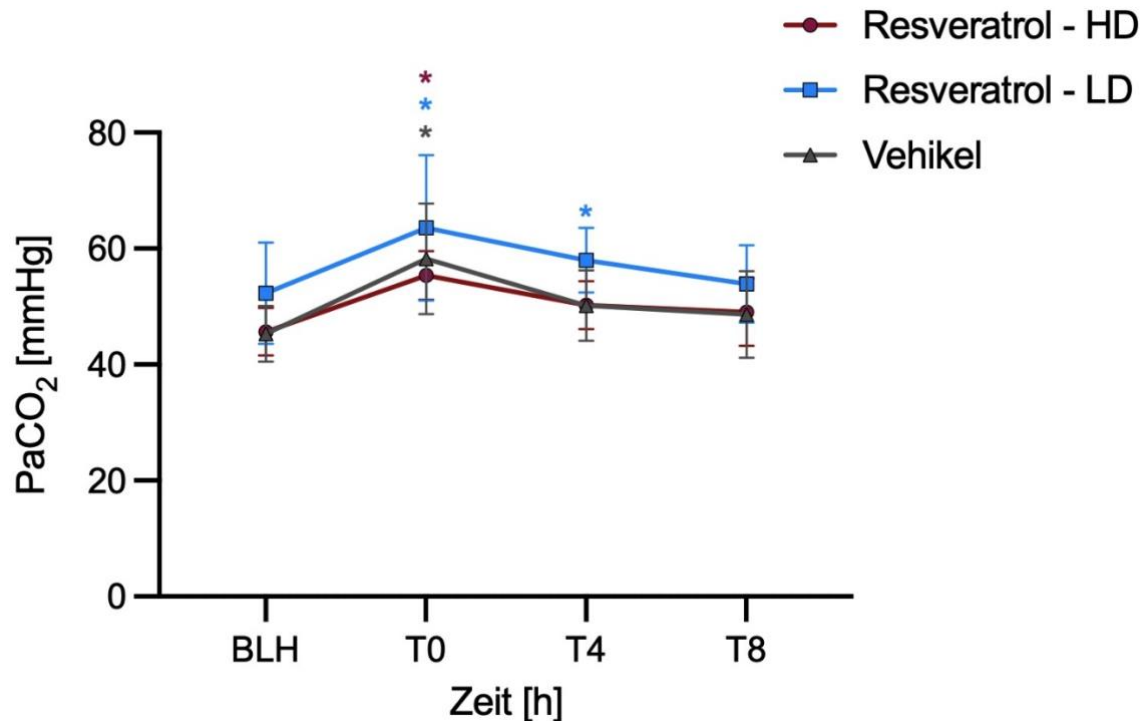


Abbildung 16: Darstellung des arteriellen Kohlendioxidpartialdrucks (PaCO_2) zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. Induktion des ARDS zwischen Baseline Healthy (BLH) und Messzeitpunkt 0 (T0). * $p < 0,05$ vs. BLH. HD = High Dose; LD = Low Dose; BLH = Baseline Healthy; T4-8 = Messzeitpunkt nach 4, beziehungsweise 8 Stunden. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

Tabelle 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutgasanalyse zu den Zeitpunkten BLH, T0, T4 und T8 im Vergleich zwischen den Gruppen.

Parameter	Gruppe	BLH MW (SD)	T0 MW (SD)	T4 MW (SD)	T8 MW (SD)
pH	Resveratrol - HD	7,46 (0,04)	7,36 (0,02)*	7,43 (0,05)	7,44 (0,05)
	Resveratrol - LD	7,41 (0,06)	7,30 (0,06)*	7,37 (0,03)	7,42 (0,04)
	Vehikel	7,44 (0,02)	7,32 (0,03)*	7,41 (0,03)	7,45 (0,03)
BE [mmol l ⁻¹]	Resveratrol - HD	8,1 (2,2)	5,5 (1,9)	8,5 (3,2)	9,4 (2,3)
	Resveratrol - LD	7,8 (2,3)	4,6 (2,1)	8,5 (1,4)	10,6 (1,3)*
	Vehikel	6,8 (2,4)	3,6 (3,1)	7,1 (4,6)	9,3 (2,8)
PaCO₂ [mmHg]	Resveratrol - HD	45,6 (3,8)	55,4 (3,9)*	50,2 (38)	49,0 (5,4)
	Resveratrol - LD	52,3 (8,1)	63,5 (11,7)*	57,9 (5,2)*	53,9 (6,2)
	Vehikel	45,3 (4,1)	58,2 (8,2)*	50,1 (5,2)	48,6 (6,4)
PaO₂ [mmHg]	Resveratrol - HD	207 (17)	89 (31)*	124 (90)*	105 (27)*
	Resveratrol - LD	167 (66)	62 (12)*	134 (54)	103 (11)
	Vehikel	203 (11)	52 (14)*	103 (24)	130 (39)
Glucose [mg dl ⁻¹]	Resveratrol - HD	100 (8)	132 (19)	119 (34)	110 (42)
	Resveratrol - LD	104 (15)	141 (22)	99 (12)	99 (21)
	Vehikel	109 (9)	152 (15)	110 (25)	96 (9)
Lactat [mmol l ⁻¹]	Resveratrol - HD	0,72 (0,09)	0,99 (0,38)	0,80 (0,22)	0,61 (0,18)
	Resveratrol - LD	0,88 (0,23)	1,64 (0,97)	0,66 (0,18)	0,55 (0,15)*
	Vehikel	1,28 (0,54)	2,28 (0,99)	0,83 (0,17)*	0,53 (0,08)*
Kalium [mmol l ⁻¹]	Resveratrol - HD	3,9 (0,2)	4,3 (0,2)	5,0 (0,6)*	4,6 (0,7)*
	Resveratrol - LD	4,0 (0,1)	4,2 (0,3)	4,7 (0,5)*	4,4 (0,3)
	Vehikel	4,0 (0,1)	4,1 (0,2)	4,9 (0,2)*	4,9 (0,5)*
* p < 0,05 vs. BLH.					
# p < 0,05 im Gruppenvergleich.					
BE: base excess; PaCO₂: arterieller Kohlendioxidpartialdruck; PaO₂: arterieller Sauerstoffpartialdruck; HD: high-dose; LD: low-dose; BLH: Base Line Healthy; T0-8: Messzeitpunkt nach 0, 4, 8 Stunden					

Die Leukozyten waren zu Beginn des Versuchs auf einem vergleichbaren Niveau und zeigten im Verlauf eine leicht steigende Tendenz in allen Gruppen. Hierbei stiegen die Leukozytenzahlen in der High-Dose Gruppe zum Zeitpunkt T0 im Vergleich zum Ausgangswert und den anderen Gruppen statistisch signifikant (Tab. 9). Das gemessene Hämoglobin blieb in einem Bereich. In der HD- und Vehikel-Gruppe konnten zum Zeitpunkt T4 signifikante Erhöhungen gemessen werden, wobei die Werte 8 Stunden nach ARDS-Induktion sanken. Die Thrombozytenzahl nahm über den Versuchszeitraum signifikant ab, ohne dass Unterschiede im Gruppenvergleich beobachtet werden konnten. Das CRP nahm in allen Gruppen über die Zeit nach Induktion des Lungenschadens zu. Hierbei konnte in allen Gruppen eine signifikante Erhöhung zum Messzeitpunkt T8 im Vergleich zum Ausgangswert gezeigt werden (Abb. 17).

Die gemessenen Kreatinin- als auch Harnstoffwerte erhöhten sich Verlauf. Kreatinin zeigte eine signifikante Erhöhung in der Vehikel-Gruppe zum Messzeitpunkt T8. Die Harnstoffwerte stiegen in der HD-Gruppe bereits nach 4 Stunden im Vergleich zur BLH-Messung signifikant. Dieser Effekt zeigte sich nach 8 Stunden in allen Gruppen ohne einen Unterschied im Gruppenvergleich.

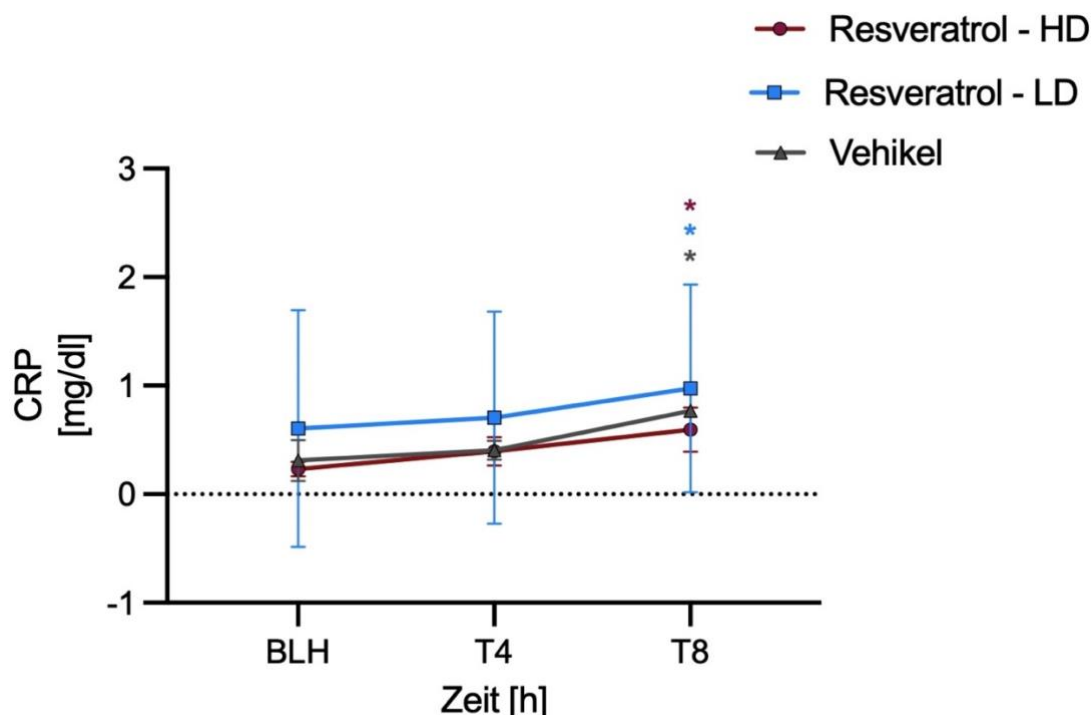


Abbildung 17: Darstellung des C-reaktiven Proteins (CRP) zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des Mittelwerts. Induktion des ARDS zwischen Baseline Healthy (BLH) und Messzeitpunkt 0 (T0). * $p < 0,05$ vs. BLH. HD = High Dose; LD = Low Dose; BLH = Baseline Healthy; T4-8 = Messzeitpunkt nach 4, beziehungsweise 8 Stunden. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

Tabelle 9: Mittelwerte und Standardabweichungen der laborchemisch bestimmten Blutwerte zu den Zeitpunkten BLH, T0, T4 und T8 im Vergleich zwischen den Gruppen.

