

Isofluran

MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}

MAK Commission^{2,*}

¹ *Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe*

² *Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn*

* E-Mail: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Keywords

Isofluran; Reproduktionstoxizität;
Neurotoxizität;
Entwicklungsneurotoxizität;
MAK-Wert; maximale
Arbeitsplatzkonzentration;
Spitzenbegrenzung

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated isoflurane [26675-46-7] considering all toxicological end points. The critical effects are neurotoxicity in humans as well as liver toxicity and effects on reproductive organs in animals. Data on liver toxicity at non-anaesthetic concentrations are not available for humans. From a long-term study in male rats, a NOEC of 20 ml/m³ can be derived for liver toxicity, cytochrome P450 (CYP) content and serum levels of alanine aminotransferase. By analogy with halothane, the estimated NAEC for pre-narcotic effects in humans is 92 ml isoflurane/m³. Since the halothane exposure lasted 3–4 hours and the steady state for isoflurane is reached after about 100 minutes, and because a pre-narcotic effect depends only on the concentration, an effect amplification with time is not to be expected. Therefore, for the neurotoxic effect, a maximum concentration at the workplace (MAK value) of 92 ml/m³ would be derived. The most sensitive endpoint is reproductive toxicity in male rats with a NOAEC of 50 ml/m³. On this basis, a MAK value of 2 ml/m³ has been set. For the derivation of the MAK value a C × T dependence was assumed for the critical effect on the testes. Therefore, an excursion factor of 8 can be set. There are no studies in neonatal or juvenile animals at non-anaesthetic concentrations from which to derive a NOAEC for developmental neurotoxic effects of isoflurane. Therefore, isoflurane is assigned to Pregnancy Risk Group D. New studies on the carcinogenic effect of isoflurane are not available. In a long-term study in mice, no increased tumour incidences were observed up to a concentration of 4000 ml/m³. No clear genotoxic potential of isoflurane can be determined from the available data and further clarification is needed, especially in the concentration ranges present at the workplace. Skin contact is expected to lead to a relatively minor contribution to systemic toxicity. Limited data do not show clear evidence of a sensitizing potential.

Citation Note:

Hartwig A, MAK Commission. Isofluran. MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf. 2022 Sep;7(3):Doc044. https://doi.org/10.34865/mb2667546d7_3ad

Manuskript abgeschlossen:
01 Apr 2022

Publikationsdatum:
30 Sep 2022

Lizenz: Dieses Werk ist
lizenziert unter einer [Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



MAK-Wert (2021)	2 ml/m³ (ppm) \approx 15 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2021)	Kategorie II, Überschreitungsfaktor 8
Hautresorption	–
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung (2021)	Gruppe D
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–
CAS-Nr.	26675-46-7
Molmasse	184,5 g/mol
Dichte bei 20 °C	1,45 g/cm ³ (IFA 2021)
Dampfdruck bei 20 °C	320 hPa (IFA 2021)
log K _{ow}	2,06 (NLM 2021)
Löslichkeit	4470 mg/l Wasser (NLM 2021)
1 ml/m³ (ppm) \approx 7,656 mg/m³	1 mg/m³ \approx 0,131 ml/m³ (ppm)

Zu Isofluran liegt eine Begründung aus dem Jahr 1993 (Greim 1993) und ein Nachtrag aus dem Jahr 2007 (Greim 2007) vor. Aufgrund neuer Daten zur Toxizität wird geprüft, ob ein MAK-Wert abgeleitet werden kann.

Üblicherweise werden in klinischen Publikationen die angewandten Konzentrationen von Inhalationsnarkotika als Vol.-% oder als MAC (= minimale alveoläre Konzentration, bei der die Hälfte der Patienten nicht mehr auf einen Schmerzreiz reagiert) angegeben. Die MAC ist das Maß der Wirkstärke eines Inhalationsnarkotikums. Beeinflusst wird die MAC von Alter, Größe, Gewicht und der Kombination mit anderen Inhalationsnarkotika. Für den Menschen liegt die MAC für Isofluran in 100 % Sauerstoff oder zusammen mit 50–70 % Distickstoffmonoxid (N₂O) im Bereich von 11 500 bis 12 200 ml/m³. Bei Einleitung und Erhaltung einer Vollnarkose mit Isofluran allein in Umgebungsluft werden auch deutlich höhere Konzentrationen eingesetzt. Für die Ratte wird eine MAC für Isofluran von 14 000 ml/m³ und für die Maus von 13 000 bis 17 000 ml/m³ beschrieben (Saber und Hougaard 2009).

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Isofluran ist ein halogenerter Methylethylether mit zentral-depressorischer Wirkung, der als Inhalationsnarkotikum weltweit in großen Mengen eingesetzt wird. Isofluran besitzt auch analgetische und muskelrelaxierende Wirkungen. Postoperativ können neurologische und psychomotorische Störungen auftreten. Isofluran entfaltet in narkotischen Konzentrationen deutliche Wirkungen auf die Herz- und Kreislauffunktionen und senkt die glomeruläre Filtrationsrate um 30–50 % (Greim 1993). Ab 1150 ml Isofluran/m³ treten beim Menschen erste präanästhetische Effekte auf. Ab 300 ml Isofluran/m³ sind bei der männlichen Ratte Effekte auf die Reproduktionsorgane, eine verminderte Spermienzahl und -produktion, sowie eine Abnahme der Testosteronkonzentration im Serum zu beobachten.

In anästhetisch wirkenden Konzentrationen (ab 6000 ml/m³) werden bei Nagern erniedrigtes Fetengewicht, verzögerte Ossifikation, erhöhte Rate an späten Resorptionen und Hinweise auf vermehrt auftretende Gaumenspalten bei Mäusen beobachtet. Die pränatale Exposition verursacht jedoch auch postnatal Effekte im Verhalten bei Mäusen und Ratten.

Aufgrund von Ergebnissen aus mechanistischen Studien ist anzunehmen, dass das sich entwickelnde Gehirn sensitiv auf Isofluran mit Neurodegenerationen reagiert. Es liegen Hinweise auf eine klastogene Wirkung von Isofluran *in vitro* vor. Zur genotoxischen Wirkung nach inhalativer Exposition beim Tier liegen nur Studien mit narkotischen Konzentrationen vor, die Hinweise auf DNA-Schäden (Comet-Assay) liefern. Eine kanzerogene Wirkung ist für Isofluran bisher nicht nachgewiesen.

Aufgrund der wenigen Befunde nach beruflicher Isofluran-Exposition ist eine haut- bzw. atemwegssensibilisierende Wirkung von Isofluran nicht eindeutig ableitbar. Tierexperimentelle oder *In-vitro*-Daten zu diesem Endpunkt fehlen.

2 Wirkungsmechanismus

2.1 Lebertoxizität

Die sogenannte idiosynkratische Hepatitis war der Grund für die Ablösung des Halothans durch Enfluran und Isofluran. Diese Leberschädigung ist im Gegensatz zu der direkten toxischen Leberschädigung nicht vorhersehbar, dosisunabhängig und mit einem steigenden Risiko durch wiederholte Exposition verbunden. Dabei wird zwischen einer metabolischen und einer allergischen Idiosynkrasie unterschieden (Gröger et al. 2011; Höner zu Siederdisen und Cornberg 2016). Bei der metabolischen Idiosynkrasie handelt es sich um eine abnorme, vermutlich genetisch bedingte Stoffwechselreaktion auf eine eigentlich nicht-toxische Substanz mit Bildung toxischer Metaboliten (Gröger et al. 2011).

Für die allergische Leberschädigung durch Halothan wird ein immunologischer Mechanismus verantwortlich gemacht, der auf der Bildung von Trifluoracetyl-Addukten mit Proteinen der Hepatozyten und der sich daran anschließenden Bildung von Antikörpern beruht (Gröger et al. 2011; Höner zu Siederdisen und Cornberg 2016). Trifluoracetylchlorid entsteht als reaktives Intermediat bei der Oxidation des Halothans zur Trifluoressigsäure, wobei bei narkotischen Konzentrationen 15–20 % des Halothans metabolisiert werden. Im Gegensatz dazu werden nach operativen Eingriffen mit Isofluran als Anästhetikum weniger als 0,2 % des Isoflurans zu Fluoriden metabolisiert und im Urin wiedergefunden (Greim 1993). Berichte über schwere Leberschädigungen nach Isofluran-Narkose beim Menschen sind sehr selten (siehe Abschnitt 4.1) (ohne Verfasser:in 2018). Bei Ratten, die gegen das 1,25-Fache der MAC unterschiedlicher Inhalationsnarkotika acht Stunden lang exponiert wurden, konnten immunhistochemisch Trifluoracetyl-Proteinaddukte nach Halothan, Enfluran und Isofluran nachgewiesen werden, wobei die Reaktivität bei Halothan am höchsten war. Wurden die Hepatozyten der mit Halothan oder Enfluran behandelten Ratten im ELISA-Test mit Serum von Patienten mit diagnostizierter Halothan-Hepatitis inkubiert, verlief der Test positiv, nicht jedoch nach Behandlung der Tiere mit Isofluran, Desfluran oder Sauerstoff (Njoku et al. 1997).

Es wird jedoch auch diskutiert, dass das Zusammentreffen einiger Faktoren, wie Geschlecht, genetische Faktoren, Fasten und Stress durch Entzündungsreaktionen im Körper für die Entstehung der Halothan-Hepatitis mit verantwortlich sein könnte (Dugan et al. 2010).

2.2 Neurotoxizität

Isofluran vermittelt seine hypnotische Wirkung über γ -Aminobuttersäure (GABA)-Rezeptoren (mit β 3-Untereinheit), während Bewegungslosigkeit durch anteilige Modulation von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-, Glycin-, GABA-Rezeptoren und Kalium-2P-Kanälen zustande kommt (Eckle et al. 2009). Insbesondere der NMDA-Rezeptor ist an verschiedenen physiologischen Prozessen, wie Erinnerungsvermögen, Lernprozessen und neuronaler Entwicklung beteiligt. Eine Inhibierung der NMDA-Rezeptoren während der Synaptogenese stört die Bildung neuronaler Netze, was zu einer Beeinträchtigung von Lern- und Gedächtnisprozessen führt. Dieser Mechanismus liegt dem Adverse Outcome Pathway 13 (AOP) zugrunde und ist für die Entwicklungsneurotoxizität relevant. Das molekulare Initiationsereignis wird als chronische Bindung des Antagonisten an NMDA-Rezeptoren in Neuronen während der Synaptogenese im Hippocampus (einer der kritischen Gehirnstrukturen für das Lernen und die Gedächtnisbildung) beschrieben (Sachana et al. 2018). *In vitro* wurde eine kompetitive Hemmung des NMDA-Rezeptors an der Glycin-Bindungsstelle

durch Isofluran nachgewiesen (Dickinson et al. 2007). Untersuchungen am Tier zum Wirkungsmechanismus von Isofluran erfolgten nach Exposition gegen Narkosekonzentrationen oder gegen Konzentrationen, bei denen bereits deutliche Anzeichen präanarkotischer Wirkungen, wie ein verminderter Aufrichtreflex, auftraten. Nach Exposition gegen 12 000 bis 30 000 ml Isofluran/m³ kam es bei der Ratte in der Hippocampusregion zu einem Anstieg und zur Akkumulation von Interleukin-1 β und Tumornekrosefaktor- α , was auf eine Neuroinflammation hindeutet. Gleichzeitig kam es auch zu einem Anstieg an β -Amyloid-Peptid. Durch die Aktivierung der Caspase-3-Expression war die Apoptoserate von Gliazellen und Neuronen erhöht. Der Anstieg von HIF-1 α (Hypoxia-inducible factor-1 α), VEGF (vascular endothel growth factor), MMP-2 (Matrix-Metalloproteinase 2) sowie die Abnahme von Kollagen Typ IV und Occludin (Transmembranproteine) im Hippocampus weisen auf eine Schädigung der Blut-Hirn-Schranke hin (siehe Tabelle 4). Besonders empfindlich für die neuroapoptotische Wirkung ist das sich entwickelnde Gehirn, was bei jungen Ratten und Mäusen nachgewiesen wurde (siehe Abschnitt 5.5.2).

Jeweils drei 18 Monate alte Mäuse wurden zwei Stunden lang mit 1,4 % Isofluran (14 000 ml/m³) in 100 % Sauerstoff narkotisiert. Die Kontrolltiere wurden gegen reinen Sauerstoff (100 %) exponiert. Nach der Isofluran-Exposition stieg der Gehalt an phosphorylierten Histonprotein H2A (Variante X (γ H2A.X)) im präfrontalen Cortex des Gehirns auf etwa das 2,4-Fache verglichen mit den Kontrolltieren an (Ni et al. 2017).

2.3 Fertilitätsstörungen

Bei männlichen Ratten wurden ab einer Konzentration von 300 ml Isofluran/m³ eine Schädigung der Hodenkanälchen und der Spermatozyten, sowie ein verminderter Testosteronspiegel beobachtet. Ab 1800 ml Isofluran/m³ wurde eine Abnahme des follikelstimulierenden Hormons (FSH) im Serum gemessen (Xu et al. 2012). In einer weiteren Studie wurde nach 25 Tagen ebenfalls eine Abnahme von Testosteron, Luteinisierendes Hormon (LH) und FSH im Serum beobachtet. Zusätzlich wurde eine Abnahme von Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) im Gehirn nachgewiesen. Eine verminderte Expression von reproduktionsrelevanten Genen im Hypothalamus (*AR*, *Kiss-1*, *GPR54*) und in der Hypophyse (*LH- β* , *FSH- β* , *GnRH-R*) wurde gemessen (Ding et al. 2015). Beide Autoren diskutieren, dass die Effekte auf die Hodenmorphologie und auf die Spermien nach Isofluran-Exposition, auch in nicht narkotischen Konzentrationen, zum einen durch die Wirkung im Hypothalamus auf den Androgen-Rezeptor-Kisspeptin-GPR54-Signalweg, als auch über eine direkte Wirkung im Hoden bedingt sein können.

3 Toxikokinetik und Metabolismus

Die Daten zur Toxikokinetik sind ausführlich in der Begründung aus dem Jahr 1993 (Greim 1993) und im Nachtrag aus dem Jahr 2007 (Greim 2007) dargestellt.

3.1 Aufnahme

Die Aufnahme von Isofluran am Arbeitsplatz erfolgt hauptsächlich inhalativ. Bei zehn gesunden schwangeren Frauen wurde nach einer Isofluran-Anästhesie mit 6000 ml/m³ eine Isofluran-Konzentration von 24 mg/l Blut und im Nabelschnurblut von 70 mg/l Blut bestimmt (Saber und Hougaard 2009).

Aufgrund des hohen Dampfdrucks ist eine Exposition gegen flüssiges Isofluran sehr unwahrscheinlich. Der Anteil von Isofluran, der von Ratten bei einer äußeren Konzentration von 50 000 ml/m³ über die Haut aufgenommen wird, beträgt 0,1% der inhalativ aufgenommenen Menge (McDougal et al. 1990).

3.2 Verteilung

Im Folgenden werden nur die für die Ableitung eines MAK-Wertes wichtigen Parameter nochmals betrachtet. Die Halbwertszeit von Isofluran in den gut durchbluteten Organen wie Gehirn, Leber, Herz und Nieren wird mit ca. 20 Minuten angegeben (Greim 1993, 2007), so dass nach ca. 100 Minuten (5 Halbwertszeiten) das Fließgleichgewicht erreicht sein sollte.

Die Verteilungskoeffizienten von Isofluran für den Menschen sind in [Tabelle 1](#) angegeben.

Tab. 1 Verteilungskoeffizienten von Isofluran für den Menschen

Blut:Luft-Vk.	Urin:Luft-Vk.	Fett:Luft-Vk.	Gewebe:Luft-Vk.				
			Gehirn	Leber	Niere	Muskel	Herz
1,42 ^{a)}	0,72 ^{b)}	69,68 ^{a)}	2,23 ^{a)}	3,12 ^{a)}	1,75 ^{a)}	3,01 ^{a)}	2,2 ^{c)}

Vk.: Verteilungskoeffizient

^{a)} Meulenberg und Vijverberg 2000

^{b)} Accorsi et al. 2001

^{c)} Saber und Hougaard 2009

4 Erfahrungen beim Menschen

4.1 Einmalige Exposition

Isofluran besitzt einen beißend stechenden Geruch (Saber und Hougaard 2009). Die Geruchsschwelle ist nicht bekannt.

Nach einmaligen und wiederholten Isofluran-Narkosen kann es in sehr seltenen Fällen, insbesondere bei Frauen, zu Leberfunktionsstörungen (Hasan 1998; Malnick et al. 2002) und zum Leberversagen mit tödlichem Ausgang kommen (Martin et al. 2001; Peiris et al. 2012; Turner et al. 2000) (siehe auch [Abschnitt 2](#)). Die Effekte, wie stark erhöhte Leberenzyme im Serum, Gelbverfärbung der Leber und nekrotische Bereiche, waren der einer Halothan-Hepatitis sehr ähnlich. In drei Fällen konnten Antikörper gegen trifluoracetylierte Proteine nachgewiesen werden (Gunaratnam et al. 1995; Martin et al. 2001; Meldrum et al. 1998). Es wurden erhöhte Leberenzyme in Seren von Patienten gemessen, die Anästhesien mit Isofluran und mit Halothan in großem zeitlichen Abstand erhalten hatten (Gunaratnam et al. 1995; Malnick et al. 2002; Nishiyama 2013). Es wird eine Kreuz-Reaktivität durch die Inhalationsnarkotika Halothan und Isofluran diskutiert. Diese konnte allerdings in einer retrospektiven Studie an Patienten, die wiederholt bei Operationen mit Inhalationsnarkotika narkotisiert wurden, durch einen Vergleich verschiedener Leberenzym-Aktivitäten nicht bestätigt werden (Nishiyama 2013).

Acht männliche Probanden wurden gegen Isofluran so exponiert, dass nach 20 Minuten subnarkotische Konzentrationen von 1150, 2300 und 4600 ml Isofluran/m³ (0,1; 0,2 und 0,4 MAC; 1 MAC = 11 500 ml/m³) in 100 % Sauerstoff erreicht wurden. Jeder Proband wurde im Abstand von mindestens einer Woche gegen jede der Konzentrationen von Isofluran exponiert. Den Probanden wurden zwei Listen mit jeweils 15 Wörtern vorgelesen und ihre Reaktion auf Kommandos wurde getestet. Nach Exposition gegen 4600 ml/m³ reagierte kein Proband auf Kommandos, und bei fünf von acht Probanden war kein Augenlidreflex festzustellen. Bei 2300 ml/m³ öffneten sieben von acht Probanden die Augen und alle zeigten einen Augenlidreflex. Die Reaktion auf Kommandos war bei allen Probanden unterschiedlich stark eingeschränkt. Nach Exposition gegen 1150 ml/m³ war die Fähigkeit, auf Kommandos zu reagieren bei drei Probanden beeinträchtigt. Eine Stunde nach Expositionsende konnte sich nach Exposition gegen 4600 ml/m³ kein Proband mehr an die vorgelesenen Begriffe erinnern. Auch ab der niedrigsten Konzentration war das Erinnerungsvermögen bei den meisten Probanden stark eingeschränkt (Newton et al. 1990). Für akut neurotoxische Effekte kann aus dieser Studie keine NOAEC abgeleitet werden. Die niedrigste getestete Konzentration von 1150 ml/m³ wird als LOAEC angesehen.

Neurotoxizität – Analogie-Betrachtung zu Halothan

Zur Bewertung der Neurotoxizität wird eine Analogie-Betrachtung zu Halothan vorgenommen. Halothan ist das einzige Fluran zu dem Daten zur Neurotoxizität beim Menschen nach alleiniger Exposition vorliegen. In einer Studie an neun Männern und einer Frau (Anästhesisten, Anästhesie-Techniker), die drei bis vier Stunden gegen 100 bis 150 ml Halothan/m³ exponiert waren, wurden keine statistisch signifikanten Effekte im visuellen Reaktionstest beobachtet. Der Test wurde während der Exposition durchgeführt und jeder Proband stellte seine eigene Kontrolle dar (Smith und Shirley 1977). Auch in einer weiteren Studie von Cook et al. (1978) an 29 männlichen Studenten wurden keine verhaltenstoxischen Effekte im Gedächtnistest (Digit-Span-Test) und in einem audiovisuellen Reaktionstest bis zu einer Konzentration von 200 ml Halothan/m³, Expositionsdauer 0,5 Stunden, beobachtet. Ausgehend von der NOAEC von 100 ml Halothan/m³ errechnet sich über die entsprechenden Verteilungskoeffizienten eine Konzentration von 0,025 mM Halothan im Gehirn (siehe Tabelle 2). Unter Berücksichtigung des Metabolismus von ca. 60 % in einem Konzentrationsbereich von 20 bis 100 ml Halothan/m³ (Dallmeier und Henschler 1981), ergibt sich bei der NOAEC eine Konzentration von 0,0083 mM Halothan im Gehirn. Aufgrund der ähnlichen Molekülstruktur und pharmakodynamischen Eigenschaften der beiden Inhalationsnarkotika wird davon ausgegangen, dass die Konzentration von 0,0083 mM auch als NOAEC für die Neurotoxizität von Isofluran zu betrachten ist. Die Konzentration von 0,0083 mM im Gehirn entspricht umgerechnet einer Konzentration von 92 ml Isofluran/m³ in der Luft. Aufgrund dieses Analogieschlusses wird für den Menschen für akut neurotoxische Effekte eine NOAEC von 92 ml Isofluran/m³ abgeleitet.

Tab. 2 Verteilungskoeffizienten von Halothan und Isofluran

	Molmasse	Konzentration in der Luft (ml/m ³)	Konzentration in der Luft (mg/l)	Blut:Luft- Vk.	Konzentration im Blut (mg/l)	Konzentration im Blut (mM)	Gehirn:Blut- Vk.	Konz. im Gehirn (mM)	Konz. in Luft bei 0,0083 mM (ml/m ³)
Halothan	197,4	7 700 (MAC)	63,07	2,51	158,3	0,802	2,21	1,77	
		100 (NOAEC)	0,82	2,51	2,06	0,010	2,21	0,025	
Isofluran	184,5	12 000 (MAC)	91,87	1,4	77	0,697	1,57	1,095	92

MAC: minimale alveoläre Konzentration; Vk.: Verteilungskoeffizient

4.2 Wiederholte Exposition

4.2.1 Leber- und Nierentoxizität

Im Nachtrag aus dem Jahr 2007 wird darauf hingewiesen, dass eine nephrotoxische Wirkung nach Narkosen mit Isofluran bisher nicht beobachtet wurde (Greim 2007).

Studien, die nach dem Jahr 2006 erschienen sind, werden im Folgenden dargestellt.

Die statistisch signifikant erhöhten Enzymaktivitäten bzw. Konzentrationen im Blut von Aspartataminotransferase (AST), Alaninaminotransferase (ALT), γ -Glutamyltransferase (γ -GT), Gesamt-Bilirubin und Lymphozyten bei 119 Beschäftigten im Gesundheitswesen können nicht allein auf die Exposition gegen Isofluran zurückgeführt werden, da auch eine Exposition gegen Halothan, Enfluran und N₂O vorlag. Die exponierten Beschäftigten klagten im Vergleich zu den 184 nicht exponierten Kontrollpersonen häufiger über Kopfschmerzen, Kraftlosigkeit, Arrhythmien, allergische Reaktionen, Gastritis, Rhinitis, Laryngitis, Herpes und Menstruationsstörungen (Casale et al. 2014).

In einer Kohortenstudie an 52 Personen (Anästhesisten, Chirurgen, Krankenschwestern) einer Klinik im Iran wurde die Leber- und Nephrotoxizität untersucht. Als Kontrollgruppe dienten 52 nicht exponierte Beschäftigte aus der Klinikverwaltung, deren Alter, Gewicht, Größe, Body Mass Index (BMI) und Dauer der Beschäftigung mit den Exponierten übereinstimmte. Von den 52 Exponierten waren 51 und bei den Kontrollpersonen 50 Nichtraucher. Die Expositionsdauer wurde im Mittel mit 10,79 ± 5,63 (Exponierte) und die Beschäftigungsdauer mit 8,69 ± 6,57 (Kontrollpersonen) Jahren angegeben. Im Serum wurden gemessen: ALT, AST, alkalische Phosphatase (ALP), γ -GT, Albumin, Gesamtprotein, Bilirubin, Harnstoff, Kreatinin, Calcium, Phosphor, Kalium, α -Glutathion-S-Transferase (α -GST) und

KIM-1 (Typ-1-Transmembranglykoprotein: Biomarker für Nephrotoxizität). Urinproben wurden nach der dreistündigen Morgenschicht analysiert. Im Urin betrug die Konzentration an Isofluran $4,95 \pm 3,43 \mu\text{g/l}$ (die in der Publikation angegebene Einheit ppm (mg/l) wurde von den Autoren in einem Erratum in $\mu\text{g/l}$ korrigiert, Neghab et al. 2021) (Bereich: 0,78–14,9), an N_2O $175,8 \pm 77,52 \mu\text{g/l}$ (Bereich: 7,98–319,91) und an Sevofluran $15,03 \pm 16,06 \mu\text{g/l}$ (Bereich: 0,76–46,40). Nach Adjustierung für Alter, Geschlecht und BMI waren bei den Exponierten im Serum AST, ALT, γ -GT, α -GST, Kreatinin, KIM-1 und Calcium statistisch signifikant erhöht im Vergleich zu den Kontrollpersonen (Neghab et al. 2020 a). Die Studie kann zur Bewertung der im Serum gemessenen Leberenzyme und Nierenparameter nicht herangezogen werden, da das Operationspersonal gegen mehrere Inhalationsnarkotika exponiert war und eine zuverlässige Adjustierung für Alkoholkonsum nicht erfolgen konnte.

In einer Querschnittsstudie an 53 exponierten Anästhesisten und Chirurgen, die im Durchschnitt zehn Jahre lang, 40 Stunden pro Woche, zu 90 % gegen durchschnittliche Konzentrationen von 6 ml Isofluran/ m^3 und 6 ml Sevofluran/ m^3 exponiert waren und zu ca. 10 % gegen 15 ml Desfluran/ m^3 und 100 ml $\text{N}_2\text{O}/\text{m}^3$, wurden im Blut folgende Parameter untersucht: ALT, AST, γ -GT, ALP, C-reaktives Protein (hs-CRP), Adrenocorticotropin (ACTH), Cortisol und Prolaktin. Im Vergleich zu einer nicht exponierten Kontrollgruppe war kein Parameter statistisch signifikant erhöht. Erfolgte eine getrennte Auswertung nach Männern und Frauen, so war die Prolaktin- und Cortisolkonzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe bei den Männern statistisch signifikant erhöht (Aun et al. 2021).

4.2.2 Neurotoxizität

Studien zur Neurotoxizität nach Narkosen mit Isofluran werden nicht zur Bewertung herangezogen und deshalb auch nicht in diesem Nachtrag dargestellt.

Bei 112 Beschäftigten im Krankenhaus, die im Operationsbereich gegen N_2O und Isofluran exponiert waren, wurden hinsichtlich des Verhaltens (komplexer Reaktionszeittest, Selbsteinschätzung der Befindlichkeit, grundlegende intellektuelle Fähigkeiten) keine Unterschiede zu den 135 Probanden der Kontrollgruppe festgestellt. Die Konzentration an halogenierten Gasen in der Raumluft der Operationsräume wurde für den ersten Tag der Arbeitswoche mit einem geometrischen Mittelwert von $0,4 \text{ ml}/\text{m}^3$ (95. Perzentil 3,8; Bereich 0,1–6,2) und für den letzten Tag von $0,3 \text{ ml}/\text{m}^3$ (95. Perzentil 2,7; Bereich 0,1–3,9) angegeben; für N_2O $23,2 \text{ ml}/\text{m}^3$ (95. Perzentil 127; Bereich 3–183) bzw. $20,6 \text{ ml}/\text{m}^3$ (95. Perzentil 114; Bereich 4–154,5). Die Messungen erfolgten stationär. Im Urin betrug die geometrischen Mittelwerte der Konzentrationen am ersten Tag am Ende der Schicht $0,7 \mu\text{g}$ Isofluran/l (95. Perzentil 2,6; Bereich 0–4,7) und am letzten Tag der Arbeitswoche $0,8 \mu\text{g/l}$ (95. Perzentil 2,0; Bereich 0–5,6) (Lucchini et al. 1997).

Bei 51 zum Operationspersonal gehörenden Personen, die gegen N_2O (Mittelwert $36 \text{ ml}/\text{m}^3$, Bereich 5–360 ml/m^3), Halothan (Mittelwert $0,5 \text{ ml}/\text{m}^3$, Bereich 0,1–6,2 ml/m^3) oder Isofluran (Median $0,5 \text{ ml}/\text{m}^3$, Bereich 0,2–24,1 ml/m^3) exponiert waren, wurden keine neurotoxischen Effekte (Messung der Reaktionszeit, Wechsler Adults Intelligence Scale) oder Auswirkungen auf das Verhalten beobachtet. Die Kontrollgruppe bestand aus 31 nicht-exponierten Personen (Marraccini et al. 1992).

Die vorliegenden Untersuchungen ließen bei niedrigen Isofluran-Konzentrationen von durchschnittlich $0,5 \text{ ml}/\text{m}^3$ bis maximal $24,1 \text{ ml}/\text{m}^3$ keine Hinweise auf eine neurotoxische Wirkung von Isofluran erkennen.

An 53 Krankenschwestern/-pflegern, die mehr als fünf Jahre gegen N_2O , Isofluran, Desfluran und Sevofluran exponiert waren, wurde eine Gleichgewichtsanalyse durchgeführt. Für N_2O wird eine Konzentration von $59 \text{ ml}/\text{m}^3$ als 8-Stunden-Mittelwert angegeben (Median $45 \text{ ml}/\text{m}^3$, Bereich 10–100 ml/m^3). Für Isofluran, Desfluran und Sevofluran wird ohne genaue Angaben beschrieben, dass die Konzentrationen um den Faktor 10 niedriger waren. Als Kontrollgruppe dienten ebenfalls 53 Krankenschwestern/Krankenpfleger des gleichen Krankenhauses, die nicht gegen Anästhesiegase exponiert waren. Die Studie zeigte, dass bei den exponierten Beschäftigten eine leichte posturale Instabilität auftrat (Vouriot et al. 2005). Es wurde nur ein Endpunkt gemessen. Die vorliegenden Hinweise auf periphere Neurotoxizität sind für Isofluran aufgrund seiner Wirkung auf das zentrale Nervensystem eher unwahrscheinlich. Zudem lag Mischexposition vor.

4.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Im Nachtrag aus dem Jahr 2007 (Greim 2007) wird über eine Probandenstudie berichtet, in der elf männliche Freiwillige 15 Sekunden lang gegen die MAC von Enfluran (1,68 %), Halothan (0,77 %), Isofluran (1,15 %) oder Sevofluran (1,71 %) und nach einer 15-minütigen Pause gegen die zweifache MAC der Testsubstanzen exponiert wurden. Nach Isofluran-Exposition kam es bei drei der elf Probanden zu Hustenreiz und zu einer subjektiven Reizwirkung, die im Vergleich zu den anderen Anästhetika am ausgeprägtesten war. Änderungen bestimmter Atemwegparameter (Abnahme der Volumenkapazität, Anstieg der Atemfrequenz und Änderung des expiratorischen Reservevolumens) waren am häufigsten nach Inhalation von Isofluran zu beobachten.

4.4 Allergene Wirkung

Auf den Mechanismus der idiosynkratischen Hepatitis wird im [Abschnitt 2](#) eingegangen.

4.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

In dem Nachtrag aus dem Jahr 2007 werden zwei Fallberichte von Anästhesisten beschrieben, aus denen jedoch keine eindeutige kontaktsensibilisierende Wirkung ableitbar ist (Greim 2007). Weitere Studien sind seitdem nicht publiziert worden.

4.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Nach vierjähriger Tätigkeit mit Isofluran und Sevofluran traten bei einer im Operationsbereich tätigen Person arbeitsplatzbezogene Atemwegssymptome (Atemnot, Giemen, Brustenge, Rhinitis) auf, die sich an arbeitsfreien Tagen verringerten. In einem bronchialen Provokationstest wurde eine verzögerte asthmatische Reaktion (Abfall der Einsekundenkapazität (FEV₁) 4–5 Stunden nach Exposition um bis zu 32 %) festgestellt, im Methacholin-Provokationstest nahm die PD_{20(Methacholin)} von über 4800 auf 2127 µg ab. Dies entspricht zwar nicht der üblicherweise als Positivitätskriterium geforderten Abnahme um den Faktor 3 (Chan-Yeung et al. 2003; Ochmann und Nowak 2016), kann jedoch als Hinweis auf eine Zunahme der unspezifischen Atemwegsempfindlichkeit interpretiert werden. Obwohl diese Person zuvor bereits vier Vollnarkosen symptomlos vertragen hatte, führte die erneute Exposition gegen Sevofluran zu einer anaphylaktischen Reaktion. Bei einer weiteren Person trat eine asthmatische Reaktion erstmals nach 17-jährigem Umgang mit Isofluran und Sevofluran auf, wobei das Ergebnis des bronchialen Provokationstests mit einem Abfall der FEV₁ um 15 % nach acht Stunden von den Autoren als fraglich bewertet wurde. Eine dritte Person entwickelte bereits nach dreijähriger Tätigkeit im Operationsbereich generalisierte Rötung der Haut sowie Gesichtsschwellung, häufig verbunden mit Engegefühl in der Brust. Provokationstests mit Isofluran oder Sevofluran führten zu keiner Veränderung der FEV₁, jedoch trat nach Isofluran-Exposition juckender Hautausschlag auf. Im Methacholin-Provokationstest nahm die PD_{20(Methacholin)} von über 4800 auf 1745 µg nach vorheriger Inhalation von Isofluran ab (Vellore et al. 2006). Diese Befunde werden von der Kommission als Hinweise auf eine immunologische Reaktion nach beruflicher Exposition gegen Isofluran gewertet.

Anaphylaktoide Reaktion auf Isofluran

Bei einem 13-jährigen Patienten kam es während einer Narkose, die mit Midazolam, Fentanyl, Propofol und Atracurium eingeleitet und mit Isofluran (1 % mit 100 % O₂) fortgesetzt wurde, zu einer schweren hämodynamischen Instabilität. Fünf Minuten nach Beginn der Isofluran-Gabe traten schwere Hypotension sowie Tachykardie auf. Wegen des zeitlichen Zusammenhanges und einer komplikationslosen intravenösen Narkose zwei Wochen später vermuten die Autoren eine anaphylaktoide Reaktion auf Isofluran. Allergologische Tests wurden nicht durchgeführt (de Souza Hobaika et al. 2007). Eine siebenjährige Patientin erhielt als Narkosevorbereitung eine Mischung aus Atropin, Codein und Diazepam. Die Anästhesie wurde eingeleitet mit N₂O-O₂ (60 % : 40 %) und Halothan, das im Verlauf der Operation durch Isofluran ersetzt wurde. Bei einer zweiten Operation etwa ein Jahr später unter den gleichen Narkosebedingungen (Austausch von Halothan nach zehnminütiger Gabe durch Isofluran) entwickelte sie fünf Minuten nach Verwendung

von Isofluran ein generalisiertes Erythem, Bronchospasmus und Tachykardie. Schockanzeichen oder Hypotension wurden nicht beobachtet. Nach sofortiger Beendigung der Isoflurangabe, Intubation und Gabe von Antihistaminika verschwanden Hautreaktion und Bronchospasmus. Die Operation wurde mit Halothan ohne weitere Komplikationen fortgesetzt. Auch hier wurden keine allergologischen Tests durchgeführt (Slegers-Karsmakers und Stricker 1988).

Während der Operation eines zweijährigen Kindes zur Behebung eines Vorhofseptumdefektes sowie einer nachfolgenden weiteren Operation traten Symptome eines akuten Koronarsyndroms auf. Die Autoren diskutieren, dass möglicherweise das Kounis-Syndrom dafür verantwortlich ist. Da der Patient in beiden Fällen Rocuronium und Isofluran während beider Anästhesien erhielt, vermuten die Autoren, dass eines der beiden Medikamente dafür verantwortlich sein könnte. Allergologische Untersuchungen wurden jedoch nicht durchgeführt (Parent et al. 2011).

Da bei den beschriebenen Fällen Komplikationen nach Gabe verschiedener Narkotika beobachtet worden sind und keine allergologischen Untersuchungen durchgeführt wurden, können die berichteten Fälle nicht für die Bewertung einer atemwegssensibilisierenden Wirkung herangezogen werden.

4.5 Reproduktionstoxizität

Epidemiologische Studien zu Effekten auf die männlichen Reproduktionsorgane oder auf die männliche Fertilität liegen nicht vor.

Spermienproben von gesunden Männern wurden *in vitro* gegen Isofluran (0; 1,4; 2,8; 4,2 oder 5,6 Vol.-%) für 0,5 bis 4 Stunden exponiert. In jeder Konzentrationsgruppe nahm die Spermienbeweglichkeit und Vitalität statistisch signifikant im Vergleich zur nicht exponierten Kontrollprobe zu. Mit zunehmender Inkubationszeit nahm die Spermienbeweglichkeit und Vitalität ab (Wang et al. 2008).

Seit dem Nachtrag aus dem Jahr 2007 liegen mehrere Übersichtsarbeiten zum Zusammenhang zwischen reduzierter Fertilität, Frühgeburten, kognitiven Effekten und Fehlgeburten und der Exposition gegen anästhetische Gase am Arbeitsplatz vor (Boivin 1997; Nilsson et al. 2005; Oliveira et al. 2021 (Spontanabortrate, 18 Studien); Quansah und Jaakkola 2010). Oliveira et al. (2021) erläutern, dass ca. in der Hälfte der Studien vor dem Jahr 2000 eine Assoziation der Exposition gegen Narkosegase in der Raumluft mit einer erhöhten Spontanabortrate gefunden wurde, nach dem Jahr 2000 dagegen nicht. Alle Autoren heben hervor, dass aufgrund der Heterogenität der Studien keine abschließende Bewertung des Risikos für entwicklungstoxische Effekte vorgenommen werden kann. In den einzeln aufgelisteten Studien liegen keine Angaben zur Expositionshöhe gegen die verschiedenen Inhalationsnarkotika vor und zudem ist meist unklar, gegen welche Inhalationsnarkotika die Beschäftigten exponiert waren, so dass keine spezifische Aussage zu Isofluran bezüglich Reproduktionstoxizität möglich ist. Es liegen somit Hinweise auf reproduktionstoxische Effekte nach Exposition gegen Inhalationsnarkotika vor, die in Bezug auf Isofluran weiterer Abklärung bedürfen.

4.6 Genotoxizität

Die bis zum Jahr 2005 veröffentlichten Studien sind ausführlich im Nachtrag 2007 (Greim 2007) beschrieben. Alle Studien ab dem Jahr 2005 mit Expositionsangaben sind in [Tabelle 3](#) dargestellt und werden ausführlich beschrieben. Studien ohne Angaben zur Expositionshöhe (Chandrasekhar et al. 2006; El-Ebiary et al. 2012; Izdes et al. 2010; Reitz et al. 1994; Rozgaj et al. 2009; Szyfter et al. 2016) werden zur Bewertung nicht herangezogen.

4.6.1 Studien an Arbeitsplätzen

Die Lymphozyten von 153 weiblichen Beschäftigten im Operationsbereich wurden auf Chromosomenaberrationen, Schwesterchromatidaustausche (SCE) und Mikronuklei untersucht. Als Kontrollgruppen wurden 197 Radiologinnen, die nicht gegen Inhalationsnarkotika exponiert waren, und 153 Personen aus der Bevölkerung verwendet. Von den exponierten Beschäftigten waren 99 Raucher und 54 Nichtraucher. In den Kontrollgruppen wurde keine Unterteilung in Raucher und Nichtraucher vorgenommen. Zur Bestimmung der Isofluran-Konzentration wurden zwei Messungen durchgeführt. Die erste Messung erfolgte in einem belüfteten Operationsraum und die Konzentrationen wurden mit

<0,1 ml Isofluran/m³ und mit 0,1 bis 0,27 ml N₂O/m³ angegeben. Bei der zweiten Messung war der Operationsraum nicht belüftet und es wird berichtet, dass die Konzentrationen 3,9- und 4,7-fach über der erlaubten Expositionskonzentration lagen, die aber nicht angegeben wird. Die Halothan-Konzentration betrug ca. 0,5 ml/m³. Im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen wurden bei den exponierten Beschäftigten statistisch signifikant erhöhte Zunahmen an Chromosomenaberrationen, SCE und Mikronuklei beobachtet. Die Mikronukleusrate korrelierte auch mit dem Alter und die SCE-Rate mit der Beschäftigungsdauer (Bilban et al. 2005). Aufgrund der unklaren Expositionsangabe, der Mischexposition zusätzlich gegen N₂O und Halothan, der ebenfalls positiven Korrelation mit dem Alter und der unzureichenden Biostatistik kann die Studie zur Bewertung der Genotoxizität von Isofluran nicht herangezogen werden.