Parameter	Gruppe	BLH MW (SD)	T4 MW (SD)	T8 MW (SD)
Leukozyten [g/l]	Resveratrol - HD	12,8 (4,4)	24,4 (5,7)*/#	20,3 (7,6)
	Resveratrol - LD	11,2 (2,8)	16,4 (4,1)	16,0 (4,3)
	Vehikel	10,5 (3,4)	13,0 (1,9)	15,6 (2,7)
Hämoglobin [g/dl]	Resveratrol - HD	9,3 (0,8)	10,3 (1,3)*	9,5 (0,8)
	Resveratrol - LD	9,6 (0,6)	10,4 (0,9)	9,9 (0,9)
	Vehikel	8,8 (0,4)	10,7 (0,9)*	9,5 (0,6)
Thrombozyten [1000/ μ l]	Resveratrol - HD	360 (75)	269 (101)*	320 (38)*
	Resveratrol - LD	330 (75)	249 (82)*	250 (76)*
	Vehikel	338 (85)	238 (59)*	241 (55)*
CRP [mg/dl]	Resveratrol - HD	0,23 (0,06)	0,39 (0,12)	0,59 (0,18)*
	Resveratrol - LD	0,60 (1,01)	0,70 (0,91)	0,97 (0,89)*
	Vehikel	0,31 (0,16)	0,40 (0,07)	0,76 (0,04)*
Kreatinin [mg/dl]	Resveratrol - HD	1,02 (0,09)	1,13 (0,17)	1,25 (0,28)
	Resveratrol - LD	0,99 (0,16)	1,07 (0,22)	1,17 (0,30)
	Vehikel	1,15 (0,15)	1,10 (0,14)	1,52 (0,75)*
Harnstoff [mg/dl]	Resveratrol - HD	8,1 (1,6)	9,6 (2,0)*	12,1 (2,3)*
	Resveratrol - LD	8,3 (2,2)	9,2 (3,5)	10,7 (4,1)*
	Vehikel	7,5 (1,5)	8,5 (1,5)	12,5 (2,6)*
* p < 0,05 vs. BLH.				
# p < 0,05 im Gruppenvergleich.				
CRP: C-reaktives Protein; HD: high-dose; LD: low-dose; BLH: Base Line Healthy; T0-8: Messzeitpunkt nach 0, 4, 8 Stunden				

4.5. Molekularbiologische Parameter

4.5.1. Interleukin-6

Es wurde kein signifikanter Unterschied der mRNA-Expression von IL-6 in der Lunge als auch in der Niere zwischen den Gruppen festgestellt (Abb. 18, Abb. 19).

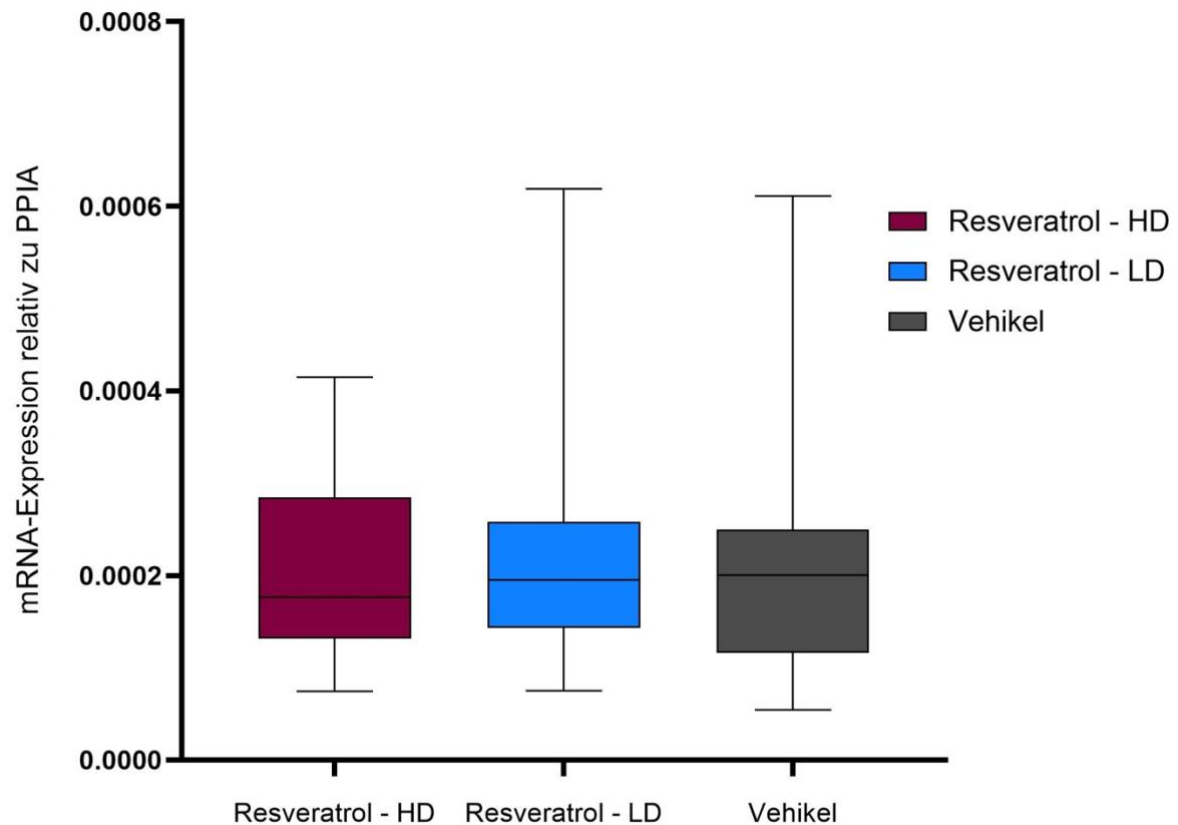


Abbildung 18: Graphische Darstellung der mRNA-Expression von Interleukin-6 in der Lunge normalisiert zur Peptidylprolyl Isomerase A. HD = High-Dose LD = Low-Dose. HD-Gruppe, LD-Gruppe: n = 8; Vehikel-Gruppe: n = 4.

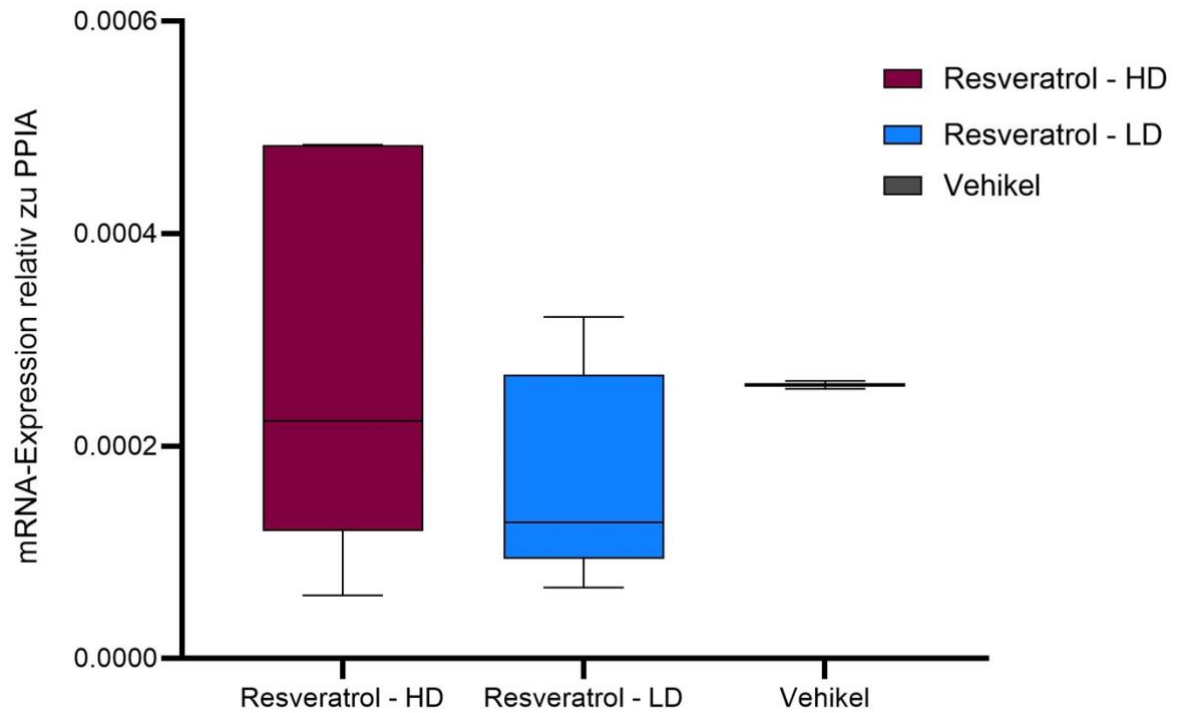


Abbildung 19: Graphische Darstellung der mRNA-Expression von Interleukin-6 in der Niere normalisiert zur Peptidylprolyl Isomerase A (PPIA). HD = High-Dose LD = Low-Dose. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

4.5.2. TNF- α

Die Expression von TNF- α in den Lungenproben der Hochdosis-Gruppe war gegenüber den Proben der anderen Gruppen statistisch signifikant ($p < 0,05$ HD vs. LD & Vehikel) erniedrigt (Abb. 20). In den Proben, die aus der Niere entnommen wurden, konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (Abb. 21).

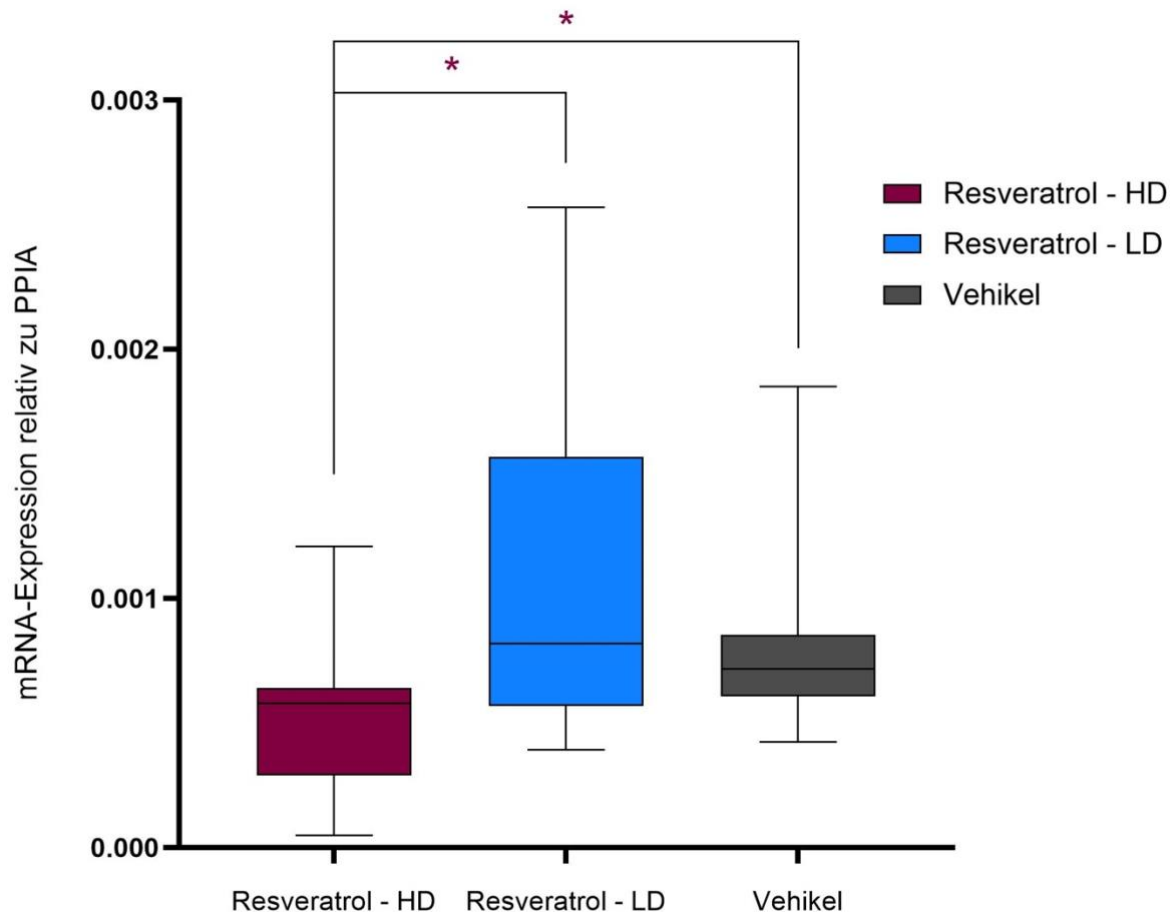


Abbildung 20: Graphische Darstellung der mRNA-Expression von TNF-alpha in der Lunge normalisiert zur Peptidylprolyl Isomerase A (PPIA). * $p < 0,05$ High-Dose Gruppe (HD) vs. Low-Dose Gruppe (LD) und Vehikel. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

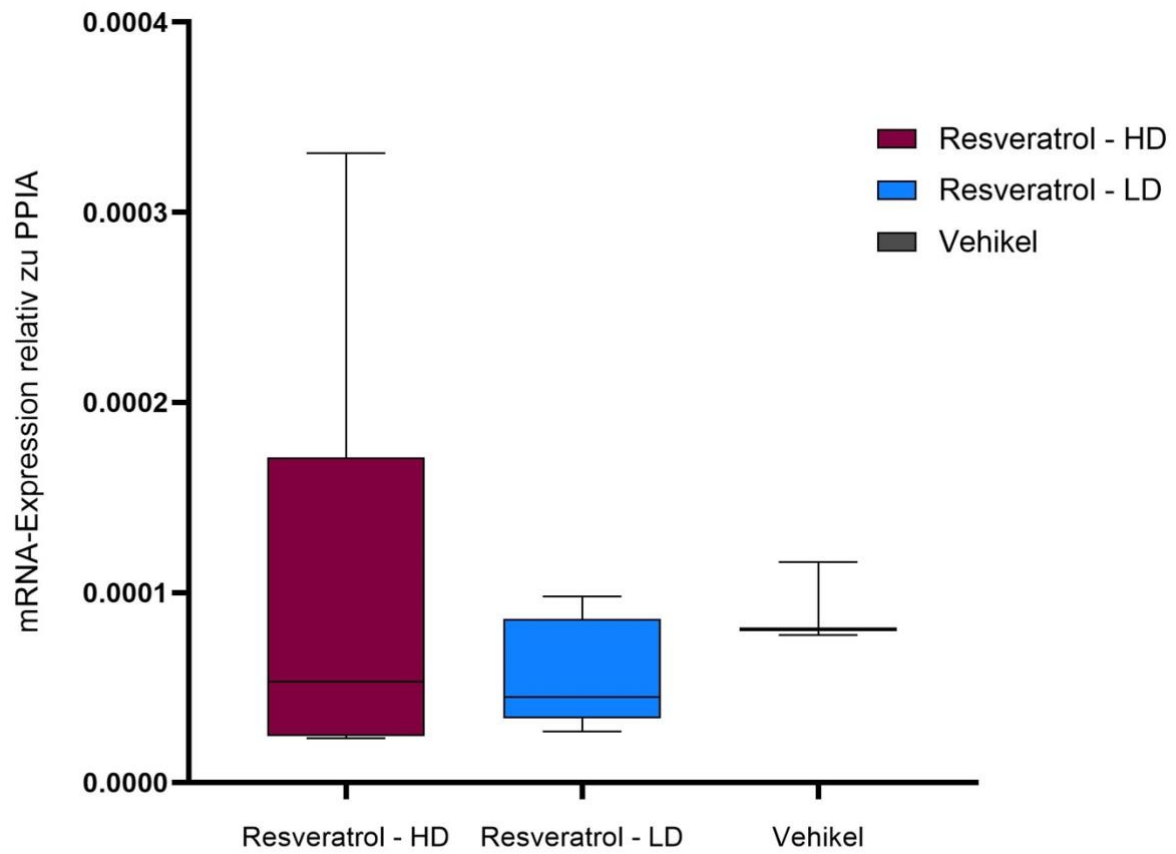


Abbildung 21: Graphische Darstellung der mRNA-Expression von *TNF-alpha* in der Niere normalisiert zur Peptidylprolyl Isomerase A (PPIA). HD = High-Dose; LD = Low-Dose. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

4.6. Wet-to-dry Ratio

Nach Versuchsende wurde der rechte Lungenflügel entnommen und zur Bestimmung der Wet-to-dry Ratio genutzt. Dies führte zu keinem statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (Abb. 22).

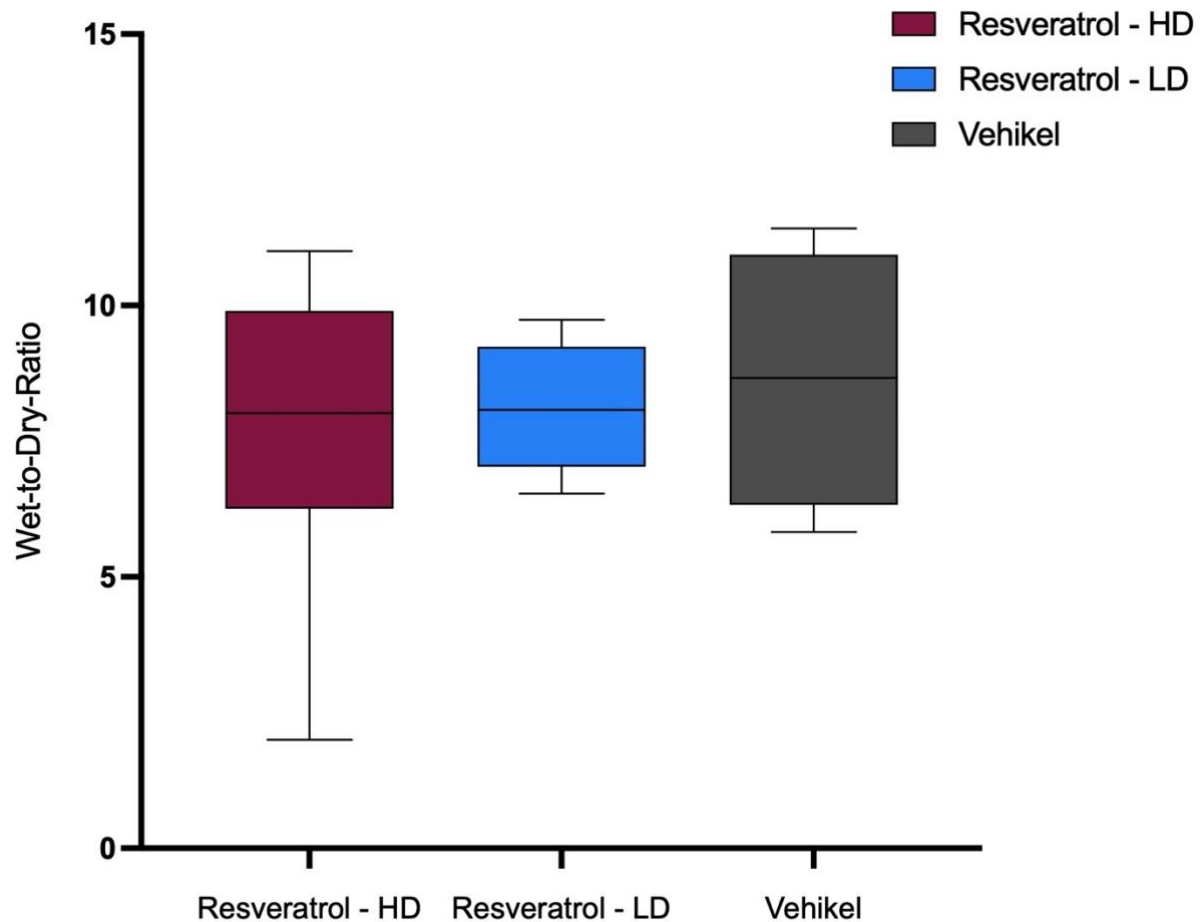


Abbildung 22: Graphische Darstellung der Wet-to-dry-Ratio als Median $\pm$ Standardfehler des Mittelwerts. HD = High Dose; LD = Low Dose; BLH = Baseline Healthy. HD-Gruppe, LD-Gruppe: $n = 8$; Vehikel-Gruppe: $n = 4$.