Bei 55 Krankenschwestern und 29 männlichen Anästhesisten wurde keine Korrelation zwischen erhöhten DNA-Schäden (Comet-Assay) in Leukozyten im Blut und der stationär gemessenen Konzentration von Isofluran beobachtet, die im Bereich von 0,07 bis 1,9 ml/m³ lag. Jedoch bestand eine Korrelation ($r = 0,56$) zwischen der Konzentration an N₂O (Bereich 6–1502 ml/m³) und DNA-Schäden. Als Kontrollgruppe dienten 52 Krankenschwestern und 31 Mediziner, die nicht gegen Inhalationsnarkotika exponiert waren. Der Anteil an Rauchern betrug 40 bis 54 %. Die Gruppen wurden nach Alter, Geschlecht und Raucherstatus angepasst. Raucher, die weniger als zehn Zigaretten rauchten und Personen, die gegen Röntgenstrahlung exponiert waren, wurden ausgeschlossen (Wrońska-Nofer et al. 2009).

Bei 20 männlichen und zehn weiblichen Anästhesisten, die im Durchschnitt 16 Jahre (2–44 Jahre) gegen Narkosegase im Operationsbereich exponiert waren, wurden die DNA-Strangbruchrate in Lymphozyten und die Mikronukleusrate in Epithelzellen der Mundschleimhaut untersucht. Die Probenahme erfolgte am Morgen nüchtern. Eine nicht exponierte Kontrollgruppe wurde bezüglich Alter, Geschlecht und Lebensstil (u. a. Ernährung, körperliche Aktivität, Alkohol-, Tabakkonsum) ausgewählt. Die während der Operationen gemessenen Konzentrationen betragen für Isofluran $5,5 \pm 4,4$ ml/m³ (0,4–16,5), für Sevofluran $7,7 \pm 8,7$ ml/m³ (0,2–34,4), für Desfluran $16,4 \pm 6,0$ ml/m³ (8,2–23,2) und für N₂O $150,3 \pm 135,7$ ml/m³ (61–350, zeitgewichteter Mittelwert (TWA): 178 ± 152) und wurden stationär in der Atemzone der Anästhesisten erhoben. In der Gruppe der Exponierten waren die Mikronukleusrate in den Epithelzellen der Mundschleimhaut statistisch signifikant erhöht sowie die Zahl an Basalzellen erniedrigt. Statistisch signifikant erhöhte Karyorrhexis (Kernfragmentierung) und Kernpyknose waren bei den Exponierten im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenfalls zu beobachten. In Lymphozyten trat keine erhöhte DNA-Strangbruchrate auf (Souza et al. 2016).

Bei zehn Chirurgen (sieben Männer, drei Frauen), 18 Krankenpflegern, 16 Krankenschwestern und 16 Technikern (fünf Männer, elf Frauen) aus dem Operationsbereich wurden die Lymphozyten aus dem Blut auf die erhöhte Bildung von Mikronuklei und Chromosomenaberrationen untersucht. Als Kontrollgruppe dienten 60 Krankenschwestern/-pfleger ohne Exposition gegen Inhalationsnarkotika. Die personenbezogenen Konzentrationen von Isofluran wurden mit $2,4 \pm 0,9$ ml/m³ (0,5–4,2), die von Sevofluran mit $0,2 \pm 0,1$ ml/m³ (0,01–0,59) und die stationären von N₂O mit 851 ± 920 ml/m³ (10–2895) angegeben. Zusätzlich wurde der Genotyp von Glutathiontransferasen (GSTM1, GSTT1 und GSTP1) bestimmt. In der Gruppenbetrachtung traten bei den Exponierten statistisch signifikant mehr Chromosomenaberrationen und Mikronuklei auf, als bei den Nicht-Exponierten. In den Untergruppen wurde dies bei den Krankenschwestern/-pflegern und technischem Personal, aber nicht bei dem chirurgischen Personal beobachtet. Bei den Exponierten war die erhöhte Inzidenz an Mikronuklei mit dem kombinierten Auftreten von Polymorphismen bei allen drei Glutathiontransferasen korreliert. Zytotoxizität, gemessen als CBPI (Zytokinese-Block-Proliferations-Index), war bei Exponierten und Nicht-Exponierten nicht statistisch signifikant unterschiedlich. Da bei den Beschäftigten eine Exposition gegen andere Chemikalien und gegen Röntgenstrahlung ausgeschlossen wurde, sind die Autoren der Meinung, dass die beobachteten genotoxischen Effekte auf Inhalationsnarkotika zurückgeführt werden könnten und die Wirkung durch den Polymorphismus von Glutathiontransferasen moduliert werden kann. Die Effekte bedürfen weiterer Abklärung (Kargar Shouroki et al. 2019). Am vermutlich selben Kollektiv wurde eine Korrelation zwischen oxidativem Stress und erhöhter Bildung von Mikronuklei und Chromosomenaberrationen untersucht. Als Parameter für oxidativen Stress wurden im Blut Malondialdehyd, die Aktivität der Superoxiddismutase (SOD) und die „gesamte antioxidative Kapazität“ (TAC) gemessen. TAC (Exponierte: $1,76 \pm 0,59$ mM; Kontrolle: $2,13 \pm 0,64$ mM) und die Aktivität der SOD (Exponierte: $11,22 \pm 5,11$ U/ml, Kontrolle: $13,36 \pm 4,12$ U/ml) waren bei den Exponierten statistisch signifikant niedriger als bei den Nicht-Exponierten. Die Konzentration an Malondialdehyd war in der Gruppe der Exponierten statistisch signifikant erhöht (Exponierte: $2,46 \pm 0,66$ µM; Kontrolle: $2,19 \pm 0,68$ µM). Es wurden statistisch signifikante Assoziationen der

Mikronukleus-Häufigkeit mit Inhalationsnarkotika, Alter, Aktivität von SOD und TAC und der Chromosomenaberrationen mit der Exposition gegen Inhalationsnarkotika und SOD beobachtet (Neghab et al. 2020 b).

DNA-Schäden in Lymphozyten und Mikronuklei in Zellen der Mundschleimhaut wurden bei zwölf weiblichen und 20 männlichen Ärzten am Ende ihrer dreijährigen chirurgischen oder anästhesiologischen Ausbildung untersucht. In dieser Zeit waren sie 37 Stunden pro Woche gegen verschiedene Narkosegase exponiert. Eine nicht exponierte Kontrollgruppe an Ärzten wurde bezüglich Alter, Geschlecht und BMI ausgewählt. Ausschlusskriterien waren Rauchen und hoher Alkoholkonsum. Die in der Atemzone der Ärzte gemessenen Konzentrationen während der Operation betragen in Operationsräumen ohne Belüftung 9,2 ml Isofluran/m³ (3,0–17,8), 16,4 ml Sevofluran/m³ (5,3–34,1) und 235 ml N₂O/m³ (120–350). In Operationsräumen mit Belüftung betragen die Konzentrationen 1,3 ml Isofluran/m³ (0,3–3,2), 2,9 ml Sevofluran/m³ (1,0–7,2) und 66 ml N₂O/m³ (61–70). Alle Exponierten arbeiteten in jedem der Operationsräume. DNA-Schäden im Comet-Assay (Tail intensity) waren statistisch signifikant höher (1,6-fach) in der exponierten Gruppe. Es wurden jedoch keine Mikronuklei in Zellen der Mundschleimhaut und auch keine oxidativen Basenschäden im Blut induziert. Im Blut waren Marker für oxidativen Stress, wie Malondialdehyd, nicht erhöht, jedoch war der proinflammatorische Marker IL-17A induziert (Braz et al. 2020).

Tab. 3 Studien zur genotoxischen Wirkung bei OP-Personal und Veterinärmedizinern

Kollektiv	Exposition	Ergebnis ^{a)}	Literatur
Exponierte: 27 Anästhesisten (NR), Kontrolle: 27 Internisten (NR)	N ₂ O: 11,8 ml/m ³ (8-h-TWA), Isofluran: 0,5 ml/m ³ (8-h-TWA), 100 % <2 ml/m ³ , 3 Monate, Messung: Ende der Schicht, Ende der Wo	SCE: positiv, Exponierte: 9,0 ± 1,3 SCE/Zelle, Kontrolle: 8,0 ± 1,4 SCE/Zelle	Hoerauf et al. 1999 c
Exponierte: 10 Tierchirurgen (NR), Kontrolle: 10 Tierärzte (NR)	N ₂ O: 12,3 ml/m ³ (8-h-TWA), Isofluran: 5,3 ml/m ³ (8-h-TWA), 86 % <2 ml/m ³ , 94 % <10 ml/m ³	SCE: positiv, Exponierte: 10,2 ± 1,9 SCE/Zelle, Kontrolle: 7,4 ± 2,4 SCE/Zelle, MN: negativ, Exponierte: 2,11 ± 0,28 MN, Kontrolle: 2,00 ± 0,18 MN	Hoerauf et al. 1999 a
Exponierte: 25 Krankenhaus-Beschäftigte (Anästhesiepersonal), Kontrolle: 25 Angestellte Osteuropäische Universität	N ₂ O: 170 ml/m ³ , Halothan: 4 ml/m ³ , Isofluran: 4 ml/m ³	SCE: positiv, abgeschätzt aus Abb.: Exponierte: ca. 12,6 SCE/Zelle, Kontrolle: ca. 9,8 SCE/Zelle, MN: positiv, Exponierte: 14 MN/1000 BNC (9–26,7), Kontrolle: 11,3 MN/1000 BNC (3,2–19,4)	Wiesner et al. 2001, 2002
Exponierte: 25 Personen, Kontrolle: 25 Angestellte Deutsche Universität	N ₂ O: 12 ml/m ³ , Isofluran, Sevofluran, Desfluran <0,5 ml/m ³	MN: negativ, Median: Exponierte: 9,8 MN/1000 BNC (4,2–20), Kontrolle: 10,5 MN/1000 BNC (5,0–20,5)	Wiesner et al. 2001
Exponierte: 153 weibliche Krankenhaus- Beschäftigte (99 R, 54 NR), Kontrolle: 197 Radiologinnen, 153 Frauen der Allgemein-Bevölkerung, keine Unterscheidung zwischen R und NR	1. Messung: Raum belüftet: Isofluran: <0,1 ml/m ³ , N ₂ O: 0,1–0,27 ml/m ³ , 2. Messung: Raum nicht belüftet: Isofluran: 4,7 und 3,9 × PEL (k. w. A.), N ₂ O: k. A. 3. Messung: Raum nicht belüftet: Halothan: 0,5 ml/m ³ (=10 % der PEL), stationär	Lymphozyten: CA ↑, SCE ↑, MN ↑ im Vergleich zur Allgemein-Bevölkerungsgruppe u. Radiologinnen, CA verschieden zwischen R u. NR, MN korreliert mit Alter, SCE korreliert mit Beschäftigungsdauer	Bilban et al. 2005
Exponierte: 55 Krankenschwestern, 29 männliche Anästhesisten, Kontrolle: 52 Krankenschwestern, 31 Mediziner, Anteil R 40–54 %	stationär: Isofluran: 0,68 ml/m ³ (0,07–1,83), Sevofluran: 0,56 ml/m ³ (0,05–1,8), N ₂ O: 242 ml/m ³ (3,3–826)	keine Korrelation von DNA-Schäden (Comet- Assay) mit Isofluran, aber mit N ₂ O	Wrońska- Nofer et al. 2009

Tab. 3 (Fortsetzung)

Kollektiv	Exposition	Ergebnis ^{a)}	Literatur
Exponierte: 30 Anästhesisten (20 Männer, 10 Frauen), Kontrolle: 27 Ärzte (18 Männer, 9 Frauen)	Isofluran: 5,5 ± 4,4 ml/m ³ (0,4–16,5), Sevofluran: 7,7 ± 8,7 ml/m ³ (0,2–34,4), Desfluran: 16,4 ± 6,0 ml/m ³ (8,2–23,2), N ₂ O: 150,3 ± 135,7 ml/m ³ (61–350), 16 Jahre im Mittel, stationär in der Atemzone, Blut u. Proben vor Schichtbeginn, nüchtern	Epithelzellen der Mundschleimhaut: MN ↑, Kernfragmentierung, Kernpyknose, Zahl der Basalzellen ↓, Lymphozyten: keine Effekte, Comet-Assay negativ	Souza et al. 2016
Exponierte: 10 Chirurgen (7 Männer, 3 Frauen), 34 Krankenschwestern/-pfleger (18 Männer, 16 Frauen), 16 Techniker (5 Männer, 11 Frauen), Kontrolle: 60 Krankenschwestern/-pfleger (35 Männer, 25 Frauen)	Isofluran: 2,4 ± 0,86 ml/m ³ (0,49–4,15), N ₂ O: 851 ± 920 ml/m ³ (10–2895), Sevofluran: 0,18 ± 0,14 ml/m ³ (0,01–0,59)	Lymphozyten: CA u. MN: ↑, bei Krankenschwestern/-pflegern und technischem, nicht bei chirurgischem Personal; CBPI nicht stat. sign. unterschiedlich	Kargar Shouroki et al. 2019
Exponierte: 31 Ärzte (19 Männer, 12 Frauen), Kontrolle: 32 Ärzte (20 Männer, 12 Frauen)	OP ohne Abzug: Isofluran: 9,2 ml/m ³ (3,0–17,8), Sevofluran: 16,4 ml/m ³ (5,3–34,1), N ₂ O: 235 ml/m ³ (120–350), OP mit Abzug: Isofluran: 1,3 ml/m ³ (0,3–3,2), Sevofluran: 2,9 ml/m ³ (1,0–7,2), N ₂ O: 66 ml/m ³ (61–70); 3 Jahre, 37 h/Wo	Lymphozyten: Comet-Assay (Tail intensity) ↑ (1,6-fach), Epithelzellen Mundschleimhaut: MN keine Effekte; k. A. zur Zytotoxizität	Braz et al. 2020

^{a)} wenn nicht anders angegeben, sind die aufgeführten Veränderungen statistisch signifikant

BNC: zweikernige Zellen; CA: Chromosomenaberrationen; CBPI: Zytokinese-Block-Proliferations-Index; k. A.: keine Angaben; MN: Mikrokern; NR: Nichtraucher; OP: Operationssaal; PEL: zulässige Expositionskonzentration; R: Raucher; SCE: Schwesterchromatidaustausch; stat. sign.: statistisch signifikant; TWA: zeitgewichteter Mittelwert; Wo: Woche

4.6.2 Studien an Personen unter und nach Narkose

Bei zwölf Männern und acht Frauen (Alter 18 bis 45 Jahre) wurden Lymphozyten während (zwei Stunden nach Beginn der Anästhesie) und am ersten Tag nach der Narkose mit 1,2 % Isofluran (12 000 ml/m³) auf DNA-Schäden, oxidative Basenschäden, sowie veränderte Expression von DNA-Reparaturgenen (*hOGG1*, *XRCC1*, *BCL2*: Protein wirkt antiapoptotisch) untersucht. Die Narkose dauerte mindestens zwei Stunden und wurde folgendermaßen durchgeführt: 3 mg Midazolam i.v., Fentanyl 5 µg/kg KG i.v., Propofol 2 mg/kg KG i.v., Aufrechterhaltung der Narkose 1,2 % Isofluran, neuromuskulärer Blocker Rocuroniumbromid 0,6 mg/kg KG i.v., 40 % O₂. Personen mit Vorerkrankungen und regelmäßiger Medikamenteneinnahme, Supplementierung mit Antioxidantien, Raucher, Alkoholiker und Strahlenbehandelte wurden ausgeschlossen. Es wurden im Comet-Assay im Vergleich zu vor der Narkose zu keinem Zeitpunkt erhöhte DNA-Schäden oder eine Zunahme an oxidierten Purinen und Pyrimidinen festgestellt, sowie keine erhöhte Zytotoxizität an Lymphozyten (Bestimmung von CD4+-Helferzellen und CD8+-T-Zellen). In den T-Zellen wurde keine Apoptose (Annexin-V/7-Aminoactinomycin-Färbung) induziert. Die Gene *hOGG1*, *XRCC1* und *BCL2* waren am ersten Tag nach der Narkose herunterreguliert (Braz et al. 2011 b).

In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe traten in Lymphozyten von acht Männern und sieben Frauen (Alter 18 bis 40 Jahre) während (zwei Stunden nach Beginn der Anästhesie) und am ersten Tag nach der Narkose (minimal invasive Operationen: Ohren-Operation oder Begradigung der Nasenscheidewand; Narkosedurchführung siehe Braz et al. 2011 b) mit 1,2 % Isofluran (12 000 ml/m³) keine erhöhten DNA-Schäden im Comet-Assay im Vergleich zu vor der Operation auf (Braz et al. 2011 a).

Bei neun Frauen und drei Männern im Alter von 20 bis 66 Jahren, die im Rahmen einer Abdominal-Operation eine Narkose mit 1 bis 1,5 % Isofluran erhalten hatten, wurden die Lymphozyten vor, ein und zwei Stunden nach Beginn der Narkose, sowie am ersten, dritten und fünften Tag nach der Operation im Comet-Assay untersucht. Als Kontrollpersonen diente eine Vergleichsgruppe von zwölf Personen, die nicht anästhesiert wurden und von denen nur einmalig die

Lymphozyten untersucht wurden. Es wird angegeben, dass die Patienten keine anderweitigen Erkrankungen hatten, es die erste Narkose war, keine Behandlung mit Bestrahlung erfolgte oder Diabetes vorlag und sie Nichtraucher waren. Die Narkose dauerte im Mittel ca. 133 Minuten und wurde folgendermaßen durchgeführt: 5–7 mg Thiopenton/kg KG i.v., 0,1 mg Fentanylcitrat i.v., Aufrechterhaltung der Narkose mit 1–1,5 % Isofluran in Sauerstoff-Luft-Gemisch, neuromuskulärer Blocker Vecuroniumbromid 0,1 mg/kg KG. Vor der Narkose war die mittlere Zahl an Kometen zwischen den Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe nicht statistisch signifikant unterschiedlich. Nach einer und zwei Stunden, sowie am ersten Tag nach der Operation war die Zahl an Lymphozyten mit Kometen statistisch signifikant erhöht, am höchsten nach zwei Stunden, im Vergleich zu denjenigen vor der Narkose und zur Kontrollgruppe. Am dritten und fünften Tag nach der Narkose waren die Werte nicht mehr statistisch signifikant unterschiedlich im Vergleich zu den Werten vor der Narkose und zu den Kontrollpersonen. Die Autoren weisen darauf hin, dass für die weiteren Stoffe, die bei der Narkose verwendet wurden, bisher keine genotoxische Wirkung nachgewiesen wurde (Karabiyik et al. 2001; Şardaş et al. 1998). Ob sich die Effekte allein auf die Wirkung von Isofluran zurückführen lassen, ist unklar. Es wurden nur 100 Zellen pro Patient untersucht.

4.6.3 Fazit

Die Querschnittsstudien zu DNA-Schäden bei Operationspersonal geben allenfalls Hinweise auf ein genotoxisches Potential für Isofluran bei dieser Berufsgruppe. Da jedoch eine Mischexposition unterschiedlicher Inhalationsnarkotika in den OP-Räumen vorlag, die frühere Exposition gegen andere Inhalationsnarkotika nicht angegeben und die Biostatistik zum Teil unklar ist, kann aus den vorliegenden Studien eine spezifische genotoxische Wirkung für Isofluran nicht abgeleitet werden. Studien zu DNA-Schäden, die während oder nach einer Narkose mit Isofluran bei minimal invasiven Operationen bei Patienten ohne Vorerkrankungen durchgeführt wurden, waren negativ.