4.7. Histologische Schnitte

Die entnommenen Proben aus dem Unterlappen der rechten Lunge wurden anhand des oben beschriebenen Lungenschaden-Score beurteilt und verglichen. Hierbei konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden (Abb. 23, Abb. 24).

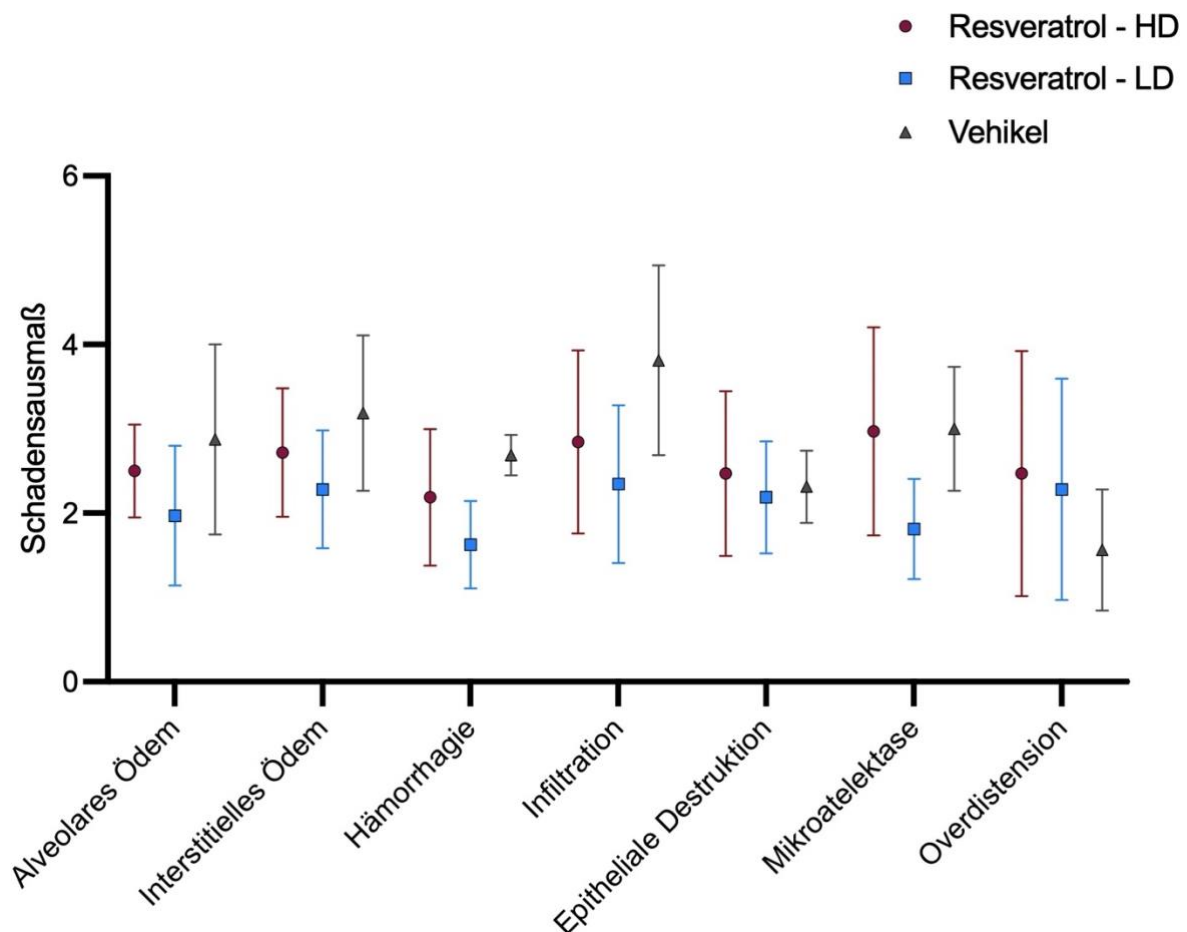


Abbildung 23: Graphische Darstellung des histologischen Lungenschadensscore im rechten dorsalen Unterlappen mit Werten von 0-5. 0 = physiologisches Bild, 5 = maximale Pathologie; HD = High Dose, LD = Low Dose. HD-Gruppe, LD-Gruppe: n = 8; Vehikel-Gruppe: n = 4.

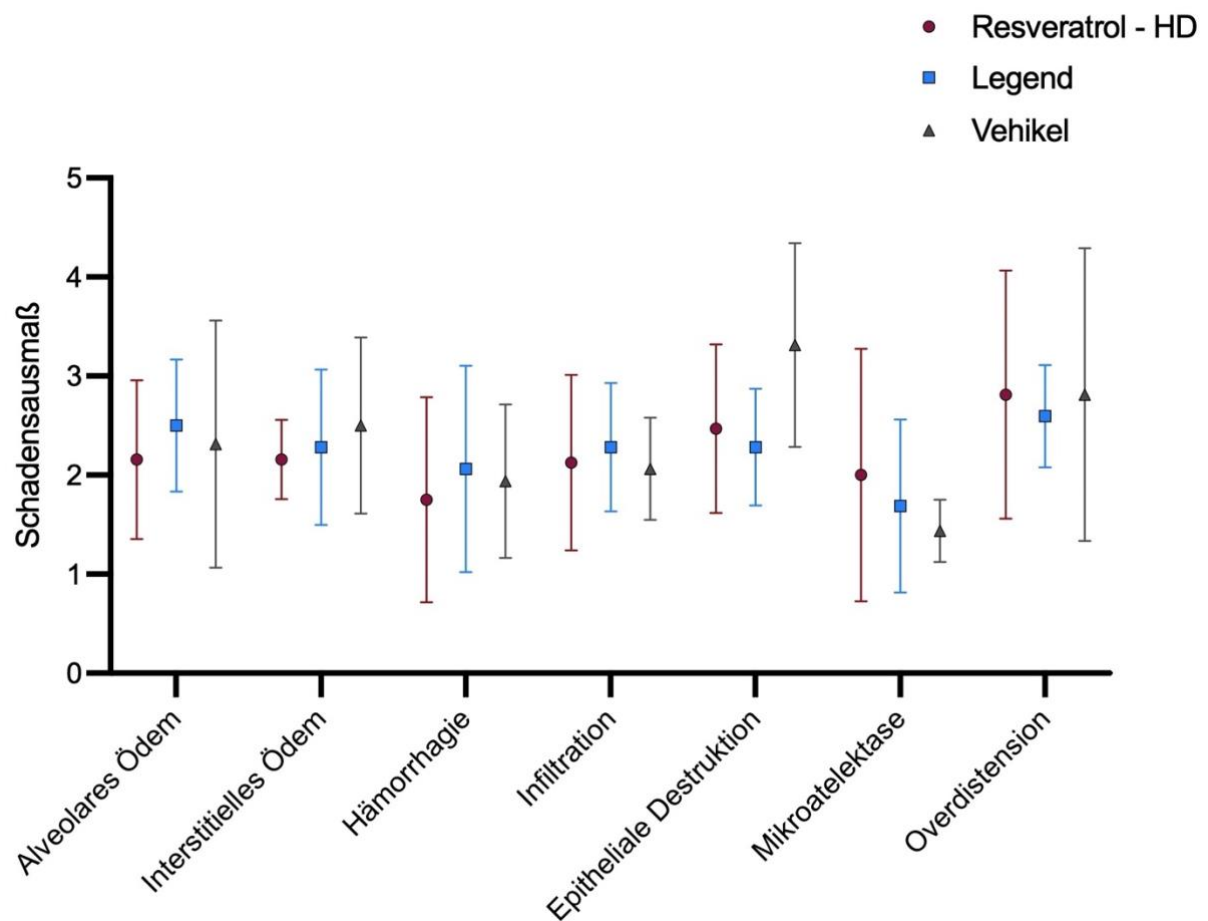


Abbildung 24: Graphische Darstellung des histologischen Lungenschadensscore im rechten ventralen Unterlappen mit Werten von 0-5. 0 = physiologisches Bild, 5 = maximale Pathologie; HD = High Dose, LD = Low Dose. HD-Gruppe, LD-Gruppe: n = 8; Vehikel-Gruppe: n = 4.

5. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden die antiinflammatorischen Effekte von intravenös verabreichtem Resveratrol in Zusammenhang mit einem akuten Lungenversagen erforscht. Hierfür wurde mittels Double-Hit Induktion bei Schweinen ein ARDS ausgelöst. Es konnte eine statistisch signifikant erniedrigte Expression des proinflammatorischen Zytokins TNF- α im Lungengewebe gezeigt werden. Ebenfalls waren pulmonale Funktionsparameter signifikant auffällig. Eine erhöhte FRC und erniedrigte EVLWI-Werte konnten in der Resveratrol High-Dose Gruppe nachgewiesen werden.

5.1. Wertung der Methodik

5.1.1. Tiermodelle

Versuche am Tiermodell spielen in der Grundlagenforschung eine wichtige Rolle. Hypothesen, die aus Beobachtungen an menschlichen Patienten aufgestellt werden, können hierbei untersucht und getestet werden. Der Vorteil liegt in der guten Reproduzierbarkeit von Ausgangsbedingungen und Versuchen, die in dieser Form in klinischen Studien nicht möglich ist (48). Um die pathophysiologischen Mechanismen und spezifische Therapieoptionen für das Acute Respiratory Distress Syndrome untersuchen zu können, stellen Versuche am Tiermodell eine wichtige Säule dar. Klinische Studien sind für viele Grundlagenfragestellungen nicht geeignet.

Trotz intensiver Forschungsbemühungen sind weiterhin viele Fragen offen, die die Erforschung am Tiermodell notwendig macht. Zu diesem Zweck wird häufig mit Ratten, Mäusen und Meerschweinchen gearbeitet. Hierbei konnte die Behandlung mit Resveratrol bereits antiinflammatorische und antioxidative Wirkungen bei anderen Pathologien auf zellulärer Ebene nachweisen (49-52).

Im weiteren Verlauf sollte getestet werden, ob die Ergebnisse in einem Großtiermodell reproduzierbar sind. Deshalb wurde für diesen Versuch die Wirkung von Resveratrol auf Schweine untersucht, die anhand ihrer makroskopischen und mikroskopischen Anatomie, den mikrobiologischen Besonderheiten und ihrer Physiologie dem Menschen sehr ähnlich sind (53).

5.1.2. Induktion des ARDS

Zur Untersuchung des ARDS ist die Induktion eines Lungenschadens nötig, die die pathophysiologischen Vorgänge des ARDS im menschlichen Körper imitiert.

Es existieren mehrere Schadensmodelle, die ein ARDS induzieren können (48). Im Labor der Arbeitsgruppe „Experimentelle Intensivmedizin der Klinik für Anästhesiologie“ sind zwei Verfahren etabliert. Diese wurden in einer Post-hoc Analyse von Rissel et al. verglichen und für verschiedene Fragestellungen aufgearbeitet (54).

Einerseits kann das ARDS durch applizierte *Escherichia coli* (*E. coli*) Lipopolysaccharide (LPS) induziert werden. LPS von medizinischer Relevanz findet man vor allem als Bestandteil der äußeren Zellmembran vieler gramnegativer Bakterien. Sie dienen als Antigene und stellen bei Zellzerfall der Bakterien einen wichtigen Pathogenitätsfaktor dar, der durch die Bindung an Monozyten und anderen Immunzellen eine Immunreaktion hervorruft. Hierzu gehört auch die Zytokinfreisetzung. In Bezug auf die Entstehung des ARDS spielt LPS eine große Rolle. Durch die Freisetzung der pathogenen Membranbestandteile der Bakterien kommt es zu einer Ansammlung von Leukozyten im Gewebe und einer Schädigung desselben (55). Verabreicht man LPS inhalativ oder intravenös wird das Gewebe durch die Immunreaktion geschädigt und es resultiert eine Pneumonie (56). Die Gabe von LPS kann die primären und sekundären Ursachen eines ARDS reproduzieren und ist damit ein gutes *in-vivo* Modell, um die Lungenschäden beim Menschen nachzuahmen. Für die Dauer dieser Induktion wird ein Zeitraum von circa 48 Stunden angegeben (56).

In diesem und anderen möglichen Ansätzen zur ARDS-Induktion (Ischämie- / Reperusionsmodelle, Rauch- / Verbrennungs-ARDS-Modelle, Infusion von Ölsäure und bronchoalveoläre Lavagemodelle (48)) wird ein auslösender Pathomechanismus imitiert. In der Realität ist der Lungenschaden beim ARDS jedoch komplexer und Produkt vieler gleichzeitig ablaufender Mechanismen im Körper (Abb. 3). Um dies im Tiermodell realistisch abzubilden, wurde in diesem Versuch eine Double-Hit Induktion mit der Kombination aus einer BAL und der intravenösen Applikation von Ölsäure angewandt (57). Ölsäure wirkt als ungesättigte Fettsäure schädigend auf die alveolo-kapilläre Einheit der Lunge. Durch die Aktivierung von Immunzellen und die Akkumulation von Neutrophilen löst sie eine Zytokinfreisetzung aus. Außerdem führt die intravenöse Gabe von Ölsäure zu einer schweren Hypoxie und einem pulmonal-

arteriellen Druckanstieg. Um der Komplexität des ARDS im menschlichen Körper gerecht zu werden, wird durch die wiederholte BAL zusätzlich der Surfactant ausgewaschen. Hieraus resultiert zusätzlich eine schwere Hypoxie.

Nach Rissel et al. (54) ist durch die Induktion mittels LPS eine schwerere metabolische Insuffizienz und ein stärkerer Einfluss auf die inflammatorischen Parameter, wie Lactat und IL-6, zu erreichen. Beim Double-Hit Modell wird ein schwererer mechanischer Lungenschaden verursacht, weshalb beispielsweise höhere Beatmungseinstellungen notwendig sind. Bezüglich der hämodynamischen Situation seien beide Modelle anwendbar (54). Somit sind beide Modelle für die Induktion des ARDS geeignet.

Für diesen Versuch wurde die Double-Hit Induktion gewählt. Somit konnte der vermutete antiinflammatorische Effekt von Resveratrol, als auch dessen Einfluss auf die pulmonale Mechanik untersucht werden. Außerdem kann durch die Double-Hit Induktion das Krankheitsbild schneller und direkter ausgelöst werden.

Insgesamt hat das Studiendesign Grenzen, die bei der Bewertung beachtet werden müssen. Durch die Dauer des Versuchs von 8 Stunden konnte lediglich die akute Phase des ARDS untersucht werden. Langzeitfolgen werden nicht abgebildet. Hierbei wäre es interessant zu untersuchen, wie sich der Unterschied bei den Beatmungsparametern und den proinflammatorischen Zytokinen im Gruppenvergleich über einen längeren Zeitraum verhält. Zur primären Untersuchung inflammatorischer Vorgänge im ARDS eignet sich vermutlich die alleinige Induktion mittels LPS besser. Rissel et al. konnten in ihrer Studie nachweisen, dass IL-6 im Double-Hit Modell nicht signifikant erhöht war (54). Durch die LPS-Induktion könnte der Effekt von Resveratrol auf die gemessenen proinflammatorischen Zytokine eventuell auch bei IL-6 und bei TNF- α verstärkt nachgewiesen werden.

Aus den entnommenen Gewebeschnitten der Versuchstiere erfolgte die Messung der mRNA-Expression von IL-6 mittels rt-PCR. Hier konnte kein signifikanter Gruppenunterschied festgestellt werden. In vorausgegangenen Studien wurde eine verminderte Expression von IL-6 nach Resveratrol-Gabe nachgewiesen (43). Da in diesem Versuch der Fokus auf der Optimierung der Beatmungssituation lag, wurde zur Induktion des ARDS das beschriebene Double-hit Modell (Abb. 7) gewählt. Im Gegensatz dazu legt das LPS-Induktionsmodell den Fokus auf inflammatorische Prozesse. In vorherigen Studien von Rissel et al. wurden beide Modelle verglichen und nach der Double-Hit Induktion konnte bei den entsprechenden Tieren keine nennenswerten entzündlichen Veränderungen beobachtet werden. Beim LPS-

induzierten ARDS-Modell wurden hingegen erhöhte IL-6-Werte, entsprechend der ausgelösten Pathologie, gemessen (54). Deshalb sollte der Versuch mit Fokus auf die inflammatorische Komponente wiederholt werden. Hierbei könnte die Wirkung von Resveratrol auf proinflammatorische Zytokine wie IL-6 und TNF- α gegebenenfalls besser dargestellt werden.

Die intravenöse Applikation von Resveratrol ist bisher noch unzureichend untersucht. In vorausgegangenen Studien wurde die Gabe oral durchgeführt, wobei hier der firstpass-Effekt und die Bioverfügbarkeit des Medikaments beachtet werden muss. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, die Dosierung des verabreichten Resveratrols weiter zu untersuchen und gegebenenfalls anzupassen. Auch der Zeitpunkt der Resveratrol Gabe könnte in weiteren Versuchen variiert werden. In vorausgegangenen Studien (52) wurde das Medikament bereits mehrere Stunden vor Induktion verabreicht, wodurch es eine stärkere antiinflammatorische und antioxidative Wirkung haben könnte. Außerdem wurden in diesem Versuch die Schweine durchgehend beatmet, was nicht der physiologischen Lungenmechanik entspricht. Es ist bekannt, dass eine mechanische Beatmungssituation bei Patienten einen Lungenschaden, ventilator-induced lung injury (VILI), erzeugen kann und somit zur Aktivierung immunmodulatorischer Prozesse führen kann. Hierdurch könnten inflammatorische und Beatmungsparameter beeinflusst worden sein.

Um hormonelle Störvariablen zu reduzieren, wurde in diesem Versuch ausschließlich mit männlichen Schweinen gearbeitet. Dies spiegelt keinen adäquaten Querschnitt der ARDS-Patienten wider. Außerdem entspricht jede Induktion des ARDS nicht in Gänze der klinischen Pathophysiologie, wodurch es ebenfalls zu einer Verzerrung der Ergebnisse im klinischen Setting kommen könnte.

Es ist auch zu beachten, dass Schweine trotz ihrer ähnlichen Anatomie und Physiologie nicht identisch zum Menschen sind und sich auch hier die Ergebnisse nicht vollständig in die klinische Praxis übertragen lassen.

5.1.3. Histologische Auswertung

Bei der Beurteilung der histologischen Aufarbeitung der Proben aus dem Unterlappen der rechten Lunge konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden (Abb. 23, Abb. 24). Die histologische Einschätzung der Lungenschnitte erfolgte anhand des beschriebenen Lungenschaden-Scores (Abb. 10). Der Score wurde verblindet und von einer einzelnen Person angewendet, um

vergleichbare Ergebnisse zu erbringen. Dieser Score wurde bereits in anderen Studien zur histologische Beurteilung von Lungenschnitten verwendet und validiert (47). Das Ergebnis könnte durch eine ausführlichere Auswertung der Schnitte anhand mehrerer Ausschnitte desselben Präparats eventuell verbessert werden. Es wäre außerdem interessant, ob zwei unabhängige auswertende Personen zu ähnlichen Ergebnissen kommen, um die Objektivität und Reliabilität des Scores zu überprüfen. Nebenbefundlich wurden in den Schnitten Zellverbände gefunden, die am ehesten epitheloidzelligen Granulomen entsprechen. Diese könnten bei den Versuchstieren im Rahmen einer exogen allergischen Alveolitis durch die Inhalation von Feinstaub erklärt werden (58).

5.2. Diskussion der Ergebnisse

Die aktuellen Therapiemöglichkeiten des ARDS sind weiterhin begrenzt. Es ist zwingend nötig, weitere Therapieansätze zu etablieren. Die bisherigen Standards umfassen die kausale Therapie der Ursache und supportive Maßnahmen, wie die Optimierung des Gasaustausches mittels Bauchlagerung oder bei Bedarf die Beatmung anhand lungenprotektiver Protokolle. Wie beschrieben (Abb. 2) ist ein wichtiger Faktor in der Entstehung des ARDS die inflammatorische Komponente. Um das Syndrom ganzheitlich behandeln zu können, erscheint es somit sinnvoll, diesen pathophysiologischen Vorgang ebenfalls in den therapeutischen Optionen zu berücksichtigen.