4.7 Kanzerogenität

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Da die neurotoxische Wirkung beim Menschen der empfindlichste Endpunkt ist, werden Untersuchungen zur Neurotoxizität an Ratten und Mäusen nach akuter Inhalation ausführlich in [Tabelle 4](#) dargestellt. Es liegen nur Studien mit narkotischen Isofluran-Konzentrationen vor. Es wurden verminderte kognitive Leistungen im Morris-Water-Maze-Test und Barnes-Maze-Test beobachtet. Das in diesen Tests geprüfte Erinnerungsvermögen blieb meistens unbeeinflusst. Entscheidend für die Effekte auf die Neurotoxizität sind das Alter der Tiere, die Konzentration und die Dauer der Narkose, sowie der Untersuchungszeitpunkt (siehe auch [Abschnitt 5.5.2.2](#)).

Tab. 4 Studien zur Neurotoxizität nach akuter Exposition gegen Isofluran

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Konzentration, Dauer	Untersuchungszeitpunkt	kognitive Effekte	Effekte im Hippocampus ^{a)}	Literatur
SD-Ratte, 6–12 ♂, Alter: 20 Mo	0; 1,5%, 4 h	direkt nach Exposition	kognitive Defizite	HIR-1 α \uparrow , VEGF \uparrow , MMP-2 \uparrow , Collagen Typ IV \downarrow u. Occludin \downarrow , Akkumulation: HIR-1 α , VEGF	Cao et al. 2018
F344-Ratte, 12, k. w. A., Alter: 18 Mo	Gruppe 1: 100% O ₂ , Gruppe 2: 1,2% Isofluran in 100% O ₂ , Gruppe 3: 1,2% Isofluran 2 h, dann UTI, Gruppe 4: zuerst UTI, dann 1,2% Isofluran 2 h	16 h, 14 d	14 d: BMT: verminderte kognitive Leistungen, UTI wirkt dagegen	16 h: Caspase 3 \uparrow , β -Amyloid-Peptid \uparrow , IL-1 β \uparrow , TNF- α \uparrow , UTI vermindert Effekte, 13 min nach BMT: Apoptose \uparrow , UTI vermindert Apoptose	Guo et al. 2019
Wistar-Ratte, 8 ♂, Alter: k. w. A.	0; 1,2%, 3 h; 1,2%, 3 h u. 2 h Erholung	direkt nach Exposition, 72 h	nicht untersucht	Proteinmapping: Proteinexpression zahlreicher Proteine verändert	Kalenka et al. 2010
SD-Ratte, insgesamt 76 ♂, Alter: 20 Mo	0 (100% O ₂), 1,5%, 1, 4 h	3, 6, 12, 24 h	MWMT: 4 h: Fluchtlatenz ab 4. Tag \uparrow	1 h: unverändert: Beclin 1, LC3B, p62, 4 h: LC3B \downarrow , nach 3 h/6 h Beclin 1 \uparrow , nach 12 h/24 h: Beclin 1 \downarrow	Li et al. 2015
F344-Ratte, k. w. A., ♂, Alter: 4 Mo	0 (100% O ₂), 1,2%, 2 h	6 h, 16 h, 14 d, 29 d	BMT: 14 d: Angstkonditionierungstest: verminderte Erstarrungszeit („reduced freezing time“), vermindertes räumliches Lernen	Hippocampus: 6 h: IL-1 β \uparrow , TNF- α unverändert, 16 h: Caspase-3-Protein \uparrow , 14/29 d: keine Effekte, 29 d: neuronale Dichte in der CA1-Region \downarrow , in der CA3-Region \downarrow (nicht stat. sign.)	Lin und Zuo 2011
Ratte, k. w. A., 4 k. w. A., Alter: 18 Mo	0; 1,4%, 2 h; 2 h vor Isofluran-Exposition VB12-Gabe: 10 oder 20 μ g	6 h, 2 Wo	MWMT u. BMT: 2 Wo: verminderte kognitive Leistungen, nach Zugabe von VB12 nicht so stark ausgeprägt, kein Einfluss auf das Erinnerungsvermögen	6 h: IL-1 β \uparrow , Caspase-3-Protein \uparrow , unverändert: Amyloid β , im zerebralen Cortex: TNF- α , IL-1 β	Sha et al. 2017
Wistar-Ratte, 12 ♂, Alter 4 Mo (24 Mo) Angabe unklar	Kontrolle: 30% O ₂ , 2 h, Narkose: 3%, 2 h, dann 1,5% in 30% O ₂ , 2 h	0; 0,5; 1; 3; 7 d	MWMT: unverändert: Schwimmgeschwindigkeit, alle Untersuchungszeitpunkte: Fluchtlatenz \uparrow , Überquerungen der Originalplattform \downarrow	kein Effekt: Expression von BACE-1, BACE-1-Protein, ab 1 d: Expression APP \uparrow , ab 0,5 d: Amyloid- β 42-Protein \uparrow , APP-Protein \downarrow (nicht stat. sign.), ab 3 d: A β -Peptid-Plaques \uparrow	Zhang et al. 2017
C57BL/6-Maus, 8 ♂, Alter: 8–10 Wo	0; 1,2% in 100% O ₂ , 6 h	1 d, 3 d, 7 d	Test auf Wiedererkennung neuer Objekte: am 1., 3., 7. d: Erkundungszeit \downarrow , Unterscheidungsindex \downarrow , Angstkonditionierungstest: Erstarrungszeit („reduced freezing time“) \downarrow , Cued-Angst-Gedächtnislöschungstest: Erstarrungszeit, Gedächtniskonsolidierung („memory consolidation“) beeinträchtigt	Proteinexpression von p-GSK-3 β \downarrow , t-GSK-3 β \downarrow , DIR \downarrow , COMT \uparrow	Du et al. 2020

Tab. 4 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Konzentration, Dauer	Untersuchungszeitpunkt	kognitive Effekte	Effekte im Hippocampus ^{a)}	Literatur
C57BL/6-Maus, 12 ♂, Alter: 8 Wo	0,5 h: 0,7%; 2 h: 0,7%; 4 h: 1,4%; Kontrolle: 0%	24 h, 2 Wo	10 d: MWMT: Schwimmgeschwindigkeit unbeeinflusst, 0,7%, 0,5 u. 2 h: Zeit um Plattform zu erreichen (escape latency) ↓, Anzahl der Plattform-Überquerungen ↑, 1,4%, 4 h: Zeit um Plattform zu erreichen ↑ (escape latency), Anzahl der Plattform-Überquerungen ↓	24 h: 0,7%, 0,5 h u. 2 h: NDMA-Rezeptor-Protein ↑, ERK1/2 ↑, 1,4%, 2 h u. 4 h: Caspase-3-Protein ↑, ERK1/2 ↓, 2 Wo: 0,7%, 0,5 h u. 2 h: NDMA-Rezeptor-Protein ↑, 1,4%, 4 h: Caspase-3-Protein ↑, 1,4%, 2 h u. 4 h: NDMA-Rezeptor-Protein ↓, ERK1/2 ↓	Liu et al. 2014
C57BL/6-Maus, 10–12 ♂, 8–10 ♀, Alter: 7 d	0; 1,5% in 30% O ₂ u. 70% N ₂ , 6 h	2 h, 32 d	keine Effekte im MWMT	2 h: S100β im Plasma ↑, Caspase-3-Protein ↑, kein Effekt: TNF-α, IL-1β, IL-6	Yang et al. 2014

^{a)} wenn nicht anders angegeben, sind die aufgeführten Veränderungen statistisch signifikant

APP: Amyloid precursor protein; BACE-1: β-site APP cleavage enzyme-1; BMT: Barnes-Maze-Test; d: Tage; COMT: Anti-catechol-O-methyltransferase; D1R: Dopamin-Rezeptor; ERK: Extracellular-signal regulated kinase; p-GSK-3β: Anti-phospho-glycogen synthase kinase-3β; HIR-1α: Hypoxia-inducible-factor; HO-1: Hämoxigenase-1; HSP: Heat shock protein; IL: Interleukin; k. w. A.: keine weiteren Angaben; LC3B: Protein microtubule-associated protein 1 light chain-3B; MWMT: Morris-Water-Maze-Test; Mo: Monate; NDMA-Rezeptor: N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor (Glutamat-Rezeptor); p62: Indikator für Autophagie; TNF: Tumor-Nekrose-Faktor; UTI: Ulinastatin (antiinflammatorisches Medikament); VB12: Vitamin B12; VEGF: Vascular endothelial growth factor; Wo: Wochen

5.1.2 Orale Aufnahme

Jeweils sieben Kaninchen erhielten 0 (0,9% NaCl), 5 oder 10 ml flüssiges Isofluran/kg KG über eine Nasen-Magen-Sonde. Alle fünf Minuten wurden die Tiere beobachtet. Untersucht (k. A. zum Zeitpunkt) wurden die Leber, die Nieren und die Lunge. In der Leber wurden ab 5 ml/kg KG Lymphozyten-Infiltrationen, vergrößerte portale Bereiche und Kernpolymorphismen in den Hepatozyten beobachtet. Nekrosen wurden nicht festgestellt. Die Nieren wiesen ebenfalls Lymphozyten- und Neutrophilen-Infiltrationen auf, sowie „Substanz-Ansammlungen“ im Interstitium. In den fokalen Bereichen der Lunge waren die Alveolen geschädigt und bei einem Kaninchen traten Verdickungen in einer Region auf. Ödeme und Stauungen wurden beobachtet (Arici et al. 2013). Aufgrund der für den Arbeitsplatz nicht relevanten Applikationsart wird die Studie nicht zur Bewertung herangezogen.

5.1.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Es liegen nur Studien nach inhalativer Exposition vor, die bereits ausführlich in der Begründung aus dem Jahr 1993 und im Nachtrag aus dem Jahr 2007 beschrieben wurden. Die nachfolgende [Tabelle 5](#) stellt diese Studien nochmals zusammenfassend dar.

Nach neunwöchiger Exposition wurden bei Mäusen bis zu einer Konzentration von 5000 ml Isofluran/m³ keine histopathologischen Effekte auf Leber, Nieren, Gehirn, Testes und Ovarien beobachtet. AST, CYP, Cytochrom b5 und Hämatokrit waren bis zu dieser Konzentration unverändert (Rice et al. 1986). Aus einer chronischen Toxizitätsstudie lässt sich für die Maus eine NOAEC von 4000 ml/m³ ableiten (siehe [Tabelle 5](#)) (Baden et al. 1988).

Nach 30-wöchiger kontinuierlicher Exposition gegen 20 ml/m³ wurden bei der männlichen Ratte keine histopathologischen Effekte an der Leber oder Niere beobachtet. Auch der Gehalt an CYP in der Leber und die Aktivität der ALT im Serum waren unverändert. Für die männliche Ratte kann eine NOAEC für Leber- und Nierentoxizität von 20 ml/m³ abgeleitet werden (Plummer et al. 1986).

Es liegen keine Untersuchungen zur Neurotoxizität nach chronischer Exposition vor, so dass zu diesem Endpunkt keine Bewertung erfolgen kann.

Tab. 5 Studien nach wiederholter inhalativer Exposition gegen Isofluran

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Maus, Swiss Webster, 82–92 ♀, ♂	0, 1000, 4000 ml/m ³ , 4 h/d, 5 d/Wo, 78 Wo	4000 ml/m³ : NOAEC, keine histopathologischen Befunde in allen 39 untersuchten Organen bzw. Geweben	Baden et al. 1988
Maus, Swiss Webster, 23–27 ♀	0, 60, 600, 6000 ml/m ³ , 4 h/d, 6.–15. Gestationstag	bis 600 ml/m³ : keine Toxizität, keine Verhaltensauffälligkeiten, 6000 ml/m ³ : KG ↓ (um 9,7%) (stat. sign.), Ataxie durch leichte Anästhesie	Mazze et al. 1985
Maus, Swiss Webster, 15 ♀, 15 ♂	0, 200, 1000, 5000 ml/m ³ , 4 h/d, 5 d/Wo, 9 Wo	1000 ml/m³ : NOAEC, 5000 ml/m³ : KG ↓ (n. stat. sign.), keine Effekte auf Organgewichte (Leber, Milz, Niere, Testes, Uterus), Hämatokrit, AST, CYP, Cytochrom b5, histopathologisch untersucht und keine Effekte: Gehirn, Leber, Niere, Testes, Ovarien	Rice et al. 1986
Ratte, F344, 12 ♂	0, 20 ml/m ³ , 24 h/d, 7 d/Wo, 30 Wo, je 4 Tiere untersucht nach 43, 133 und 210 Tagen	20 ml/m³ : NOAEC für KG, Leber, Niere, CYP-Gehalt, ALT, Fluoridausscheidung im Urin 2- bis 3-fach ↑	Plummer et al. 1986

n. stat. sign.: nicht statistisch signifikant; stat. sign.: statistisch signifikant

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Hierzu liegen weiterhin keine Untersuchungen vor.

5.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen weiterhin keine Untersuchungen vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

Neuere Studien, die nach dem Nachtrag aus dem Jahr 2007 (Greim 2007) veröffentlicht wurden, werden im Folgenden ausführlich beschrieben.

Jeweils acht männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden zwei Stunden pro Tag 15 Tage lang gegen 0, 50, 300, 1800 oder 10 800 ml Isofluran/m³ in einer geschlossenen Expositionskammer Ganzkörper-exponiert. Die Organgewichte von Hoden, Nebenhoden und Bläschendrüse, sowie das Körpergewicht waren unverändert. Ab 300 ml Isofluran/m³ waren die Spermienzahl und die tägliche Spermienproduktion statistisch signifikant reduziert. Histopathologisch wurden ab dieser Konzentration Schädigungen an den Hodenkanälchen beobachtet und die Zahl an Keimzellen nahm ab. Die Spermatozoen waren reduziert oder fehlten in einigen Hodenkanälchen vollständig. In einigen Hodenkanälchen zeigte sich unorganisiertes Epithel mit unterbrochenen Keimzellschichten. Elektronenmikroskopisch waren in den Spermatozyten Agglutination der Kerne, große Lipidtropfen (ab 50 ml/m³), angeschwollene Mitochondrien, vergrößertes endoplasmatisches Retikulum und Autophagosome im Zytoplasma zu beobachten. In den Spermatozoen wurden Vakuolen im Akrosom und veränderte Mitochondrien im Schwanz gesehen. Nekrosen der Spermatogonien, der Spermatozyten und der Sertoli-Zellen wurden ebenfalls festgestellt. Ab 300 ml/m³ war im Serum die Testosteronkonzentration und ab 1800 ml/m³ der FSH-Wert statistisch signifikant erniedrigt. Der LH-Wert war unverändert (Tabelle 6; Xu et al. 2012). Bezüglich der Spermienparameter ist keine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung zu erkennen, was

wahrscheinlich daran liegt, dass bereits bei 300 ml/m³ die maximale Effektstärke erreicht wurde. Die konzentrationsabhängige Abnahme von LH, FSH und Testosteron ist plausibel, auch wenn die Variabilität der Hormone relativ hoch ist. Die Ratte ist hyperfertil, d. h. wenn nur noch ca. 10 % der Spermien vorhanden sind, ist die Ratte trotzdem noch fruchtbar. Der Mensch ist eher subfertil, somit sind die beschriebenen Effekte ab 300 ml/m³ als advers zu betrachten. Da bei 50 ml/m³ keine histopathologischen Effekte auf die Hoden auftraten, sich die Konzentrationen von LH, FSH und Testosteron, sowie die Spermienzahl und die tägliche Spermienproduktion nicht statistisch signifikant von der Kontrollgruppe unterschieden, wird diese Konzentration als NOAEC für Effekte auf die männlichen Reproduktionsorgane der Ratte angesehen.

Tab. 6 Effekte auf die Spermien, FSH, LH und Testosteron bei Sprague-Dawley-Ratten durch Isofluran (Xu et al. 2012)

Isofluran (ml/m ³)	Spermienzahl	Spermienproduktion (10 ⁶ /Tag/g)	FSH (IU/l)	LH (IU/l)	Testosteron (ng/ml)
0	265,1 ± 22,7	43,5 ± 3,7	2,39 ± 0,49	1,09 ± 0,69	11,14 ± 4,34
50	236,6 ± 42,5	38,8 ± 7,0	2,00 ± 0,57	0,88 ± 0,46	9,06 ± 2,64
300	179,0 ± 75,1*	29,3 ± 12,3*	1,92 ± 1,02	0,91 ± 0,56	4,82 ± 2,34*
1800	158,8 ± 27,8*	26,0 ± 4,5*	1,29 ± 0,77*	0,89 ± 0,71	2,64 ± 1,59*
10800	171,3 ± 32,3*	28,1 ± 5,3*	0,41 ± 0,3*	0,88 ± 0,56	1,74 ± 0,96*

n = 8, *p < 0,05

Diese und weitere Studien zur Fertilität und zu Effekten auf die Reproduktionsorgane sind in [Tabelle 7](#) dargestellt:

50 männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden eine Stunde pro Tag, 25 Tage lang gegen 2 ml Isofluran/m³ exponiert (Ding et al. 2015). Da die Autoren von einer Anästhesie-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe sprechen, ist davon auszugehen, dass wahrscheinlich 2 % (20 000 ml/m³) als Konzentration eingesetzt wurden, da eine Narkose mit 2 ml/m³ nicht möglich ist. Dafür spricht ebenfalls, dass die histopathologischen Veränderungen in den Hoden und die beschriebenen Effekte auf Hormonstatus und Spermienparameter in dieser Studie (siehe [Tabelle 7](#)) in der gleichen Wirkstärke und Größenordnung zu beobachten waren wie bei der höchsten Konzentration von 10 800 ml/m³ in der Studie von Xu et al. (2012), was darauf hindeutet, dass die Konzentration in dieser Studie deutlich höher gewesen sein muss (Ding et al. 2015). Aufgrund der unklaren Konzentrationsangabe wird die Studie nicht zur Bewertung herangezogen.

Tab. 7 Untersuchungen von Reproduktionsorganen und Hormonstatus nach Isofluran-Exposition

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde ^{a)}	Literatur
Ratte, SD, k. A.	einmalig, 50 000 ml/m ³ (5 %) Vergleich Isofluran-Narkose mit CO ₂ -Betäubung 5, 10 min	Spermienbeweglichkeit ↓, Spermienzahl ↓ im Vergleich zu CO ₂	Campion et al. 2012
Ratte, SD, 50 ♂, Kontrollgruppe 10 ♂	0, 2 ml/m ³ (vermutlich 2 %, siehe Text), 1 h/d, 25 Tage	Tag 0–14: GnRH ↓ (ab Tag 14 nicht mehr); LH ↓, FSH ↓, Testosteron ↓ (nach 28 Tagen wird Ausgangswert fast erreicht), Spermienzahl ↓ (bis zu Tag 7), Spermienbeweglichkeit ↓ (bis zu Tag 7), abnorme Spermien ↑ (bis zu Tag 14), starke Verengung der Hodenkanälchen, Unterbrechung der Spermatogenese, Veränderung des interstitiellen Gewebes, keine Leydig-Zellen, Expression von reproduktionsrelevanten Genen: Hypothalamus: AR, Kiss-1, GPR54, GnRH ↓, Hypophyse: LH-β ↓, FSH-β ↓, GnRH-R ↓, Testes: LH-R ↓, FSH-R ↓, untersucht: Hypothalamus, Hypophyse, Hoden, Spermien, am letzten Tag der Exposition, nach 7, 14, 21 u. 28 Tagen, Bestimmung von LH, FSH, Testosteron, GnRH	Ding et al. 2015
Ratte, Charles-River-Albino, 10 ♂, 20 ♀	0, ca. 16 000 ml/m ³ , 1 h/d, an 5 Tagen, 1–5, 6–10 od. 11–15 Tage vor Verpaarung	NOAEC: 16 000 ml/m ³ : Fertilität: keine Effekte auf Verpaarung, fetale Entwicklung, überlebende Feten	Kennedy et al. 1977

Tab. 7 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde ^{a)}	Literatur
Ratte, SD, 8 ♂	0, 50, 300, 1800, 10 800 ml/m ³ , Ganzkörper-exponiert, 2 h/d, 15 Tage	siehe auch Tabelle 6 , 50 ml/m³ : NOAEC ♂ Reproduktionsorgane, EM: Spermatozyten: Agglutination der Kerne, große Lipidtropfen, ab 300 ml/m³ : Schädigung der Hodenkanälchen, Zahl der Keimzellen ↓, Spermatozoen: Vakuolen im Akrosom, veränderte Mitochondrien im Schwanz, Hodenkanälchen-Schnitte: unorganisiertes Epithel, Spermatozyten: Agglutination der Kerne, große Lipidtropfen, angeschwollene Mitochondrien, vergrößertes endoplasmatisches Retikulum, Autophagosome, Nekrosen der Spermatogonien, der Spermatozyten u. Sertoli-Zellen	Xu et al. 2012
Maus, C57, 5 ♂	0, 1000, 10 000 ml/m ³ , 4 h/d, 5 d/Wo, 28 d	kein stat. sign. Effekt auf Prozentsatz abnormer Spermatozoen	Land et al. 1981
Maus, Swiss Webster, 32–41 ♀ u. k. A ♂	0, 1000, 4000 ml/m ³ , 4 h/d, 14 Tage, anschließende Verpaarung innerhalb einer Behandlungsgruppe (keine genaue Angabe, ob ♂ auch exponiert), Exposition während Verpaarung u. Gestation	4000 ml/m³ : leichte Anästhesie keine Effekte auf KG, Kopulationsrate, Gestationsrate, Würfe, Implantationen, Resorptionen	Mazze 1985
Maus, Swiss Webster, 15–24 ♂	0, 1000, 4000 ml/m ³ , 4 h/d, 6 Wo, anschließende Verpaarung mit je 2 nicht exponierten ♀		
Maus, C57, 20 ♀	0, 2500, 5000, 10 000, 20 000 ml/m ³ , 1,5 h/d, 15 Tage, bei je 6 Tieren Östruszyklus untersucht	2500 ml/m³ : NOAEC ♀ Reproduktionsorgane, ab 5000 ml/m³ : im Serum: FSH ↑, LH ↑, AMH ↓, ab 10 000 ml/m³ : Östruszyklus verlängert, Serum E2 ↑, Follikel: unregelmäßige Kerne, verdrehte Zona pellucida, unorganisierte körnige Umgebung, atretische Follikel ↑ (n. stat. sign.), entwickelnde Follikel ↓ (n. stat. sign.). 20 000 ml/m³ : Östrusdauer verlängert Untersuchung des Östruszyklus 15 Tage lang, untersucht wurden: Blut, Östruszyklus, Ovarien, Hormonstatus	Tang et al. 2020

wenn nicht anders angegeben, sind die aufgeführten Veränderungen statistisch signifikant

AMH: Anti-Müller-Hormon; AR: Androgen-Rezeptor; EM: Elektronenmikroskop; E2: Östradiol; FSH: Follikelstimulierendes Hormon; GnRH: Gonadotropin-Releasing-Hormon; GPR54: Kisspeptin-Encoded-Gene-Rezeptor; k. A.: keine Angabe; Kiss-1: Kisspeptin-Encoded-Gene; LH: Luteinisierendes Hormon; MAC: minimale alveoläre Konzentration; n. stat. sign.: nicht statistisch signifikant; SD: Sprague Dawley

Die Spermienbeweglichkeit und die Spermienzahl waren bei Sprague-Dawley-Ratten nach Tötung mit Isofluran deutlich niedriger als nach Tötung mit CO₂. Die Autoren erklären diese Wirkung mit einer möglichen Inhibierung der Kontraktion der glatten Muskulatur der Vas deferens (Campion et al. 2012).

Je 20 weibliche C57-Mäuse wurden gegen 0, 2500, 5000, 10 000 oder 20 000 ml Isofluran/m³, 1,5 Stunden pro Tag, 15 Tage lang exponiert. Untersucht wurden bei je sechs Tieren der Östruszyklus, und bei allen Tieren das Blut, die Ovarien und der Hormonstatus. Ab 5000 ml/m³ waren im Serum die FSH- und LH-Werte statistisch signifikant erhöht und die Anti-Müller-Hormon (AMH)-Konzentration erniedrigt. Ab 10 000 ml/m³ waren der Östruszyklus statistisch signifikant verlängert und die Östradiolkonzentration im Blut statistisch signifikant erhöht. Zudem wiesen die Follikel ab dieser Konzentration unregelmäßige Kerne, verdrehte Zona pellucida und unorganisierte körnige Umgebung auf. Die Zahl atretischer Follikel war statistisch nicht signifikant erhöht. Die Östrusdauer war nach Exposition gegen 20 000 ml/m³ statistisch signifikant verlängert (Tang et al. 2020). Aus der Studie kann für Effekte auf die weiblichen Reproduktionsorgane der Maus eine NOAEC von 2500 ml Isofluran/m³ abgeleitet werden.

Fazit: Untersuchungen an Ratten nach wiederholter zweistündiger Exposition ergaben eine NOAEC für Effekte auf die männlichen Reproduktionsorgane (Testes, Spermien, Hormonstatus) von 50 ml/m³ (Xu et al. 2012). Bei Ratten wurden nach Narkosekonzentrationen (16 000 ml/m³) keine Effekte auf die Fertilität beobachtet (Kennedy et al. 1977). Für die Maus lässt sich eine NOAEC für Effekte auf die weiblichen Reproduktionsorgane (Östruszyklus, Hormonstatus und Ovarien) von 2500 ml/m³ nach 1,5-stündiger Exposition ableiten (Tang et al. 2020). In einer Langzeitstudie an der Maus wurden keine histopathologischen Effekte an den Testes oder Ovarien bis zu einer Konzentration von 4000 ml/m³ beobachtet (Baden et al. 1988; Rice et al. 1986). Die Fertilität blieb bei der Maus bis zu einer Konzentration von 4000 ml/m³ unbeeinflusst (Mazze 1985).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Alle Studien, die prä- und postnatale Effekte nach pränataler Behandlung beschreiben, sind in [Tabelle 8](#) dargestellt.

5.5.2.1 Pränatale Effekte

Es liegen seit dem letzten Nachtrag aus dem Jahr 2007 (Greim 2007) keine neuen Studien vor. Zusammenfassend zeigen die in diesem Nachtrag dargestellten Studien, dass Isofluran im Tierversuch in anästhetisch wirkenden Konzentrationen bei Maus und Ratte zu embryotoxischen Effekten führt. Hinweise auf vermehrt auftretende Gaumenspalten zeigten sich bei Mäusen bei 6000 ml/m³, nicht aber bei Ratten und Kaninchen. Die Exposition von Mäusen gegen 600 ml Isofluran/m³ ließ weder embryotoxische noch maternaltoxische Effekte erkennen. Die pränatale Exposition verursachte jedoch auch postnatal-toxische Effekte. Diese wurden bei Mäusen bei 4000 ml Isofluran/m³ beobachtet. Eine NOAEC für diese Effekte wurde nicht erhalten.

5.5.2.2 Postnatale Effekte

Bis zu einer Konzentration von 4000 ml/m³ zeigten sich bis zum 28. Postnataltag bei Swiss-Webster-Mäusen keine Effekte auf die Körpergewichte der Nachkommen (Mazze 1985). Postnatale Effekte, wie verzögerte Latenz beim Aufrichtreflex und verzögerte Schwimmfähigkeit, traten bei jungen Swiss-Webster-Mäusen auf, deren Mütter vom 6. bis zum 15. Gestationstag gegen 4000 ml Isofluran/m³ exponiert waren (Rice 1986). Wegen fehlender Details in der Studienbeschreibung ist jedoch eine Bewertung dieser Befunde nicht möglich. Die Zahl der Nachkommen pro Wurf war am 1. und 4. Postnataltag bei CR-Albino-Ratten, deren Muttertiere eine Stunde pro Tag gegen 17 400 ml/m³ vom 15. bis zum 20. Gestationstag exponiert waren, verringert. Die Muttertiere hatten eine verringerte Körpergewichtszunahme und waren leicht anästhesiert (siehe [Tabelle 8](#)) (Kennedy et al. 1977).

Publikationen, die seit dem Jahr 2007 veröffentlicht wurden sind im Folgenden ausführlich dargestellt.

Eine einstündige Inhalation von 30 000 ml Isofluran/m³ am 14. Gestationstag führte bei Ratten zu Effekten in Verhaltenstests zum räumlichen Lernen und Gedächtnis. Auch waren die Zahl und die Dichte an Caspase-3-positiven Zellen im Hippocampus erhöht. Bei 13 000 ml/m³ traten diese Effekte nicht auf (Kong et al. 2012 a). Nach einmaliger vierstündiger Inhalation am 14. Gestationstag bzw. nach Inhalation von Isofluran für zwei Stunden pro Tag vom 14. bis zum 21. Gestationstag zeigten sich bei Ratten nach Exposition gegen 13 000 ml/m³ eine erhöhte Latenzzeit zur Erfassung räumlicher Informationen und eine erniedrigte Anzahl von Überquerungen der Originalplattform im Morris-Water-Maze-Test (Kong et al. 2011, 2012 b). Zudem war nach einmaliger Inhalation die Menge und die Dichte an C/EBP-Homologous-Transcription-Factor-Protein und Caspase-12-Protein im Hippocampus statistisch signifikant erhöht, was auf Apoptose hindeutet (Kong et al. 2011). Bei der mehrmaligen Inhalation konnte eine Abnahme an Growth-Associated-Protein-43 und Neuropeptid Y, sowie auch deren mRNA im Hippocampus nachgewiesen werden (Kong et al. 2012 b).

Nach einmaliger Exposition am 14. Gestationstag gegen 14 000 ml Isofluran/m³ für vier Stunden zeigten sich in Verhaltenstests bei Sprague-Dawley-Ratten im Alter von 28 Tagen eine erhöhte Latenzzeit zur Erfassung räumlicher Informationen und eine erhöhte Ängstlichkeit (Palanisamy et al. 2011). Am 21. Gestationstag traten bei den Nachkommen von Sprague-Dawley-Ratten nach einmaliger sechsstündiger Inhalation von 13 000 ml/m³ zwei Stunden nach der Exposition eine Abnahme von Caspase-3- bzw. TUNEL-positiver-Zellen (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Biotin-

dUTP Nick End Labeling) im Hippocampus auf, aber keine Veränderungen in Verhaltenstests im Alter von 28 bzw. 115 Tagen (Li et al. 2007).

Nach einmaliger vierstündiger Inhalation von 5500 ml/m³ im Zeitraum vom 35. bis 40. Gestationstag erhöhte sich bei Hartley-Meerschweinchen die Neuroapoptose in verschiedenen Gehirnbereichen und die Neuronendichte nahm ab (Rizzi et al. 2008).

Insgesamt lässt sich aus den Studien keine NOAEC für postnatale Verhaltenseffekte nach pränataler Exposition ableiten.

Tab. 8 Prä- und postnatale Entwicklungstoxizität nach Inhalation von Isofluran vor und während der Trächtigkeit

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Pränatale Effekte			
Maus , Swiss Webster, 32–41 ♀ u. k. A ♂	0, 1000, 4000 ml/m ³ , 4 h/d, 14 d, anschließende Verpaarung innerhalb einer Behandlungsgruppe (keine genaue Angabe, ob ♂ auch exponiert), Exposition während Verpaarung u. Gestation, Untersuchung: 2/3 der Muttertiere am GD 18, 1/3 warfen (siehe unten)	4000 ml/m³ : <u>Muttertiere</u> : leichte Anästhesie; keine Effekte auf Kopulationsrate, Gestationsrate, Wurfparameter	Mazze 1985
Maus , Swiss Webster, 23–31 ♀	0, 60, 600, 6000 ml/m ³ , 4 h/d, GD 4–15, Untersuchung GD 18	600 ml/m³ : NOAEC für Entwicklungstoxizität u. Maternaltoxizität ; 6000 ml/m³ : <u>Muttertiere</u> : KG-Zunahme ↓, Ataxie, leichte Anästhesie; <u>Feten</u> : KG ↓, späte Resorptionen ↑, Ossifikation ↓, Nierenveränderungen ↑, Inzidenz an Gaumenspalten ↑	Mazze et al. 1985
Ratte , Sprague Dawley, 30 ♀, Kontrolle: 40 ♀	0, 3500 ml/m ³ , 24 h, GD 8, Untersuchung GD 20	3500 ml/m³ : <u>Muttertiere</u> : KG-Zunahme ↓, leichte Anästhesie; keine entwicklungstoxischen Effekte	Fujinaga et al. 1987
Ratte , Sprague Dawley, 21–25 ♀, Kontrolle: 39–50 ♀	0, 10 500 ml/m ³ , 6 h/d, GD 8–10, GD 11–13, GD 14–16, Screening auf skelettale und Weichteil-anomalien, Untersuchung GD 20	10 500 ml/m³ : GD 8–10: <u>Muttertiere</u> : leichte Anästhesie; Feten: KG ↓; GD 11–13: <u>Muttertiere</u> : leichte Anästhesie; GD 14–16: <u>Muttertiere</u> : leichte Anästhesie, KG-Zunahme ↓; <u>Feten</u> : KG ↓; keine entwicklungstoxischen Effekte	Mazze et al. 1986
Ratte , Charles-River-Albino, 11–20 ♀	0, ca. 16 000 ml/m ³ , 1 h/d, GD 1–5, GD 6–10, GD 11–15, Screening auf skelettale und Weichteilanomalien, Untersuchung GD 14 u. 20	16 000 ml/m³ : keine entwicklungstoxischen Effekte	Kennedy et al. 1977
Kaninchen , Weiße Neuseeländer, 15 ♀	0, 23 000 ml/m ³ , 1 h/d, GD 6–9, GD 10–14, GD 15–18, Screening auf skelettale und Weichteil-anomalien, Untersuchung GD 29	23 000 ml/m³ : keine entwicklungstoxischen Effekte	

Tab. 8 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Postnatale Effekte			
Maus , Swiss Webster, 32–41 ♀ u. k. A. ♂	0, 1000, 4000 ml/m ³ , 4 h/d, 14 d, anschließende Verpaarung innerhalb einer Behandlungsgruppe (keine genaue Angabe, ob ♂ auch exponiert), Exposition während Verpaarung u. Gestation, Untersuchung: Nachkommen von 1/3 der Muttertiere PND 1–28	4000 ml/m³ : <u>Muttertiere</u> : leichte Anästhesie; keine Effekte auf Kopulationsrate, Gestationsrate, Wurfparameter, Überlebens- u. Laktationsindex, KG der Nachkommen an PND 1–28	Mazze 1985
Maus , Swiss Webster, k. A. ♀	0, 4000 ml/m ³ , 4 h/d, GD 6–15, Untersuchung PND 2–11 u. PND 6–20	4000 ml/m³ : <u>Nachkommen</u> : Aufrichtreflex ↓, Schwimmfähigkeit ↓	Rice 1986
Ratte , k. A., 5 ♀	0, 13 000 ml/m ³ , 1 × 4 h, GD 14, Untersuchung ab PND 28: Verhaltenstests: Morris-Water-Maze-Test: räumliches Lernen und Gedächtnis	13 000 ml/m³ : <u>Nachkommen</u> : Latenzzeit zur Erfassung räumlicher Informationen ↑, Anzahl Überquerungen der Originalplattform ↓ (Beeinträchtigung der Gedächtnisleistung), Zahl u. optische Dichte von CHOP- und Caspase-12-Protein im Hippocampus ↑, Schwimmgeschwindigkeit unverändert (keine sensomotorischen Effekte)	Kong et al. 2011
Ratte , k. A., 8 ♀	0, 13 000, 30 000 ml/m ³ , 1 × 1 h, GD 14, Untersuchung ab PND 28: Verhaltenstests: Morris-Water-Maze-Test: räumliches Lernen u. Gedächtnis	13 000 ml/m³ : NOAEC für postnatale Verhaltenseffekte, 30 000 ml/m³ : <u>Nachkommen</u> : Latenzzeit zur Erfassung räumlicher Informationen ↑, Anzahl Überquerungen der Originalplattform ↓ (Beeinträchtigung der Gedächtnisleistung), Zahl u. optische Dichte von Caspase-3-positiven Neuronen im Hippocampus ↑, Schwimmgeschwindigkeit unverändert (keine sensomotorischen Effekte)	Kong et al. 2012 a
Ratte , Sprague Dawley, 5 ♀	0, 13 000 ml/m ³ , 2 h/d, GD 14–21, Untersuchung ab PND 28: Verhaltenstests: Morris-Water-Maze-Test: räumliches Lernen u. Gedächtnis	13 000 ml/m³ : <u>Nachkommen</u> : Latenzzeit zur Erfassung räumlicher Informationen ↑, Anzahl Überquerungen der Originalplattform ↓ (Beeinträchtigung der Gedächtnisleistung), Zahl u. optische Dichte von GAP-43, NPY u. mRNA-Level im Hippocampus ↓, Schwimmgeschwindigkeit unverändert (keine sensomotorischen Effekte)	Kong et al. 2012 b
Ratte , Sprague Dawley, 3 ♀	0, 14 000 ml/m ³ , 1 × 4 h, GD 14, Untersuchung ab PND 35: Verhaltenstests: räumliches Lernen u. Gedächtnis	14 000 ml/m³ : <u>Nachkommen</u> : Latenzzeit zur Erfassung räumlicher Informationen ↑, Ängstlichkeit ↑, keine Effekte auf lokomotorische Aktivität, spontane Veränderungen od. Objekterkennungsgedächtnis	Palanisamy et al. 2011
Ratte , Charles-River-Albino, 11–20 ♀	0, 17 400 ml/m ³ , 1 h/d, GD 15–20, Untersuchung bis PND 21	17 400 ml/m³ : <u>Muttertiere</u> : KG-Zunahme ↓, Ataxie, leichte Anästhesie; <u>Nachkommen</u> : Zahl der Nachkommen/Wurf ↓ an PND 1 u. 4	Kennedy et al. 1977
Ratte , Sprague Dawley, 3 ♀	0, 13 000 ml/m ³ , 1 × 6 h, GD 21, Untersuchung des Gehirns nach 2 h, 18 h, 5 d u. in Verhaltenstests im juvenilen (ab PND 28) und adulten Alter (ab PND 115): räumliches Lernen u. Gedächtnis	13 000 ml/m³ : 2 h: Abnahme der spontanen Apoptose im Hippocampus (Caspase-3, TUNEL), keine Effekte nach 18 h u. 5 d sowie in den Verhaltenstests (räumliches Lernen und Gedächtnis)	Li et al. 2007
Meerschweinchen , Hartley, 2 ♀	0, 5500 ml/m ³ , 1 × 4 h, GD 20–25, GD 35–40, GD >50, Untersuchung 2 h nach Ende der Exposition	5500 ml/m³ : GD 35–40 : 3–6-fach ↑ Neuroapoptose im Cortex, 3–11-fach ↑ Neuroapoptose in Amygdala, Subiculum u. Hippocampus (Caspase-3- u. -9-positive Zellen) u. Abnahme der Neuronendichte, keine Untersuchung des Verhaltens	Rizzi et al. 2008

CHOP: C/EBP Homologous Transcription Factor Protein; GAP-43: Growth-Associated Protein-43; GD: Gestationstag; k. A.: keine Angabe; PND: Postnataltag; NPY: Neuropeptid Y; TUNEL: Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Biotin-dUTP Nick End Labeling

5.5.2.3 Entwicklungsneurotoxische Effekte

Zahlreiche Studien, die in der Übersichtsarbeit von Colon et al. (2017) sowie in Maloney et al. (2019) und McCann und Soriano (2019) dargestellt sind, belegen, dass Isofluran in anästhetischen Konzentrationen neurotoxische Effekte bei fetalen/neonatalen und juvenilen Nagern zur Folge hat. In mehreren Studien an sieben Tage alten Mäusen und Ratten führte Isofluran nach einmaliger mehrstündiger Inhalation ab 7500 ml/m^3 zu erhöhter Neuroapoptose. Diese Konzentration erwies sich damit als niedrigste neurotoxische Effektkonzentration. Die Exposition in diesem Altersbereich zog im Erwachsenenalter bei Ratten und Mäusen Beeinträchtigungen von Lernen und Gedächtnis nach sich (Colon et al. 2017). Bei sieben Tage alten Mäusen, die gegen anästhetische Isofluran-Konzentrationen exponiert wurden, erwies sich der Effekt auf den Zelltod als sehr ausgeprägt (20- bis 68-fache Zunahme der neuronalen Degeneration) (Deng und Loepke 2014).