Resveratrol könnte hier an den entscheidenden Signalwegen eingreifen und die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine und die Entstehung von oxidativem Stress vermindern. Da Resveratrol die Transkription von IL-6 in Makrophagen herunterreguliert und durch die funktionellen Hydroxylgruppen ROS binden kann, könnte die Entstehung der Signalkaskade (Abb. 3), die ein ARDS begründet, eingedämmt werden. Zudem wurde Resveratrol in vorausgegangenen Studien eine endotheliale Schutzfunktion nachgesagt, die die alveolo-kapilläre Barrierefunktion unterstützen könnte (41, 59). Oxidativer Stress entsteht durch ein Überangebot an ROS, welches nicht durch die natürlichen Antioxidantien im Gleichgewicht gehalten werden kann. Durch den vermehrten Anfall von ROS kommt es zur Schädigung und dem Funktionsverlust von Makromolekülen, sowie zu einer Dysregulation von Mitochondrien, der Induktion inflammatorischer Prozesse und letztendlich zum Zelltod (40). Es ist bereits bekannt, dass Resveratrol hier als starkes Antioxidans wirkt und

durch seine drei Hydroxylgruppen eine übermäßige Produktion von ROS einschränkt (Abb. 4) und vor endothelialer Dysfunktion schützt (60).

Die entzündungshemmende Wirkung von Resveratrol beruht auf der Hemmung der Transkription und Translation von IL-6, was zu einer verringerten Ausschüttung dieses Zytokins durch Makrophagen führt (43). In Studien von Pinheiro et al. konnte gezeigt werden, dass die Behandlung von Monozytenkulturen mit Resveratrol die Expression proinflammatorischer Botenstoffe wie TNF- α und IL-8 reduziert, ohne toxische Effekte auf die Zellen zu haben (37). Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass Resveratrol die Aktivität von Toll-like-Rezeptoren unterdrückt. Diese Rezeptoren sind in ihrer aktiven Form dafür verantwortlich, entzündliche Zytokine und Chemokine zu induzieren sowie die angeborene und adaptive Immunantwort zu aktivieren (61).

Weitere Ergebnisse von Studien bezüglich der antiinflammatorischen Wirkung von Resveratrol zeigen, dass Resveratrol die Aktivierung des NF- κ B-Signalwegs unterdrückt (62). NF- κ B ist ein Transkriptionsfaktor, der nach Aktivierung durch beispielsweise TNF- α oder IL-1 die Expression verschiedener Gene, die an der Regulation der Immunantwort beteiligt sind, moduliert. Die Wirkung von Resveratrol bezieht sich auf die direkte Hemmung der Aktivität von NF- κ B sowie der I κ B-Kinase. NF- κ B verstärkt die Wirkung des ebenfalls immunmodulatorischen JAK/STAT-Signalwegs. Hier wirkt Resveratrol supprimierend auf die aktivierenden Phosphorylierungen dieser Signalkaskade.

In diesem Versuch wurde der Einfluss Resveratrols in Bezug auf eine mögliche intravenöse Therapie des ARDS am Großtiermodell untersucht. Um eine vergleichbare und reproduzierbare Ausgangssituation zu schaffen, wurde das ARDS bei den Versuchstieren mittels der oben beschriebenen Double-Hit Induktion ausgelöst. Dass die Induktion erfolgreich war, ließ sich an verschiedenen Parametern nachweisen. Während des Vorgangs wurde sich nach dem Oxygenierungsindex nach Horovitz gerichtet, der wie beschrieben (Tab. 1), nach der gängigen Berlin Definition ein wichtiges Kriterium der Diagnostik des ARDS ist und es in Schweregrade einteilt. Erwartungsgemäß reduzierte sich der Horovitz-Index durch die ARDS-Induktion signifikant und blieb im Verlauf des Versuchs weiterhin erniedrigt (Abb. 11). Weitere Parameter, welche die ARDS-typischen Veränderungen widerspiegeln, waren der signifikant erhöhte mittlere Pulmonalarteriendruck zum Zeitpunkt T0 in den Interventionsgruppen (Abb. 12), die signifikant erhöhte alveolo-arterielle Sauerstoffdruckdifferenz in allen Versuchsgruppen über den gesamten

Versuchszeitraum (Abb. 14), das signifikant erhöhte Minutenvolumen in allen Versuchsgruppen ab dem Zeitpunkt T4 und T8 (Abb. 14), das signifikant erhöhte C-reaktive Protein in allen Gruppen ab dem Zeitpunkt T8 (Abb. 17) und die Blutgase (Tab. 8, Abb. 15, Abb. 16). Bei der Auswertung der Blutgasanalyse wurde am gemessenen pH-Wert deutlich, dass sich die Tiere aller Versuchsgruppen im Mittel zum Zeitpunkt der Induktion in einer azidotischen Stoffwechsellage befanden (Tab. 8). Dies ist durch die Hypoxämie zu erklären, die durch die Induktion entsteht und sich in den Werten des paO_2 durch eine signifikante Abnahme der Werte zum Zeitpunkt T0 in allen Gruppen widerspiegelt. Auch der paCO_2 zeigte zum Zeitpunkt der Induktion (T0) eine Erhöhung der Werte in allen Gruppen. Dies ist zurückzuführen auf die Verminderung der alveolo-arteriellen Austauschfläche, wodurch CO_2 nicht mehr ausreichend abgeatmet werden kann und der zur Verfügung stehende O_2 nicht in physiologischem Maß ins Kapillarsystem der Lunge diffundiert. Aus dieser veränderten Blutgaskonstellation entsteht oben beschriebene azidotische Stoffwechsellage.

Im Verlauf des Versuchs wird außerdem deutlich, dass das Kalium dauerhaft im normwertigen Bereich liegt, jedoch zeigt sich zum Zeitpunkt T4 in allen Gruppen eine signifikante Erhöhung im Vergleich zum Zeitpunkt BLH. Dies ist als Reaktion auf die Azidose zu werten.

Im Rahmen des induzierten ARDS entwickelte sich bei den Versuchstieren ein nicht kardiogenes Lungenödem. Grundlegend hierfür ist die gestörte alveolo-kapilläre Barriere. Durch die massive Zytokinausschüttung der neutrophilen Granulozyten und die daraus folgende Zerstörung der Pneumozyten, kommt es zu einer erhöhten Permeabilität der Membran, was in einem Lungenödem mündet (Abb. 3). Die Schwere dieses Lungenödems kann anhand des EVLWI mittels transpulmonaler Thermodilution quantifiziert werden. Im Rahmen dieser Studie wurden in der Gruppe der High-Dose Tiere deutlich niedrigere Werte gemessen als in den Vergleichsgruppen (Abb. 12). Da oxidativer Stress und Entzündungsreaktionen epitheliale Strukturen, wie die alveolo-kapilläre Barriere, schädigen, könnten antioxidative Substanzen wie Resveratrol hier die Barrierefunktion unterstützen. Der EVLWI ist als unabhängiger prognostischer Faktor mit einer erhöhten Sterblichkeit im Rahmen des ARDS assoziiert (63) und damit ein entscheidender Faktor, welcher von dem vermuteten antiinflammatorischen Schutz durch Resveratrol profitieren könnte.

Das beschriebene Lungenödem führt außerdem zu einem erhöhten Organgewicht, was mittels der Wet-to-dry Ratio gemessen und verglichen wurde (Abb. 22). Hierbei

konnten keine signifikanten Gruppenunterschiede festgestellt werden. Abgesehen von dem erhöhten Gewicht der Lunge, was aus der interstitiellen und alveolären Wasseransammlung resultiert, kommt es durch das Lungenödem zu weiteren Funktionseinschränkungen, die sich in der FRC niederschlagen und darüber quantifizierbar sind. Durch die FRC wird die funktionelle Residualkapazität beschrieben, die sich aus dem expiratorischen Reservevolumen und des Residualvolumen zusammensetzt. Da sie ein wichtiger Parameter für den alveolären Gasaustausch darstellt, können Veränderungen der FRC die respiratorische Funktion stark beeinflussen. Durch die pathologische Ansammlung von Flüssigkeit im Lungenparenchym im Rahmen eines Lungenödems kommt es zu einer Abnahme der Compliance. Außerdem begünstigt die Flüssigkeitsansammlung den Kollaps der kleinen Atemwege, was zur Bildung von Atelektasen führt und somit zu einer maßgeblichen Reduktion des belüfteten Lungenvolumens. Hierdurch kommt es zu einer signifikanten Abnahme der FRC (Abb. 14), woraus ein verschlechterter alveolärer Gasaustausch, ein erhöhter intrapulmonaler Shunt-Anteil und eine sich entwickelnde Hypoxämie folgt. Wie in Abbildung 14 deutlich wird, konnte in diesem Versuch gezeigt werden, dass die Tiere der High-Dose Resveratrol Gruppe zum letzten Messzeitpunkt nach 8 Stunden eine signifikant höhere FRC hatten als die Tiere der anderen Gruppen. Dies könnte durch eine verminderte Zytokinproduktion in den alveolo-kapillären Zellen auf die membranstabilisierende Wirkung des Resveratrols zurückzuführen sein. Durch die Gabe von Resveratrol konnte in der Lunge eine verminderte Expression von TNF- α nachgewiesen werden. Dies stabilisiert die alveolo-kapillären Einheit. Dieser Effekt wurde bereits in Studien von Alharris et al. in Bezug auf induzierte Asthmaerkrankungen bei Mäusen beschrieben (64). Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Tiere, die mit Resveratrol behandelt wurden, eine signifikant erhöhte Expression von Claudin, Occludin, E-Cadherin und weiteren Proteine der Tight-Junction-Proteinfamilie im Vergleich zu den untersuchten Zellen der Kontrollgruppe hatten.

Im vorliegenden Versuch wurde die Expression der Tight-junction-Proteinfamilie nicht untersucht. Dies könnte man in weiterführenden Versuchen ergänzen, um eine solche Beobachtung in dem hier gewählten Schadensmodell nachzuweisen. Weiter deckt sich dieses Ergebnis mit den Studien, die die Wirkung von Resveratrol untersuchen und stützt die Annahme, dass die Suppression von TNF- α eine entscheidende Rolle

bei der Stabilisierung der alveolo-kapillären Barriere spielt und somit die Lungenfunktion messbar verbessert.