Die Empfindlichkeit gegen neurotoxische Effekte ist bei neonatalen und juvenilen Tieren im Vergleich zu adulten Tieren höher und die dazu vorliegenden Studien werden im Folgenden beschrieben. Die tägliche 35-minütige Isofluran-Anästhesie (17000 ml/m^3) an vier aufeinanderfolgenden Tagen führte bei 14 Tage alten männlichen Wistar-Ratten und männlichen C57BL/6J-Mäusen im Vergleich zu 60 Tage alten Tieren zu einer Beeinträchtigung der Objekterkennung und des „Reversal-Learnings“, was sich mit zunehmendem Alter verstärkte. Bei den behandelten 60 Tage alten Tieren traten keine derartigen Effekte auf. Die Gedächtnisdefizite gingen mit einer Abnahme des Stammzellpools im Hippocampus und einer persistenten reduzierten Neurogenese einher (Zhu et al. 2010). Die einmalige 6-stündige Isofluran-Anästhesie (15000 ml/m^3) führte bei neonatalen männlichen und weiblichen (7. Lebensstag) C57BL6/J-Mäusen im Neocortex (11-fach erhöht), Caudoputamen (10-fach), in der hippocampalen Cornu-Ammonis-Region 1 (3-fach) und im Cerebellum (4-fach) vermehrt zu Apoptose (bestimmt mit dem Marker Activated Cleaved Caspase 3). Dies trat bei 21 und 49 Tage alten Mäusen nicht auf. In den Gehirnregionen Gyrus dentatus und Bulbus olfactorius zeigte sich keine erhöhte neonatale Sensitivität, jedoch war bei den juvenilen Tieren im Gyrus dentatus eine 15-fache Erhöhung des Markers für Apoptose festzustellen (Deng et al. 2014).

Im Vergleich zu Sevofluran und Desfluran hat sich Isofluran bei Mäusen als wirksamer hinsichtlich der entwicklungsneurotoxischen Effekte (Neurodegeneration, beeinträchtigtes Lernen und Gedächtnis) herausgestellt (Liang et al. 2010; Liu et al. 2017; Seubert et al. 2013; Tao et al. 2016).

Bei fetalen/neonatalen Rhesusaffen wurde nach Narkosen (k. A. zur Konzentration) von bis zu acht Stunden erhöhte Apoptose von Oligodendrozyten beobachtet (Brambrink et al. 2012; Creeley et al. 2014; Noguchi et al. 2017). Nach einer achtstündigen Narkose mit $10000 \text{ ml Isofluran/m}^3$ wurden keine signifikanten neurotoxischen Effekte, wie Aktivierung von Caspase-3 oder neuronale Schädigungen (Silber-positive Zellen) festgestellt (Zou et al. 2011).

5.5.3 Fazit

Isofluran führt im Tierversuch in anästhetisch wirkenden Konzentrationen bei der Maus nach Exposition gegen 6000 ml/m^3 zu erniedrigten Fetengewichten und verzögerter Ossifikation sowie zu einer erhöhten Rate an späten Resorptionen (Mazze et al. 1985) und bei der Ratte nach Exposition gegen 10500 ml/m^3 zu erniedrigten Fetengewichten (Mazze et al. 1986). Hinweise auf vermehrt auftretende Gaumenspalten zeigten sich bei 6000 ml/m^3 bei Mäusen, nicht aber bei Ratten und Kaninchen. Die Exposition gegen $600 \text{ ml Isofluran/m}^3$ (NOAEC für pränatale Entwicklungstoxizität) ließ bei Mäusen weder embryotoxische noch maternaltoxische Effekte erkennen (Mazze et al. 1985). Die pränatale Exposition verursachte jedoch auch postnatal Effekte im Verhalten von Mäusen und Ratten. Diese wurden bei Mäusen bei $4000 \text{ ml Isofluran/m}^3$ nach vierstündiger täglicher Exposition (Rice 1986) und bei Ratten bei 13000 ml/m^3 nach zwei- und vierstündiger täglicher Exposition beobachtet (Kong et al. 2011, 2012 b); niedrigere Konzentrationen zur Ableitung einer NOAEC wurden aber nicht getestet. Aufgrund von Ergebnissen aus Studien an juvenilen Nagern und Affen scheint das sich entwickelnde Gehirn sensitiv auf Isofluran mit Neurodegenerationen ab $7500 \text{ ml Isofluran/m}^3$ zu reagieren (Colon et al. 2017). Es liegen keine Studien an neonatalen oder juvenilen Tieren mit nicht-anästhetischen Konzentrationen vor, aus denen sich eine NOAEC für entwicklungsneurotoxische Effekte von Isofluran ableiten lassen würde.

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Isofluran war in Konzentrationen von 100–300 000 ml/m³ (0,01–30 %) nicht mutagen in den Salmonella-typhimurium-Stämmen TA98, TA100 und TA1535 weder mit noch ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems. Die Exposition gegen Isofluran erfolgte sowohl in Raumluft in einem Exsikkator als auch gelöst in Medium (Baden et al. 1977; Greim 1993; Waskell 1978). Auch Urinproben von Patienten, welche mit Isofluran anästhesiert worden waren, zeigten keine mutagene Wirkung in TA100 oder TA1535 (Baden et al. 1977; Greim 1993).

Tests auf SCE verliefen negativ in CHO-Zellen bei Konzentrationen bis 11 500 ml Isofluran/m³, sowohl mit als auch ohne metabolischem Aktivierungssystem (Greim 1993; White et al. 1979), sowie in V79-Zellen bei Konzentrationen bis 40 000 ml Isofluran/m³ (Greim 2007; Trudnowski et al. 1987), jeweils bei einer Inkubationszeit von einer Stunde.

In Blutlymphozyten von acht männlichen Probanden führte eine 72-stündige In-vitro-Behandlung mit 0,3; 0,6 oder 1,2 mM (55,4; 110,7; 221,4 mg/l) Isofluran (reines Isofluran flüssig) ab der niedrigsten Konzentration zu einem statistisch signifikanten konzentrationsabhängigen Anstieg an SCE (9,15 ± 1,0; 9,55 ± 1,4; 9,95 ± 1,8) im Vergleich zur Kontrolle (7,65 ± 1,5). Mitotischer Index (MI) und Proliferationsindex waren nur bei der höchsten Konzentration statistisch signifikant niedriger als bei der Kontrolle. Lymphozytenkulturen, die gegen 50 % N₂O in Luft für eine Stunde unter Schütteln inkubiert wurden, zeigten ebenfalls statistisch signifikant höhere Werte an SCE bei signifikant niedrigerem MI. Eine Positivkontrolle ist nicht angegeben (Hoerauf et al. 1999 b).

Isofluran induzierte in Konzentrationen ab 1 mM in humanen Blutlymphozyten einen statistisch signifikanten konzentrationsabhängigen Anstieg an DNA-Schäden (total comet length) gemessen mittels alkalischem Comet-Assay. Inkubiert wurde mit 0; 0,1; 1 und 10 mM (0; 18,45; 184,5; 1845 mg/l) Isofluran in 1 % DMSO jeweils bei 4 °C für 10 oder 30 Minuten. Substanzfreie Nachinkubation bei 37 °C führte bei vorher gegen 1 mM exponierten Lymphozyten nach 20 Minuten zu einer statistisch signifikanten Reduktion an DNA-Schäden; nach 60 Minuten waren die Schäden auf Kontrollwert. Die Autoren sehen das als Hinweis, dass die Schäden auf eine genotoxische Wirkung der Substanz zurückzuführen sind und nicht durch apoptotische Mechanismen induziert wurden, da letztere nicht reparabel wären (Jaloszynski et al. 1999).

In einem weiteren alkalischen Comet-Assay nach diesem Versuchsaufbau wurden humane Blutlymphozyten mit 0, 1 oder 10 mM (0; 18,45; 1845 mg/l) Isofluran (flüssig, gelöst in DMSO) bei 4 °C oder 37 °C für 10 oder 30 Minuten inkubiert. Die Autoren geben an, dass Isofluran statistisch signifikant höhere DNA-Schäden als in der Kontrolle induzierte, jedoch ist aus der abgebildeten Grafik nicht ablesbar, ab welcher Konzentration. Die DNA-Schäden zeigten keine Zeitabhängigkeit und waren geringer ausgeprägt bei 37 °C als bei 4 °C, was auf DNA-Reparatur zurückzuführen sein könnte (Szyfter et al. 2004).

Humane Blutlymphozyten und Spermien eines Spenders wurden für fünf Minuten mit 0,1; 1; 10 oder 100 mM (0; 18,45; 184,5; 1845; 18 450 mg/l) Isofluran (flüssig) in 1 % DMSO inkubiert und mithilfe des alkalischen Comet-Assays auf DNA-Schäden untersucht. Die Inkubation erfolgte auf Eis, um eventuelle DNA-Reparatur zu unterbinden. Isofluran induzierte einen statistisch signifikanten konzentrationsabhängigen Anstieg an DNA-Schäden (% tail intensity) ab der niedrigsten Konzentration. Auch die anderen eingesetzten Anästhetika Halothan, Desfluran und Sevofluran induzierten eine statistisch signifikante Erhöhung an DNA-Schäden (Kaymak et al. 2012).

Standardisierte Zytotoxizitätstests wurden in den Studien von Kaymak et al. (2012), Jaloszynski et al. (1999) und Szyfter et al. (2004) nicht durchgeführt, ebenso ist keine Positivkontrolle angegeben. Die Studien sind daher für die Bewertung der genotoxischen Wirkung ungeeignet.

Inkubation mit 2 % Isofluran (gasförmig) erhöhte die Rate an DNA-Schäden (γH2AX-Expression), Zytotoxizität (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid-Test (MTT), LDH) und Apoptose (Caspase-3-Aktivierung) in mit humanem Amyloid Precursor-Protein transfizierten humanen Neurogangliomzellen (H4-APP) nach sechs, jedoch nicht nach drei Stunden statistisch signifikant (Li et al. 2017; Ni et al. 2017). Einstündige Vorinkubation mit einem ROS-Scavenger (N-Acetyl-L-cystein) oder Caspase-Inhibitor führte zu einer statistisch signifikanten Abschwächung

der Isofluran-induzierten γ H2AX-Expression (Ni et al. 2017). Wurde die Inkubation bei leichter Hypothermie (35 °C) durchgeführt, waren die Isofluran-induzierten DNA-Schäden und die Zytotoxizität statistisch signifikant geringer als unter Standardbedingungen (37 °C) (Li et al. 2017).

Inkubation von MLE 12-Zellen (murine Lungenepithelzellen) mit 2 % Isofluran (in Raumluft), 60 % Sauerstoff (Hyperoxie) oder einer Kombination von 2 % Isofluran und 60 % Sauerstoff führte nach 24, jedoch nicht nach zwei Stunden zu einem statistisch signifikanten Anstieg an 8-Oxo-dG-Schäden, sowohl im Nukleus als auch in den Mitochondrien, gemessen mittels Immunfluoreszenz. Der größte Schaden wurde durch 2 % Isofluran induziert, welcher durch Co-Inkubation mit Sauerstoff statistisch signifikant reduziert wurde (Kundumani-Sridharan et al. 2019).

5.6.2 In vivo

Männliche Wildtyp *Drosophila melanogaster* wurden nach einer Behandlung mit 10 000 oder 20 000 ml Isofluran/m³ für die Dauer von einer Stunde mit unbehandelten weiblichen Tieren verpaart. Im geschlechtsgebundenen Rezessiv-Letal-Test (SLRL-Test) traten keine mutagenen Effekte in der F2-Generation auf (Greim 1993; Kundomal und Baden 1985; Saber und Hougaard 2009).

In einem weiteren Test an *Drosophila melanogaster* auf X-chromosomale rezessive Letalmutationen war eine einstündige Exposition gegen Isofluran (20 000 ml/m³) in Kombination mit N₂O (75 %) ohne mutagene Wirkung (Baden und Kundomal 1987; Greim 2007; Saber und Hougaard 2009).

Zu den schon in der Begründung aus dem Jahr 1993 (Greim 1993) und dem Nachtrag 2007 (Greim 2007) berichteten negativen Untersuchungen an *Drosophila melanogaster* sind folgende Untersuchungen neu hinzugekommen:

Isofluran führte mit einer 2,95-fachen Induktion zu einem statistisch signifikanten Anstieg an Mikronuklei in den Nieren von männlichen Sprague-Dawley-Ratten. Ratten wurde zunächst 24 Stunden nach Entfernung der linken Niere Folsäure verabreicht, um den durch die Nephrektomie gesetzten Proliferationsreiz zu verstärken. Nach weiteren zwei Tagen wurden den Ratten Anästhetika einmalig oral in einer Dosis von 4 mmol/kg KG (ca. 800 mg/kg KG) verabreicht und zwei Tage später die Induktion von Mikronuklei in den Nieren untersucht. Es wurden 15 Tiere als Kontrolle und jeweils sechs Tiere für die Behandlungen eingesetzt. Neben Isofluran induzierten auch Halothan (3,48-fach), Chloroform (3,32-fach), Trichlorethen (3,24-fach) und Sevofluran (2,98-fach) Mikronuklei. Enfluran war im selben Versuchsansatz nicht genotoxisch. Die Autoren erklären, dass der etwa 3-fache Anstieg an Mikronuklei nicht als eindeutig positives Ergebnis gewertet werden kann, jedoch einen Verdacht auf eine genotoxische Wirkung liefert (Robbiano et al. 1998; Saber und Hougaard 2009). Die Aussagekraft der Studie ist eingeschränkt, weil die angewendete Methode nicht validiert ist und nur eine Dosis getestet wurde. Bei den fünf von sechs getesteten Anästhetika liegen die Werte in der gleichen Größenordnung, was aufgrund der unterschiedlich starken Nierentoxizität widersprüchlich erscheint.

Die inhalative Exposition von jeweils zehn männlichen SD-Ratten gegen 10 000 ml Isofluran/m³ in Luft für 30 oder 60 Minuten führte, verglichen mit nicht exponierten Kontrolltieren, zu statistisch signifikant erhöhten DNA-Schäden im Comet-Assay in Lymphozyten, Milz, Knochenmark, Gehirn, Leber und Lunge. Die „Olive tail moment“ (OTM) der Lymphozyten betragen nach 30 bzw. 60 Minuten Exposition $1,36 \pm 0,02$ und $1,51 \pm 0,08$ (Kontrolle: $1,24 \pm 0,01$). Im Knochenmark betragen die entsprechenden Werte $1,28 \pm 0,03$ bzw. $1,88 \pm 0,02$ nach 30 und 60 Minuten gegenüber $1,13 \pm 0,05$ in der Kontrolle, für die Milz $1,26 \pm 0,01$ bzw. $1,96 \pm 0,02$ gegenüber $1,02 \pm 0,06$, für die Leber $1,74 \pm 0,04$ bzw. $2,12 \pm 0,05$ gegenüber $1,48 \pm 0,05$, für das Gehirn $1,44 \pm 0,10$ bzw. $1,83 \pm 0,05$ gegenüber $1,36 \pm 0,02$, für die Lunge $2,20 \pm 0,06$ bzw. $2,13 \pm 0,08$ gegenüber $1,37 \pm 0,02$. In allen Organen, außer in der Lunge, nahmen die DNA-Schäden mit der Zeit zu. Zudem wurde die Lipidperoxidation (Malondialdehyd-Konzentration) bestimmt und war in allen Geweben leicht, im Knochenmark deutlich erhöht. Die Proteinoxidation wurde mittels der Carbonylgruppen-Bestimmung in Aminosäuren durch Derivatisierung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin untersucht. Der höchste Wert wurde auch hier für das Knochenmark gemessen. Keine statistisch signifikante Erhöhung wurde in der Milz beobachtet. Den Autoren zufolge stehen die Lipidperoxidation und die Proteinoxidation daher in keinem Zusammenhang mit der DNA-Schädigung (Kim et al. 2006).

Jeweils sechs Wistar-Ratten wurden einmalig inhalativ zwei Stunden lang gegen 20 000 ml Isofluran/m³ oder gegen 40 000 ml Sevofluran/m³ in Sauerstoff exponiert und anschließend Vollblutzellen mittels Comet-Assay auf DNA-Schäden untersucht. Sevofluran induzierte einen statistisch signifikanten Anstieg an DNA-Strangbrüchen verglichen mit der Kontrollgruppe ($p = 0,02$). Mit Isofluran hingegen waren die DNA-Strangbrüche erhöht, aber nicht statistisch signifikant ($p > 0,05$). Die Zytotoxizität, gemessen mittels Trypan-Blau, betrug mehr als 98 %. Im MTT-Test ergab sich nach Isofluran-Exposition eine statistisch signifikant erhöhte Zellvitalität. Die Autoren postulieren, dass dies eine höhere antioxidative Kapazität der Zellen zeigt, was als Ursache der mit Sevofluran verglichenen geringeren DNA-Schäden zu sehen sei (Rocha et al. 2015).

Isofluran, Sevofluran und Halothan induzierten nach wiederholter Inhalation DNA-Strangbrüche in Ehrlich-Aszites-Tumorzellen (EAT) bei männlichen Swiss-Mäusen. Gruppen von jeweils vier Tieren wurden 2×10^6 EAT-Zellen intraperitoneal verabreicht. Die Behandlung begann drei Tage später. Die Tiere wurden dann an weiteren drei aufeinanderfolgenden Tagen zwei Stunden lang gegen 17 000 ml Isofluran/m³, 24 000 ml Sevofluran/m³ oder 15 000 ml Halothan/m³ in Sauerstoff exponiert. Die Kontrollgruppe blieb unbehandelt. Die DNA-Schäden der EAT-Zellen wurden anschließend mittels Comet-Assay untersucht und die Apoptose mit Durchflusszytometrie. Alle drei Inhalationsnarkotika verursachten verglichen mit der Kontrollgruppe statistisch signifikant erhöhte DNA-Strangbrüche ($p < 0,001$). Für Isofluran betrug die mittlere „tail length“ $1,51 \pm 0,61$, für Sevofluran $1,41 \pm 0,67$, für Halothan $1,89 \pm 0,68$ und für die Kontrollgruppe $0,38 \pm 0,55$. Sevofluran und Halothan zeigten keinen signifikanten Effekt auf die Apoptoserate der Zellen, verminderten aber signifikant die Anzahl der lebenden EAT-Zellen in der Peritoneal-Lavage. Die wiederholte Anästhesie mit Isofluran hingegen hatte einen stimulierenden Effekt auf die Proliferation der EAT-Zellen mit einer Zunahme der lebenden Zellen um 26,22 % und inhibierte gleichzeitig die Apoptose der Tumorzellen (6,11 %) im Vergleich zur Kontrollgruppe (10,26 %) (Brozovic et al. 2009).

In einer weiteren Studie derselben Arbeitsgruppe wurden die DNA-Schäden mittels Comet-Assay nach Exposition gegen Isofluran oder Halothan in Sauerstoff (gleicher Versuchsaufbau wie bei Brozovic et al. 2009) an fünf Mäusen pro Gruppe in peripheren Leukozyten (Blut), Gehirn, Leber und Nieren untersucht. Beide Substanzen induzierten in allen untersuchten Geweben einen statistisch signifikanten Anstieg ($p < 0,05$ verglichen mit der Kontrollgruppe) der DNA-Strangbrüche. Verglichen mit Halothan verursachte Isofluran einen stärkeren Anstieg in peripheren Lymphozyten und Nierenzellen, hingegen wirkte Halothan stärker in Leber und Gehirn (Brozovic et al. 2011).

Ebenfalls aus dieser Arbeitsgruppe stammt eine Untersuchung der DNA-Schädigung und -Reparatur an Nierenzellen männlicher Swiss-Mäuse nach zweistündiger Exposition an drei aufeinanderfolgenden Tagen gegen 17 000 ml Isofluran/m³ oder 24 000 ml Sevofluran/m³ in Sauerstoff. „Tail length“, „tail moment“ und „tail intensity“ wurden im Comet-Assay 0, 2, 6 und 24 Stunden nach Ende der Exposition bestimmt und mit der Kontrollgruppe verglichen. Alle drei Parameter waren statistisch signifikant erhöht in den mit Isofluran und Sevofluran behandelten Gruppen. Die durch Sevofluran induzierten DNA-Strangbrüche stiegen bis 24 Stunden kontinuierlich an. Mit Isofluran war die Strangbruchrate unmittelbar nach der Exposition und nach 2, 6 und 24 Stunden statistisch signifikant erhöht, am höchsten nach zwei Stunden, und nahm dann wieder ab (Brozović et al. 2017).

Unter Narkose-Bedingungen findet eine gleichzeitige Exposition gegen hohe Konzentrationen von Sauerstoff statt. Für eine Bestimmung einer möglichen DNA-Schädigung in der Lunge durch Hyperoxie wurden Mäuse zwei Stunden lang gegen Raumluft mit und ohne 2 % Isofluran (20 000 ml/m³) oder gegen 60 % Sauerstoff (Hyperoxie) mit und ohne 2 % Isofluran inhalativ exponiert. Untersucht wurde die Expression von Genen, die Marker für oxidativen Stress oder DNA-Schädigung sind, von DNA-Reparaturgenen und Zellzyklus-regulierenden Proteinen mittels Western-Blot und PCR. Zudem erfolgte eine Messung der Apoptose mit dem TUNEL-Test und die Bestimmung von 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosin (8-Oxo-dG). Hyperoxie führte zu mitochondrialer und nukleärer DNA-Schädigung und die Kombination mit Isofluran verminderte diese Effekte sowie die Apoptose. Hingegen führt die alleinige Exposition gegen 20 000 ml Isofluran/m³ in Raumluft zu einer statistisch signifikanten Erhöhung von 8-Oxo-dG in den Mitochondrien und im Zellkern. Weiterhin hemmt Isofluran nur in Kombination mit erhöhter Sauerstoffkonzentration die NADPH-Oxidase, die eine Quelle für die Superoxid-Anionen-Bildung ist. Das Fazit der Autoren ist, dass die DNA-Schäden durch Hyperoxie unter Narkose durch Isofluran vermindert werden, während Isofluran in Kombination mit Raumluft genotoxisch in der Lunge ist (Kundumani-Sridharan et al. 2019).

Jeweils drei 18 Monate alte Mäuse wurden zwei Stunden lang mit 14 000 ml Isofluran/m³ in 100 % Sauerstoff anästhesiert. Die Kontrolltiere wurden gegen reinen Sauerstoff (100 %) exponiert. Der γ H2A.X-Wert im präfrontalen Cortex des Gehirns stieg nach der Isofluran-Exposition auf etwa das 2,4-Fache ($p = 0,0005$) des Kontrollwerts (Ni et al. 2017).

5.6.3 Fazit

In vitro: Isofluran erwies sich als nicht mutagen in Bakterien. DNA-Schäden traten nur bei gleichzeitiger Apoptose oder Zytotoxizität auf. Tests auf SCE verliefen uneinheitlich. In CHO- und V79-Zellen wurden keine SCE induziert. Ein einzelner positiver SCE-Test an humanen Blutlymphozyten gibt jedoch einen Hinweis auf eine klastogene Wirkung von Isofluran in vitro.

In vivo: Zur Bewertung der genotoxischen Wirkung nach inhalativer Exposition beim Tier liegen nur Studien mit narkotischen Konzentrationen vor, die Hinweise auf DNA-Schäden (Comet-Assay) liefern, jedoch für die Bewertung der genotoxischen Wirkung unter Arbeitsplatzbedingungen ungeeignet sind. Da nur jeweils eine Konzentration in den Studien getestet wurde, ist eine Aussage zur Konzentrations-Wirkungs-Beziehung nicht möglich. Der nach einmaliger oraler Gabe positive Mikronukleustest ist aufgrund der nicht validierten Methode, Verabreichung von nur einer Dosis und Werte in gleicher Größenordnung wie der von fünf positiv getesteten Narkotika trotz unterschiedlich starker Nierentoxizität nur eingeschränkt zur Bewertung heranzuziehen. Insgesamt bedarf es weiterer Abklärung der genotoxischen Wirkung von Isofluran, insbesondere in den Konzentrationsbereichen wie sie am Arbeitsplatz vorliegen.

5.7 Kanzerogenität

Seit der letzten Begründung aus dem Jahr 2007 (Greim 2007) liegen keine neuen Daten zu diesem Endpunkt vor. Nach Exposition gegen 0, 1000 oder 4000 ml Isofluran/m³, vier Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche, 78 Wochen lang, traten keine erhöhten Tumorzinidenzen, sowie keine histopathologischen Veränderungen bei Swiss-Webster-Mäusen auf (Baden et al. 1988).

6 Bewertung

Die empfindlichsten Endpunkte stellen die zentralnervöse Wirkung beim Menschen, sowie die Lebertoxizität und die Effekte auf die Reproduktionsorgane beim Tier dar.

MAK-Wert. Angaben zur Lebertoxizität bei nicht anästhetischen Konzentrationen liegen für den Menschen nicht vor. Aus einer Langzeitstudie (24 Stunden pro Tag; 30 Wochen) an männlichen F344-Ratten kann für die Leber, den CYP-Gehalt und für die ALT-Aktivität im Serum eine NOAEC von 20 ml/m³ abgeleitet werden. Unter Berücksichtigung einer achtstündigen und fünftägigen Arbeitsplatzexposition und der Übertragung vom Tier auf den Menschen (1:2) würde sich ein MAK-Wert von 42 ml/m³ ($20 \text{ ml/m}^3 \times 24/8 \times 7/5 \times 1/2$) ergeben. Es wurde jedoch keine höhere Konzentration untersucht. Aus der Analogie-Betrachtung zu Halothan ergibt sich für die Neurotoxizität beim Menschen eine NOAEC von 92 ml Isofluran/m³. Da die Exposition 3–4 Stunden dauerte und das Fließgleichgewicht für Isofluran nach ca. 100 Minuten erreicht ist, sowie eine präanästhetische Wirkung nur von der Konzentration abhängt, ist eine Wirkungsverstärkung mit der Zeit für die akute zentralnervöse Wirkung nicht zu erwarten, so dass dafür ein MAK-Wert von 92 ml/m³ abgeleitet werden könnte. In einer Langzeitstudie an der Maus wurden keine histopathologischen Effekte an den Testes oder Ovarien bis zu einer Konzentration von 4000 ml/m³ beobachtet. Für die Effekte auf die Reproduktionsorgane lässt sich für die weibliche Maus eine NOAEC von 2500 ml/m³ (Tang et al. 2020) und für die Effekte an den Reproduktionsorganen der männlichen Ratte, als empfindlichste Spezies, eine NOAEC von 50 ml/m³ (Xu et al. 2012) ableiten. Das erhöhte Atemvolumen muss nicht berücksichtigt werden, da der Blut:Luft-Verteilungskoeffizient unter 5 (1,4) ist. Ausgehend von der niedrigsten NOAEC von 50 ml/m³ wird, unter der Annahme, dass der Effekt C \times T-abhängig ist, von zwei Stunden auf eine achtstündige Arbeitszeit extrapoliert (1:4). Da die Expositionsdauer nur 15 Tage betrug, aber der Spermatogenesezyklus ca. 56 Tage beträgt, wird eine Extrapolation von subakuter auf subchronische Dauer vorgenommen (1:2). Weiterhin wird die Übertragung der tierexperimentellen

Befunde auf den Menschen berücksichtigt (1:2). Somit errechnet sich eine Luftkonzentration von 3,1 ml/m³. Unter Verwendung des „Preferred Value Approach“ wird ein MAK-Wert von 2 ml/m³ festgesetzt.

Spitzenbegrenzung. Der kritische Effekt ist systemisch, deshalb erfolgt die Zuordnung zu Spitzenbegrenzungskategorie II. Da für den Effekt auf die Hoden bei der Ableitung des MAK-Werts mit der Extrapolation von zwei auf acht Stunden eine C × T-Abhängigkeit angenommen wird, sind Konzentrationsspitzen nicht maßgeblich. Daher wird der Überschreitungsfaktor 8 festgelegt.

Fruchtschädigende Wirkung. Isofluran führt im Tierversuch in anästhetisch wirkenden Konzentrationen bei der Maus bei 6000 ml/m³ zu erniedrigten Fetengewichten und verzögerter Ossifikation sowie zu einer erhöhten Rate an späten Resorptionen (Mazze et al. 1985) und bei der Ratte bei 10 500 ml/m³ zu erniedrigten Fetengewichten (Mazze et al. 1986). Hinweise auf vermehrt auftretende Gaumenspalten zeigten sich bei Mäusen bei 6000 ml/m³, nicht aber bei Ratten und Kaninchen. Die Exposition von Mäusen gegen 600 ml Isofluran/m³ (NOAEC für pränatale Entwicklungstoxizität) ließ weder embryotoxische noch maternaltoxische Effekte erkennen (Mazze et al. 1985). Bei Ratten beträgt die NOAEC für pränatale Entwicklungstoxizität 4000 ml/m³ nach Inhalation von Isofluran an den Gestationstagen 8–10 bzw. 14–16. Daraus ergibt sich ohne Berücksichtigung des erhöhten Atemvolumens (siehe Abschnitt „MAK-Wert“) ein 300- bzw. 2000-facher Abstand zum MAK-Wert von 2 ml/m³. Die pränatale Exposition verursacht jedoch auch postnatal Effekte im Verhalten bei Mäusen und Ratten. Diese wurden bei Mäusen bei 4000 ml Isofluran/m³ beobachtet (Rice 1986) und bei Ratten bei 13 000 ml/m³ (Kong et al. 2011, 2012 b). Da keine niedrigeren Konzentrationen getestet wurden, kann keine NOAEC für die postnatalen Verhaltenseffekte nach pränataler Exposition angegeben werden.

Aufgrund von Ergebnissen aus mechanistischen Studien scheint das sich entwickelnde Gehirn sensitiv auf Isofluran mit Neurodegenerationen zu reagieren. Die niedrigste neurotoxische Effektkonzentration liegt bei 7500 ml/m³ nach einmaliger vierstündiger Exposition sieben Tage alter Mäuse (Colon et al. 2017).

Bei der Bewertung der entwicklungsneurotoxischen Wirkung ist auch zu berücksichtigen, dass die werdende Mutter bis auf die sechswöchige Mutterschutzzeit acht Stunden pro Tag und fünf Tage pro Woche während der Schwangerschaft exponiert sein kann. Studien mit trächtigen oder neonatalen Tieren nach einmaliger Exposition gegen anästhetisch wirkende Konzentrationen sind nicht geeignet, eine Aussage über die besondere Situation am Arbeitsplatz mit der beschriebenen längeren Expositionszeit zu treffen.

Während das menschliche Gehirn beim Fetus einer beträchtlichen Entwicklung in utero unterliegt, passiert dies bei Nagetieren vorwiegend postnatal (Deng und Loepke 2014). Die Entwicklung des Gehirns beim Nager bis zum 10. Postnataltag ist äquivalent zum Menschen am Ende der Schwangerschaft (Semple et al. 2013). Folglich sind auch entwicklungsneurotoxische Effekte bei Nagern in der frühen Postnatalzeit als kritisch für die In-utero-Entwicklung beim Menschen anzusehen und die bei Ratten beobachteten Effekte bis zum 10. Postnataltag zur Bewertung der pränatalen Entwicklungstoxizität beim Menschen zu beachten.

Zwar würden die 300- bzw. 2000-fachen Abstände der NOAEC für pränatale Entwicklungstoxizität ausreichen, um Schwangerschaftsgruppe C zu vergeben, allerdings fehlt eine NOAEC für postnatale Verhaltenseffekte nach rein pränataler Exposition. Zudem ergibt sich ein Verdacht auf entwicklungsneurotoxische Effekte bei Nagern und Makaken im neonatalen und juvenilen Alter. In dieser Altersstufe reagieren die Tiere empfindlicher auf die neurotoxischen Effekte von Isofluran als im Erwachsenenalter. Es liegen jedoch keine Studien an neonatalen oder juvenilen Tieren mit nicht-anästhetischen Konzentrationen vor, aus denen sich eine NOAEC für entwicklungsneurotoxische Effekte von Isofluran ableiten lassen würde.

Daher wird Isofluran der Schwangerschaftsgruppe D zugeordnet.

Krebserzeugende Wirkung. Neue Untersuchungen zur krebserzeugenden Wirkung von Isofluran liegen nicht vor. In einer Langzeitstudie an Mäusen wurden keine erhöhten Tumorzinzenzen bis zu einer Konzentration von 4000 ml/m³ beobachtet. Es erfolgt weiterhin keine Einstufung in eine Kanzerogenitäts-Kategorie.

Keimzellmutagene Wirkung. DNA-Schäden, die bei Operationspersonal in Querschnittsstudien beobachtet wurden, geben allenfalls Hinweise auf ein genotoxisches Potential für Isofluran. Da jedoch eine Mischexposition unterschiedlicher Inhalationsnarkotika in den OP-Räumen vorlag, die frühere Exposition gegen andere Inhalationsnarkotika nicht angegeben und die Biostatistik zum Teil unklar ist, kann aus den vorliegenden Studien eine spezifisch genotoxische Wirkung für Isofluran nicht abgeleitet werden. Isofluran wirkt nicht mutagen in den Salmonella-typhimurium-Stämmen TA98, TA100 und TA1535, sowie in Drosophila. Tests an Keimzellen im Tierversuch mit Säugern liegen nicht vor. Genotoxische Effekte in vitro traten nur bei gleichzeitiger Apoptose oder Zytotoxizität auf. Tests auf SCE verliefen uneinheitlich. In CHO- und V79-Zellen wurden keine SCE induziert. Ein einzelner positiver SCE-Test an Blutlymphozyten gibt jedoch einen Hinweis auf eine klastogene Wirkung von Isofluran in vitro. Zur Bewertung der genotoxischen Wirkung nach inhalativer Exposition beim Tier liegen nur Studien mit narkotischen Konzentrationen vor, die Hinweise auf DNA-Schäden (Comet-Assay) liefern, jedoch für die Bewertung der genotoxischen Wirkung unter Arbeitsplatzbedingungen ungeeignet sind. Da nur jeweils eine Konzentration in den Studien getestet wurde, ist eine Aussage zur Konzentrations-Wirkungs-Beziehung nicht möglich. Eine Einstufung in eine Kategorie für Keimzellmutagene erfolgt daher weiterhin nicht. Insgesamt bedarf es weiterer Abklärung der genotoxischen Wirkung von Isofluran, insbesondere in den Konzentrationsbereichen wie sie am Arbeitsplatz vorliegen.

Hautresorption. Isofluran wird ausschließlich als Inhalationsnarkotikum eingesetzt. Ein regelmäßiger Kontakt des flüssigen Isoflurans mit der Haut ist auch aufgrund des hohen Dampfdrucks unwahrscheinlich. Die Aufnahme über die Haut aus der Gasphase spielt keine Rolle (McDougal et al. 1990) und Isofluran wird daher weiterhin nicht mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Zur hautsensibilisierenden Wirkung liegen nur zwei Einzelfallbeschreibungen, die bereits im Nachtrag von 2007 beschrieben sind (Greim 2007), jedoch keine tierexperimentellen oder In-vitro-Daten vor. Eine Markierung mit „Sh“ erfolgt daher weiterhin nicht. Es wurden nur von einem Zentrum einige Befunde zu Atemwegsreaktionen bei OP-Beschäftigten nach beruflicher Exposition gegen Isofluran berichtet, die auf eine immunologische Reaktion hinweisen. Angesichts der häufigen Anwendung als Inhalationsnarkotikum kann anhand dieser Berichte eine Markierung mit „Sa“ nicht hinreichend begründet werden. Eine Markierung mit „Sa“ erfolgt daher ebenfalls weiterhin nicht.

Anmerkungen

Interessenkonflikte

Die in der Kommission etablierten Regelungen und Maßnahmen zur Vermeidung von Interessenkonflikten (www.dfg.de/mak/interessenkonflikte) stellen sicher, dass die Inhalte und Schlussfolgerungen der Publikation ausschließlich wissenschaftliche Aspekte berücksichtigen.

Literatur

- Accorsi A, Barbieri A, Raffi G, Violante F (2001) Biomonitoring of exposure to nitrous oxide, sevoflurane, isoflurane and halothane by automated GC/MS headspace urinalysis. *Int Arch Occup Environ Health* 74(8): 541–548. <https://doi.org/10.1007/s004200100263>
- Arici S, Karaman S, Dogru S, Arici A, Karaman T, Tapar H, Suren M, Kaya Z (2013) Effects of isoflurane in an intoxication model: experimental study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 17(13): 1738–1743
- Aun AG, Souza KM, Guedes JL, Figueiredo DBS, Lara JR, Silva MAP, Braz LG, Braz MG (2021) Hepatotoxic and neuroendocrine effects in physicians occupationally exposed to most modern halogenated anesthetics and nitrous oxide. *Environ Toxicol Pharmacol* 81: 103515. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103515>