Zytokine wie TNF- α spielen im Rahmen des Entzündungsgeschehens und der Signalkaskade des ARDS eine entscheidende Rolle. Durch hohe TNF- α -Konzentrationen kommt es wie beschrieben zu einer Art Zytokinsturm (65), der zu einer überschießenden Immunreaktionen führt (36) und so Organschäden hervorruft (Abb. 2). Dass Resveratrol die Expression von TNF- α senkt, wurde bereits in mehreren Studien nachgewiesen und scheint einen positiven Effekt auf die Entstehung verschiedener Krankheitsbilder zu haben (37, 41, 66, 67). Wie in der Studie von Pinheiro et al. beschrieben, wirkt Resveratrol auf Monozyten hemmend auf die TNF- α -Produktion, weshalb es in diesem Versuch gemessen und verglichen wurde. Auf Basis der vorliegenden Daten kann nicht eindeutig geklärt werden, ob die beobachtete Verbesserung der Lungenmechanik (Abb. 14) einen direkten Einfluss auf die gesunkenen Entzündungsparameter haben oder ob diese Effekte primär durch die Wirkung von Resveratrol vermittelt wurde. Ebenso bleibt offen, weshalb sich die positiven Einflüsse auf die inflammatorische Antwort und die pulmonale Mechanik in der HD-Gruppe nicht in einer gesteigerten Oxygenierung (Abb. 14) widerspiegeln.

Ein weiterer untersuchter Parameter war die benötigte Kreislaufunterstützung mittels Katecholaminen. Da während der Double-Hit Induktion durch die applizierte Ölsäure der pulmonal-arterielle Druck steigt, kommt es zu einer Nachlasterhöhung des rechten Herzens, was sich in einem verminderten HZV widerspiegelt. Durch das ausgelöste ARDS und die daraus resultierenden Mikrothromben und pulmonal-arterielle Druckerhöhung durch den Euler-Liljestrand-Mechanismus kommt es ebenfalls zu einer massiven Kreislaufbelastung (Abb. 3).

Um eine adäquate Organperfusion sicherzustellen, wurde Noradrenalin als vasokonstriktives Katecholamin eingesetzt. Hierfür wurde sich nach dem MAD gerichtet, der 60 mmHg nicht unterschreiten sollte. Anhand der Laufrate des Katecholamins kann man somit die notwendige Kreislaufunterstützung beurteilen, die die Tiere benötigten, um den entsprechenden MAD beizubehalten. Hierbei fiel auf, dass zwar alle Tiere direkt nach der Intervention (T0) in einem ähnlichen Ausmaß auf Katecholamine benötigten, die Tiere beider Resveratrolgruppen sich jedoch schneller wieder erholten und der Katecholaminbedarf sich zum Zeitpunkt T4 wieder dem Ausgangsniveau annäherte (Abb. 13). Anzunehmen wäre eine Reduktion der systemischen Zytokinkonzentration und eine Stabilisierung des Vasotonus durch den

intravenösen Einsatz eines antioxidativen und entzündungshemmenden Stoffs wie Resveratrol. Daten aus dem vorliegenden Versuch und aus vorausgegangenen Studien fehlen allerdings, um dies zweifelsfrei belegen zu können.

Um eine mögliche Beeinträchtigung der Nierenfunktion im Rahmen des ausgelösten ARDS beurteilen zu können, wurden im Verlauf des Versuchs Nierenretentionsparameter wie Kreatinin und Harnstoff gemessen. Bei beiden Werten handelt es sich um Stoffwechselprodukte, die durch Muskelaktivität oder beim Abbau von Proteinen entstehen und physiologisch über die Niere ausgeschieden werden. Kommt es zu einer Funktionseinschränkung der Niere, zum Beispiel im Rahmen des ARDS (Abb. 2), werden diese Substanzen weniger ausgeschieden und akkumulieren. Beide Parameter eignen sich, um die Nierenfunktion abschätzen zu können. Hierbei ist jedoch der sogenannte Kreatinin-blinde Bereich zu beachten. Erst bei einer erheblichen Verschlechterung der Nierenfunktion sind erhöhte Kreatininwerte nachweisbar. Dies liegt an der hyperbolen Beziehung zwischen der Nierenfunktion und anfallendem Kreatinin (68). Es konnte gezeigt werden, dass sich bei allen Tieren über den Verlauf des Versuchs die gemessenen Retentionswerte prozedient erhöhten. Dies lässt sich durch die beschriebene Verminderung der Nierenfunktion erklären, die sich durch das ausgelöste ARDS entwickelt. Diese pathologischen Auswirkungen auf die Niere lassen sich durch die entstandene Hypoxämie (13) und die übermäßige Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine erklären (14). Nur in der Vehikel-Gruppe konnte eine signifikante Erhöhung des Kreatinins nach 8 Stunden nachgewiesen werden (Tab. 9). Dies war bei den Tieren der Interventionsgruppen nicht der Fall. Da Resveratrol die Bildung von $\text{TNF-}\alpha$ und IL-6 zu vermindern scheint, könnte der beschriebene „Cross-Talk“ zwischen den Organen vermindert werden und sich ein protektiver Effekt für die Nierenfunktion ergeben. Auch dieses Ergebnis könnte nochmals in ausführlicheren Versuchen mit Fokus auf die inflammatorische Komponente des ARDS und die daraus folgende Einschränkung der Nierenfunktion untersucht werden. Außerdem wäre ein längerer Nachbeobachtungszeitraum hier sinnvoll, da die Akkumulation der Nierenretentionsparameter gegebenenfalls nach 8 Stunden nicht ausreichend dargestellt werden kann.

5.3. Schlussfolgerung

Trotz intensiver Forschung bleiben die therapeutischen Möglichkeiten zur Behandlung des akuten Lungenversagens bislang limitiert. Die derzeitige Standardtherapie fokussiert sich im Wesentlichen auf die Beseitigung der zugrundeliegenden Ursache sowie auf supportive Verfahren. Trotz dieser Ansätze ist die Sterblichkeit an einem schweren ARDS hoch, was die Notwendigkeit neuer therapeutischer Ansätze unterstreicht. Diese sollten zusätzlich die Durchbrechung der inflammatorischen Kaskade beinhalten, welche einen großen Stellenwert in der Entstehung und progressiven Dekompensation im Rahmen eines ARDS einnimmt.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass Resveratrol eine vielversprechende antiinflammatorische Wirkung aufweist, die zur Modulation inflammatorischer Prozesse beitragen kann. Insbesondere die beobachteten positiven Effekte auf die Beatmungsparameter sowie die Suppression von $\text{TNF-}\alpha$ unterstreichen das therapeutische Potenzial dieses Polyphenolderivats. Da der EVLWI als prognostischer Faktor für eine erhöhte Sterblichkeit beim ARDS bekannt ist, ist die signifikante Erniedrigung bei den Tieren der HD-Gruppe ein wichtiger Erkenntnisgewinn. Dies deutet darauf hin, dass Patienten von der Wirkung durch Resveratrol profitieren könnten. Auch die signifikant erhöhte FRC bei den Tieren der HD-Gruppe deutet auf eine positive Beeinflussung der Beatmungsparameter durch Resveratrol hin. Durch die verminderte Expression von $\text{TNF-}\alpha$ könnte die alveolo-kapilläre Einheit stabilisiert werden.

Trotzdem bleiben zentrale Fragen wie die Dosis-Wirkungs-Beziehungen, der Effekt auf die IL-6-Expression und die klinische Relevanz offen. Hierfür sind weiterführende Untersuchungen notwendig, um die präklinischen Befunde zu validieren. In Zukunft könnte Resveratrol als Medikament der antiinflammatorischen Säule in der Behandlung des ARDS etabliert werden und das klinische Outcome der Patienten verbessern.

6. Literaturverzeichnis

1. Dembinski R, Mielck F. [ARDS - An Update - Part 1: Epidemiology, Pathophysiology and Diagnosis]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*. 2018;53(2):102-11.
2. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *Jama*. 2016;315(8):788-800.
3. Huppert LA, Matthay MA, Ware LB. Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Semin Respir Crit Care Med*. 2019;40(1):31-9.
4. Shaito A, Posadino AM, Younes N, Hasan H, Halabi S, Alhababi D, et al. Potential Adverse Effects of Resveratrol: A Literature Review. *Int J Mol Sci*. 2020;21(6).
5. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet*. 1967;2(7511):319-23.
6. (DGAI) DGfAul. S3-Leitlinie: Invasive Beatmung und Einsatz extrakorporaler Verfahren bei akuter respiratorischer Insuffizienz: AWMF – Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften; Stand 04.12.2017 [Available from: <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/001-021>].
7. A. W. Reske UG. Pathophysiologie des Lungenversagens. *Anästhesiologie & Intensivmedizin*. 2018.
8. Cortegiani A, Madotto F, Gregoret C, Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Immunocompromised patients with acute respiratory distress syndrome: secondary analysis of the LUNG SAFE database. *Crit Care*. 2018;22(1):157.
9. Angus DC, Musthafa AA, Clermont G, Griffin MF, Linde-Zwirble WT, Dremsizov TT, et al. Quality-adjusted survival in the first year after the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163(6):1389-94.
10. Williams AE, Chambers RC. The mercurial nature of neutrophils: still an enigma in ARDS? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2014;306(3):L217-30.
11. Burns AR, Smith CW, Walker DC. Unique structural features that influence neutrophil emigration into the lung. *Physiol Rev*. 2003;83(2):309-36.
12. Darmon M, Clec'h C, Adrie C, Argaud L, Allaouchiche B, Azoulay E, et al. Acute respiratory distress syndrome and risk of AKI among critically ill patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(8):1347-53.
13. Ricksten SE, Bragadottir G, Redfors B. Renal oxygenation in clinical acute kidney injury. *Crit Care*. 2013;17(2):221.
14. Liu KD, Glidden DV, Eisner MD, Parsons PE, Ware LB, Wheeler A, et al. Predictive and pathogenetic value of plasma biomarkers for acute kidney injury in patients with acute lung injury. *Crit Care Med*. 2007;35(12):2755-61.
15. Keough KM, Parsons CS, Phang PT, Tweeddale MG. Interactions between plasma proteins and pulmonary surfactant: surface balance studies. *Can J Physiol Pharmacol*. 1988;66(9):1166-73.
16. Aboab J, Louis B, Jonson B, Brochard L. Relation between PaO₂/FIO₂ ratio and FIO₂: a mathematical description. *Intensive Care Med*. 2006;32(10):1494-7.
17. Tomashefski JF, Jr. Pulmonary pathology of acute respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med*. 2000;21(3):435-66.
18. Hickling KG. Lung-protective ventilation in acute respiratory distress syndrome: protection by reduced lung stress or by therapeutic hypercapnia? *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162(6):2021-2.

19. Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, Matthay MA, Morris A, Ancukiewicz M, et al. Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2004;351(4):327-36.
20. Vogt TB, Sensen B, Kluge S. [Prone Position during Mechanical Ventilation - Step by Step]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2019;144(14):978-81.
21. Robert Koch-Institut AfEuG. RKI-Ratgeber COVID-19 Epid Bull 2024;22:3-14 [
22. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383(2):120-8.
23. Schulte-Schrepping J, Reusch N, Paclik D, Baßler K, Schlickeiser S, Zhang B, et al. Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. *Cell*. 2020;182(6):1419-40.e23.
24. Gibson PG, Qin L, Puah SH. COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS. *Med J Aust*. 2020;213(2):54-6.e1.
25. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020;180(7):934-43.
26. WHO. WHO Therapeutics and COVID-19: Living guideline [Available from: <https://www.who.int/teams/health-care-readiness/covid-19/therapeutics>.
27. (DGIIIN) DGflluNeV. S3-Leitlinie Empfehlungen zur Therapie von Patienten mit COVID-19 - Living Guideline. 12.09.2022.
28. Rose-John S. Interleukin-6 Family Cytokines. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018;10(2).
29. Kozawa O, Suzuki A, Tokuda H, Kaida T, Uematsu T. Interleukin-6 synthesis induced by prostaglandin E2: cross-talk regulation by protein kinase C. *Bone*. 1998;22(4):355-60.
30. Libermann TA, Baltimore D. Activation of interleukin-6 gene expression through the NF-kappa B transcription factor. *Mol Cell Biol*. 1990;10(5):2327-34.
31. Kojima H, Inoue T, Kunitomo H, Nakajima K. IL-6-STAT3 signaling and premature senescence. *Jakstat*. 2013;2(4):e25763.
32. Belizário JE, Fontes-Oliveira CC, Borges JP, Kashiabara JA, Vannier E. Skeletal muscle wasting and renewal: a pivotal role of myokine IL-6. *Springerplus*. 2016;5:619.
33. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:1-21.
34. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Therapeutic targeting of the interleukin-6 receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2012;52:199-219.
35. Idriss HT, Naismith JH. TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microsc Res Tech*. 2000;50(3):184-95.
36. Spooner CE, Markowitz NP, Saravolatz LD. The role of tumor necrosis factor in sepsis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1992;62(1 Pt 2):S11-7.
37. Pinheiro DML, de Oliveira AHS, Coutinho LG, Fontes FL, de Medeiros Oliveira RK, Oliveira TT, et al. Resveratrol decreases the expression of genes involved in inflammation through transcriptional regulation. *Free Radic Biol Med*. 2019;130:8-22.
38. Kapetanovic IM, Muzzio M, Huang Z, Thompson TN, McCormick DL. Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog, pterostilbene, in rats. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2011;68(3):593-601.

39. Gambini J, López-Grueso R, Olaso-González G, Inglés M, Abdelazid K, El Alami M, et al. [Resveratrol: distribution, properties and perspectives]. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2013;48(2):79-88.
40. Galiniak S, Aebischer D, Bartusik-Aebischer D. Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochim Pol*. 2019;66(1):13-21.
41. Parsamanesh N, Asghari A, Sardari S, Tasbandi A, Jamialahmadi T, Xu S, et al. Resveratrol and endothelial function: A literature review. *Pharmacol Res*. 2021;170:105725.
42. Wang N, Han Q, Wang G, Ma WP, Wang J, Wu WX, et al. Resveratrol Protects Oxidative Stress-Induced Intestinal Epithelial Barrier Dysfunction by Upregulating Heme Oxygenase-1 Expression. *Dig Dis Sci*. 2016;61(9):2522-34.
43. Ohtsu A, Shibutani Y, Seno K, Iwata H, Kuwayama T, Shirasuna K. Advanced glycation end products and lipopolysaccharides stimulate interleukin-6 secretion via the RAGE/TLR4-NF- κ B-ROS pathways and resveratrol attenuates these inflammatory responses in mouse macrophages. *Exp Ther Med*. 2017;14(5):4363-70.
44. Öztürk E, Arslan AKK, Yerer MB, Bishayee A. Resveratrol and diabetes: A critical review of clinical studies. *Biomed Pharmacother*. 2017;95:230-4.
45. Jardim FR, de Rossi FT, Nascimento MX, da Silva Barros RG, Borges PA, Prescilio IC, et al. Resveratrol and Brain Mitochondria: a Review. *Mol Neurobiol*. 2018;55(3):2085-101.
46. Karakişi SO, Hemşinli D, Tümkaya L, Ergene Ş, Mercantepe T, Yılmaz A. Resveratrol against lung injury in an ischemia/reperfusion model of abdominal aortic rupture. *Türk Gogus Kalp Damar Cerrahisi Derg*. 2021;29(3):330-8.
47. Ziebart A, Hartmann EK, Thomas R, Liu T, Duenges B, Schad A, et al. Low tidal volume pressure support versus controlled ventilation in early experimental sepsis in pigs. *Respir Res*. 2014;15(1):101.
48. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008;295(3):L379-99.
49. de Oliveira MTP, Coutinho DS, Guterres SS, Pohlmann AR, Silva P, Martins MA, et al. Resveratrol-Loaded Lipid-Core Nanocapsules Modulate Acute Lung Inflammation and Oxidative Imbalance Induced by LPS in Mice. *Pharmaceutics*. 2021;13(5).
50. Wang Y, Wang X, Zhang L, Zhang R. Alleviation of Acute Lung Injury in Rats with Sepsis by Resveratrol via the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Nuclear Factor-Erythroid 2 Related Factor 2/Heme Oxygenase-1 (PI3K/Nrf2/HO-1) Pathway. *Med Sci Monit*. 2018;24:3604-11.
51. Jiang L, Zhang L, Kang K, Fei D, Gong R, Cao Y, et al. Resveratrol ameliorates LPS-induced acute lung injury via NLRP3 inflammasome modulation. *Biomed Pharmacother*. 2016;84:130-8.
52. Alghetaa H, Mohammed A, Sultan M, Busbee P, Murphy A, Chatterjee S, et al. Resveratrol protects mice against SEB-induced acute lung injury and mortality by miR-193a modulation that targets TGF- β signalling. *J Cell Mol Med*. 2018;22(5):2644-55.
53. Judge EP, Hughes JM, Egan JJ, Maguire M, Molloy EL, O'Dea S. Anatomy and bronchoscopy of the porcine lung. A model for translational respiratory medicine. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014;51(3):334-43.
54. Rissel R, Renz M, Mohnke K, Riedel J, Ritter K, Ziebart A, et al. Comparison of two porcine acute lung injury models: a post-hoc analysis. *Intensive Care Med Exp*. 2022;10(1):37.

55. Mirzapioiazova T, Kolosova IA, Moreno L, Sammani S, Garcia JG, Verin AD. Suppression of endotoxin-induced inflammation by taxol. *Eur Respir J*. 2007;30(3):429-35.
56. Chen H, Bai C, Wang X. The value of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury model in respiratory medicine. *Expert Rev Respir Med*. 2010;4(6):773-83.
57. Rissel R, Gosling M, Ruemmler R, Ziebart A, Hartmann EK, Kamuf J. Bronchoalveolar Lavage and Oleic Acid-Injection in Pigs as a Double-Hit Model for Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *J Vis Exp*. 2020(159).
58. Sennekamp J, Müller-Wening D, Amthor M, Baur X, Bergmann KC, Costabel U, et al. [Guidelines for diagnosing extrinsic allergic alveolitis (hypersensitivity pneumonitis) (German Extrinsic Allergic Alveolitis Study Group)]. *Pneumologie*. 2007;61(1):52-6.
59. Li H, Xia N, Hasselwander S, Daiber A. Resveratrol and Vascular Function. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9).
60. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018;13:757-72.
61. Chen CY, Kao CL, Liu CM. The Cancer Prevention, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidation of Bioactive Phytochemicals Targeting the TLR4 Signaling Pathway. *Int J Mol Sci*. 2018;19(9).
62. Ma C, Wang Y, Dong L, Li M, Cai W. Anti-inflammatory effect of resveratrol through the suppression of NF- κ B and JAK/STAT signaling pathways. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2015;47(3):207-13.
63. Jozwiak M, Silva S, Persichini R, Anguel N, Osman D, Richard C, et al. Extravascular lung water is an independent prognostic factor in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 2013;41(2):472-80.
64. Alharris E, Mohammed A, Alghetaa H, Zhou J, Nagarkatti M, Nagarkatti P. The Ability of Resveratrol to Attenuate Ovalbumin-Mediated Allergic Asthma Is Associated With Changes in Microbiota Involving the Gut-Lung Axis, Enhanced Barrier Function and Decreased Inflammation in the Lungs. *Front Immunol*. 2022;13:805770.
65. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *N Engl J Med*. 2020;383(23):2255-73.
66. Wang C, Yuan J, Du J. Resveratrol alleviates acute lung injury through regulating PLSCR-3-mediated mitochondrial dysfunction and mitophagy in a cecal ligation and puncture model. *Eur J Pharmacol*. 2021;913:174643.
67. Chu H, Li H, Guan X, Yan H, Zhang X, Cui X, et al. Resveratrol protects late endothelial progenitor cells from TNF- α -induced inflammatory damage by upregulating Krüppel-like factor-2. *Mol Med Rep*. 2018;17(4):5708-15.
68. Sitter T. [Serum creatinine and estimated glomerular filtration rate]. *MMW Fortschr Med*. 2021;163(10):50-1.

7. Danksagung

An erster Stelle möchte ich den Leitern der Arbeitsgruppe für Experimentelle Intensivmedizin der Klinik für Anästhesiologie, danken. Außerdem möchte ich dem gesamten Team des Großtierlabors der Klinik für Anästhesiologie der Universitätsmedizin Mainz danken, die mir mit ihrer Unterstützung eine sehr große Hilfe waren.

Ein besonderer Dank gilt meinem direkten Betreuer, Herrn Dr. med. René Rissel. Als mein Ansprechpartner im Labor, bei der Auswertung der Daten und bei der Korrektur meiner Dissertation stand er mir jederzeit mit großem Engagement und viel Geduld zur Seite. Seine Begeisterung, mit der er Forschung vermittelt, hat mich nachhaltig geprägt und mir gezeigt, wie viel Spaß Forschung machen kann.

Ein ganz besonderer Dank gilt ~~Name~~, die mich bei zahlreichen praktischen Arbeiten im Labor tatkräftig unterstützt hat und immer eine unverzichtbare Hilfe war.

Schließlich möchte ich meiner Familie und meinem Partner Moritz von Herzen danken. Ohne ihre Unterstützung und Geduld während der Anfertigung dieser Arbeit und meines gesamten Studiums wäre dieser Weg nicht möglich gewesen.

8. Lebenslauf