- Baden JM, Kundomal YR (1987) Mutagenicity of the combination of a volatile anaesthetic and nitrous oxide. *Br J Anaesth* 59(6): 772–775. <https://doi.org/10.1093/bja/59.6.772>
- Baden JM, Kelley M, Wharton RS, Hitt BA, Simmon VF, Mazze RI (1977) Mutagenicity of halogenated ether anesthetics. *Anesthesiology* 46(5): 346–350. <https://doi.org/10.1097/00000542-197705000-00010>
- Baden JM, Kundomal YR, Mazze RI, Kosek JC (1988) Carcinogen bioassay of isoflurane in mice. *Anesthesiology* 69(5): 750–753. <https://doi.org/10.1097/00000542-198811000-00018>
- Bilban M, Jakopin CB, Ogrinc D (2005) Cytogenetic tests performed on operating room personnel (the use of anaesthetic gases). *Int Arch Occup Environ Health* 78(1): 60–64. <https://doi.org/10.1007/s00420-004-0579-1>
- Boivin JF (1997) Risk of spontaneous abortion in women occupationally exposed to anaesthetic gases: a meta-analysis. *Occup Environ Med* 54(8): 541–548. <https://doi.org/10.1136/oem.54.8.541>
- Brambrink AM, Back SA, Riddle A, Gong X, Moravec MD, Dissen GA, Creeley CE, Dikranian KT, Olney JW (2012) Isoflurane-induced apoptosis of oligodendrocytes in the neonatal primate brain. *Ann Neurol* 72(4): 525–535. <https://doi.org/10.1002/ana.23652>
- Braz MG, Braz LG, Barbosa BS, Giacobino J, Orosz JEB, Salvadori DMF, Braz JRC (2011 a) DNA damage in patients who underwent minimally invasive surgery under inhalation or intravenous anesthesia. *Mutat Res* 726(2): 251–254. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.09.007>
- Braz MG, Mazoti MÁ, Giacobino J, Braz LG, de Assis Golim M, Ferrasi AC, de Carvalho LR, Braz JRC, Salvadori DMF (2011 b) Genotoxicity, cytotoxicity and gene expression in patients undergoing elective surgery under isoflurane anaesthesia. *Mutagenesis* 26(3): 415–420. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq109>
- Braz MG, Carvalho LIM, Chen C-YO, Blumberg JB, Souza KM, Arruda NM, Filho DAA, Resende LO, Faria RTBG, Canário C d'A, de Carvalho LR, Corrêa CR, Braz JRC, Braz LG (2020) High concentrations of waste anesthetic gases induce genetic damage and inflammation in physicians exposed for three years: A cross-sectional study. *Indoor Air* 30(3): 512–520. <https://doi.org/10.1111/ina.12643>
- Brozovic G, Orsolich N, Knezevic F, Horvat Knezevic A, Benkovic V, Sakic K, Hrgovic Z, Bendelja K, Fassbender WJ (2009) Genotoxicity and cytotoxicity of cisplatin treatment combined with anaesthetics on EAT cells in vivo. *Onkologie* 32(6): 337–343. <https://doi.org/10.1159/000218066>
- Brozovic G, Orsolich N, Knezevic F, Horvat Knezevic A, Benkovic V, Sakic K, Borojevic N, Dikic D (2011) The in vivo genotoxicity of cisplatin, isoflurane and halothane evaluated by alkaline comet assay in Swiss albino mice. *J Appl Genet* 52(3): 355–361. <https://doi.org/10.1007/s13353-011-0046-0>
- Brozović G, Oršolić N, Rozgaj R, Knežević F, Horvat Knežević A, Maričić M, Krsnik D, Benković V (2017) Sevoflurane and isoflurane genotoxicity in kidney cells of mice. *Arh Hig Rada Toksikol* 68(3): 228–235. <https://doi.org/10.1515/aiht-2017-68-2941>
- Campion SN, Cappon GD, Chapin RE, Jamon RT, Winton TR, Nowland WS (2012) Isoflurane reduces motile sperm counts in the Sprague-Dawley rat. *Drug Chem Toxicol* 35(1): 20–24. <https://doi.org/10.3109/01480545.2011.564182>
- Cao Y, Li Z, Li H, Ni C, Li L, Yang N, Shi C, Zhong Y, Cui D, Guo X (2018) Hypoxia-inducible factor-1 α is involved in isoflurane-induced blood-brain barrier disruption in aged rats model of POCD. *Behav Brain Res* 339: 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.09.004>
- Casale T, Ciaciri T, Rosati MV, Giofrè PA, Schifano MP, Capozzella A, Pimpinella B, Tomei G, Tomei F (2014) Anesthetic gases and occupationally exposed workers. *Environ Toxicol Pharmacol* 37(1): 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.12.003>
- Chandrasekhar M, Rekhadevi PV, Sailaja N, Rahman MF, Reddy JP, Mahboob M, Grover P (2006) Evaluation of genetic damage in operating room personnel exposed to anaesthetic gases. *Mutagenesis* 21(4): 249–254. <https://doi.org/10.1093/mutage/gel029>
- Chan-Yeung M, Malo J-L, Tarlo SM, Bernstein L, Gautrin D, Mapp C, Newman-Taylor A, Swanson MC, Perrault G, Jaques L, Blanc PD, Vandenplas O, Cartier A, Becklake MR, American Thoracic Society (2003) Proceedings of the first Jack Pepys Occupational Asthma Symposium. *Am J Respir Crit Care Med* 167(3): 450–471. <https://doi.org/10.1164/rccm.167.3.450>
- Colon E, Bittner EA, Kussman B, McCann ME, Soriano S, Borsook D (2017) Anesthesia, brain changes, and behavior: Insights from neural systems biology. *Prog Neurobiol* 153: 121–160. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.01.005>
- Cook TL, Smith M, Starkweather JA, Winter PM, Eger EI II (1978) Behavioral effects of trace and subanesthetic halothane and nitrous oxide in man. *Anesthesiology* 49(6): 419–424. <https://doi.org/10.1097/00000542-197812000-00007>
- Creeley CE, Dikranian KT, Dissen GA, Back SA, Olney JW, Brambrink AM (2014) Isoflurane-induced apoptosis of neurons and oligodendrocytes in the fetal rhesus macaque brain. *Anesthesiology* 120(3): 626–638. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000037>
- Dallmeier E, Henschler D (1981) Halothan-Belastung am Arbeitsplatz im Operationsaal: Experimentelle Begründung für biologisches Monitoring und Aufstellung eines Grenzwertes. *Dtsch Med Wochenschr* 106(11): 324–328. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1070311>
- Deng M, Loepke AW (2014) Anesthetic neurotoxicity – Preclinical and clinical research. *J Perioper Sci* 1(1): 6
- Deng M, Hofacer RD, Jiang C, Joseph B, Hughes EA, Jia B, Danzer SC, Loepke AW (2014) Brain regional vulnerability to anaesthesia-induced neuroapoptosis shifts with age at exposure and extends into adulthood for some regions. *Br J Anaesth* 113(3): 443–451. <https://doi.org/10.1093/bja/aet469>
- Dickinson R, Peterson BK, Banks P, Simillis C, Martin JCS, Valenzuela CA, Maze M, Franks NP (2007) Competitive inhibition at the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor by the anesthetics xenon and isoflurane: evidence from molecular modeling and electrophysiology. *Anesthesiology* 107(5): 756–767. <https://doi.org/10.1097/01.anes.00000287061.77674.71>

- Ding Y, Yu J, Qu P, Ma P, Yu Z (2015) The negative effects of chronic exposure to isoflurane on spermatogenesis via breaking the hypothalamus-pituitary-gonadal equilibrium. *Inhal Toxicol* 27(12): 621–628. <https://doi.org/10.3109/08958378.2015.1080772>
- Du Y, Gong X-D, Fang X, Xing F, Xia T-J, Gu X-P (2020) Sevoflurane plays a reduced role in cognitive impairment compared with isoflurane: limited effect on fear memory retention. *Neural Regen Res* 15(1): 96–102. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.264468>
- Dugan CM, MacDonald AE, Roth RA, Ganey PE (2010) A mouse model of severe halothane hepatitis based on human risk factors. *J Pharmacol Exp Ther* 333(2): 364–372. <https://doi.org/10.1124/jpet.109.164541>
- Eckle V-S, Hucklenbruch C, Todorovic SM (2009) Was wissen wir über Narkosemechanismen? Bewusstlosigkeit, Bewegungslosigkeit und Amnesie. *Anaesthesist* 58(11): 1144–1149. <https://doi.org/10.1007/s00101-009-1618-9>
- El-Ebiary AA, Abuefadel AA, Sarhan NI, Othman MM (2012) Assessment of genotoxicity risk in operation room personnel by the alkaline comet assay. *Hum Exp Toxicol* 32(6): 563–570. <https://doi.org/10.1177/0960327111426584>
- Fujinaga M, Baden JM, Yhap EO, Mazze RI (1987) Reproductive and teratogenic effects of nitrous oxide, isoflurane, and their combination in Sprague-Dawley rats. *Anesthesiology* 67(6): 960–964. <https://doi.org/10.1097/0000542-198712000-00014>
- Greim H, Hrsg (1993) Isofluran. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 19. Lieferung. Weinheim: VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb2667546d0019>
- Greim H, Hrsg (2007) Isofluran. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 43. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb2667546d0043>
- Gröger G, Rosien U, Berg T (2011) Medikamentös induzierte und toxische Lebererkrankungen. In: Layer P, Rosien U, Hrsg. *Praktische Gastroenterologie*, 4. Aufl. München: Elsevier GmbH, Urban & Fischer. S. 329–335. <https://doi.org/10.1016/B978-3-437-23372-2.10011-9>
- Gunaratnam NT, Benson J, Gandolfi AJ, Chen M (1995) Suspected isoflurane hepatitis in an obese patient with a history of halothane hepatitis. *Anesthesiology* 83(6): 1361–1364. <https://doi.org/10.1097/0000542-199512000-00030>
- Guo M, Zhu X, Xu H, Li J, Yang S, Zuo Z, Lin D (2019) Ulinastatin attenuates isoflurane-induced cognitive dysfunction in aged rats by inhibiting neuroinflammation and β -amyloid peptide expression in the brain. *Neuro Res* 41(10): 923–929. <https://doi.org/10.1080/01616412.2019.1642564>
- Hasan F (1998) Isoflurane hepatotoxicity in a patient with a previous history of halothane-induced hepatitis. *Hepatogastroenterology* 45(20): 518–522
- Hoerauf K, Lierz M, Wiesner G, Schroegendorfer K, Lierz P, Spacek A, Brunnberg L, Nüsse M (1999 a) Genetic damage in operating room personnel exposed to isoflurane and nitrous oxide. *Occup Environ Med* 56(7): 433–437. <https://doi.org/10.1136/oem.56.7.433>
- Hoerauf KH, Schröndorfer KF, Wiesner G, Gruber M, Spacek A, Kress H-G, Rüdiger HW (1999 b) Sister chromatid exchange in human lymphocytes exposed to isoflurane and nitrous oxide in vitro. *Br J Anaesth* 82(2): 268–270. <https://doi.org/10.1093/bja/82.2.268>
- Hoerauf KH, Wiesner G, Schroegendorfer KF, Jobst BP, Spacek A, Harth M, Sator-Katzenschlager S, Rüdiger HW (1999 c) Waste anaesthetic gases induce sister chromatid exchanges in lymphocytes of operating room personnel. *Br J Anaesth* 82(5): 764–766. <https://doi.org/10.1093/bja/82.5.764>
- Höner zu Siederdisen C, Cornberg M (2016) Arzneimittelinduzierte Leberschäden. In: Manns MP, Schneidewind S, Hrsg. *Praxis der Hepatologie*. Berlin, Heidelberg: Springer. S. 119–127. https://doi.org/10.1007/978-3-642-41620-0_18
- IFA (Institut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung) (2021) Isofluran. GESTIS-Stoffdatenbank. <https://gestis.dguv.de/data?name=135922>, abgerufen am 14 Jul 2021
- Izdes S, Şardas S, Kadioglu E, Karakaya AE (2010) DNA damage, glutathione, and total antioxidant capacity in anesthesia nurses. *Arch Environ Occup Health* 65(4): 211–217. <https://doi.org/10.1080/19338244.2010.486421>
- Jaloszyński P, Kujawski M, Wasowicz M, Szulc R, Szyfter K (1999) Genotoxicity of inhalation anesthetics halothane and isoflurane in human lymphocytes studied in vitro using the comet assay. *Mutat Res* 439(2): 199–206. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(98\)00195-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(98)00195-8)
- Kalenka A, Gross B, Maurer MH, Thierse H-J, Feldmann RE Jr (2010) Isoflurane anesthesia elicits protein pattern changes in rat hippocampus. *J Neurosurg Anesthesiol* 22(2): 144–154. <https://doi.org/10.1097/ANA.0b013e3181cb7cb8>
- Karabiyik L, Şardaş S, Polat U, Kocabaş NA, Karakaya AE (2001) Comparison of genotoxicity of sevoflurane and isoflurane in human lymphocytes studied in vivo using the comet assay. *Mutat Res* 492(1): 99–107. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(01\)00159-0](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(01)00159-0)
- Kargar Shouroki F, Neghab M, Mozdarani H, Alipour H, Yousefinejad S, Fardid R (2019) Genotoxicity of inhalational anesthetics and its relationship with the polymorphisms of GSTT1, GSTM1, and GSTP1 genes. *Environ Sci Pollut Res Int* 26(4): 3530–3541. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3859-0>
- Kaymak C, Kadioglu E, Coskun E, Basar H, Basar M (2012) Determination of DNA damage after exposure to inhalation anesthetics in human peripheral lymphocytes and sperm cells in vitro by comet assay. *Hum Exp Toxicol* 31(12): 1207–1213. <https://doi.org/10.1177/0960327112446818>
- Kennedy GL Jr, Smith SH, Keplinger ML, Calandra JC (1977) Reproductive and teratologic studies with isoflurane. *Drug Chem Toxicol* 1(1): 75–88. <https://doi.org/10.3109/01480547709034428>
- Kim H, Oh E, Im H, Mun J, Yang M, Khim J-Y, Lee E, Lim SH, Kong MH, Lee M, Sul D (2006) Oxidative damages in the DNA, lipids, and proteins of rats exposed to isofluranes and alcohols. *Toxicology* 220(2–3): 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.12.010>

- Kong F, Xu L, He D, Zhang X, Lu H (2011) Effects of gestational isoflurane exposure on postnatal memory and learning in rats. *Eur J Pharmacol* 670(1): 168–174. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.08.050>
- Kong F-J, Ma L-L, Hu W-W, Wang W-N, Lu H-S, Chen S-P (2012 a) Fetal exposure to high isoflurane concentration induces postnatal memory and learning deficits in rats. *Biochem Pharmacol* 84(4): 558–563. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.06.001>
- Kong F-J, Tang Y-W, Lou A-F, Chen H, Xu L-H, Zhang X-M, Lu H-S (2012 b) Effects of isoflurane exposure during pregnancy on postnatal memory and learning in offspring rats. *Mol Biol Rep* 39(4): 4849–4855. <https://doi.org/10.1007/s11033-011-1279-z>
- Kundomal YR, Baden JM (1985) Inhaled anaesthetics have no effect on fertility in *Drosophila melanogaster*. *Br J Anaesth* 57(9): 900–903. <https://doi.org/10.1093/bja/57.9.900>
- Kundumani-Sridharan V, Subramani J, Raghavan S, Maiti GP, Owens C, Walker T, Wasnick J, Idell S, Das KC (2019) Short-duration hyperoxia causes genotoxicity in mouse lungs: protection by volatile anesthetic isoflurane. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 316(5): L903–L917. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00142.2018>
- Land PC, Owen EL, Linde HW (1981) Morphologic changes in mouse spermatozoa after exposure to inhalational anesthetics during early spermatogenesis. *Anesthesiology* 54(1): 53–56. <https://doi.org/10.1097/00000542-198101000-00010>
- Li Y, Liang G, Wang S, Meng Q, Wang Q, Wei H (2007) Effects of fetal exposure to isoflurane on postnatal memory and learning in rats. *Neuropharmacology* 53(8): 942–950. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.09.005>
- Li Z-Q, Li L-X, Mo N, Cao Y-Y, Kuerban B, Liang Y-X, Fan D-S, Chui D-H, Guo X-Y (2015) Duration-dependent regulation of autophagy by isoflurane exposure in aged rats. *Neurosci Bull* 31(4): 505–513. <https://doi.org/10.1007/s12264-015-1549-1>
- Li C, Dong Y, Chen D, Xie Z, Zhang Y (2017) Mild hypothermia attenuates the anesthetic isoflurane-induced cytotoxicity. *Front Cell Neurosci* 11: 15. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00015>
- Liang G, Ward C, Peng J, Zhao Y, Huang B, Wei H (2010) Isoflurane causes greater neurodegeneration than an equivalent exposure of sevoflurane in the developing brain of neonatal mice. *Anesthesiology* 112(6): 1325–1334. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181d94da5>
- Lin D, Zuo Z (2011) Isoflurane induces hippocampal cell injury and cognitive impairments in adult rats. *Neuropharmacology* 61(8): 1354–1359. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.08.011>
- Liu J, Wang P, Zhang X, Zhang W, Gu G (2014) Effects of different concentration and duration time of isoflurane on acute and long-term neurocognitive function of young adult C57BL/6 mouse. *Int J Clin Exp Pathol* 7(9): 5828–5836
- Liu J, Zhao Y, Yang J, Zhang X, Zhang W, Wang P (2017) Neonatal repeated exposure to isoflurane not sevoflurane in mice reversibly impaired spatial cognition at juvenile-age. *Neurochem Res* 42(2): 595–605. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2114-7>
- Lucchini R, Belotti L, Cassitto MG, Faillace A, Margonari M, Micheloni G, Scapellato ML, Somenzi V, Spada T, Toffoletto F, Gilioli R (1997) Neurobehavioral functions in operating theatre personnel: a multicenter study. *Med Lav* 88(5): 396–405
- Malnick SDH, Mahlab K, Borchardt J, Sokolowski N, Attali M (2002) Acute cholestatic hepatitis after exposure to isoflurane. *Ann Pharmacother* 36(2): 261–263. <https://doi.org/10.1345/aph.1A009>
- Maloney SE, Yuede CM, Creeley CE, Williams SL, Huffman JN, Taylor GT, Noguchi KN, Wozniak DF (2019) Repeated neonatal isoflurane exposures in the mouse induce apoptotic degenerative changes in the brain and relatively mild long-term behavioral deficits. *Sci Rep* 9(1): 2779. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39174-6>
- Marraccini P, Vittadini G, Ghittori S, Giorgi I, Bonelli S, Buonocore M, Imbriani M (1992) Valutazione di alcuni parametri neuropsicologici in soggetti professionalmente esposti ad anestetici [Evaluation of several neuropsychological parameters in subjects occupationally exposed to anesthetics]. *G Ital Med Lav* 14(1–6): 75–78
- Martin JL, Keegan MT, Vasdev GMS, Nyberg SL, Bourdi M, Pohl LR, Plevak DJ (2001) Fatal hepatitis associated with isoflurane exposure and CYP2A6 autoantibodies. *Anesthesiology* 95(2): 551–553. <https://doi.org/10.1097/00000542-200108000-00043>
- Mazze RI (1985) Fertility, reproduction, and postnatal survival in mice chronically exposed to isoflurane. *Anesthesiology* 63(6): 663–667. <https://doi.org/10.1097/00000542-198512000-00017>
- Mazze RI, Wilson AI, Rice SA, Baden JM (1985) Fetal development in mice exposed to isoflurane. *Teratology* 32(3): 339–345. <https://doi.org/10.1002/tera.1420320303>
- Mazze RI, Fujinaga M, Rice SA, Harris SB, Baden JM (1986) Reproductive and teratogenic effects of nitrous oxide, halothane, isoflurane, and enflurane in Sprague-Dawley rats. *Anesthesiology* 64(3): 339–344. <https://doi.org/10.1097/00000542-198603000-00007>
- McCann ME, Soriano SG (2019) Does general anesthesia affect neurodevelopment in infants and children? *BMJ* 367: l6459. <https://doi.org/10.1136/bmj.l6459>
- McDougal JN, Jepson GW, Clewell HJ 3rd, Gargas ML, Andersen ME (1990) Dermal absorption of organic chemical vapors in rats and humans. *Fundam Appl Toxicol* 14(2): 299–308. [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(90\)90209-3](https://doi.org/10.1016/0272-0590(90)90209-3)
- Meldrum DJ, Griffiths R, Kenna JG (1998) Gallstones and isoflurane hepatitis. *Anaesthesia* 53(9): 905–909. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2044.1998.00567.x>
- Meulenberg CJW, Vijverberg HPM (2000) Empirical relations predicting human and rat tissue:air partition coefficients of volatile organic compounds. *Toxicol Appl Pharmacol* 165(3): 206–216. <https://doi.org/10.1006/taap.2000.8929>

- Neghab M, Amiri F, Soleimani E, Yousefinejad S, Hassanzadeh J (2020 a) Toxic responses of the liver and kidneys following occupational exposure to anesthetic gases. *EXCLI J* 19: 418–429. <https://doi.org/10.17179/EXCLI2019-1911>
- Neghab M, Kargar-Shouroki F, Mozdarani H, Yousefinejad S, Alipour H, Fardid R (2020 b) Association between genotoxic properties of inhalation anesthetics and oxidative stress biomarkers. *Toxicol Ind Health* 36(6): 454–466. <https://doi.org/10.1177/0748233720935696>
- Neghab M, Amiri F, Soleimani E, Yousefinejad S, Hassanzadeh J (2021) Erratum to: Toxic responses of the liver and kidneys following occupational exposure to anesthetic gases. *EXCLI J* 20: 338. <https://doi.org/10.17179/excli2021-3517>
- Newton DEF, Thornton C, Konieczko K, Frith CD, Doré CJ, Webster NR, Luff NP (1990) Levels of consciousness in volunteers breathing sub-MAC concentrations of isoflurane. *Br J Anaesth* 65(5): 609–615. <https://doi.org/10.1093/bja/65.5.609>
- Ni C, Li C, Dong Y, Guo X, Zhang Y, Xie Z (2017) Anesthetic isoflurane induces DNA damage through oxidative stress and p53 pathway. *Mol Neurobiol* 54(5): 3591–3605. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9937-8>
- Nilsson R, Björdal C, Andersson M, Björdal J, Nyberg A, Welin B, Willman A (2005) Health risks and occupational exposure to volatile anaesthetics – a review with a systematic approach. *J Clin Nurs* 14(2): 173–186. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2702.2004.01032.x>
- Nishiyama T (2013) Effects of repeat exposure to inhalation anesthetics on liver and renal function. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 29(1): 83–87. <https://doi.org/10.4103/0970-9185.105809>
- Njoku D, Laster MJ, Gong DH, Eger EI II, Reed GF, Martin JL (1997) Biotransformation of halothane, enflurane, isoflurane, and desflurane to trifluoroacetylated liver proteins: association between protein acylation and hepatic injury. *Anesth Analg* 84(1): 173–178. <https://doi.org/10.1097/00000539-199701000-00031>
- NLM (National Library of Medicine) (2021) Isoflurane. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/26675-46-7>, abgerufen am 15 Sep 2020
- Noguchi KK, Johnson SA, Dissen GA, Martin LD, Manzella FM, Schenning KJ, Olney JW, Brambrink AM (2017) Isoflurane exposure for three hours triggers apoptotic cell death in neonatal macaque brain. *Br J Anaesth* 119(3): 524–531. <https://doi.org/10.1093/bja/aex123>
- Ochmann U, Nowak D (2016) Arbeitsplatzassoziierte obstruktive Atemwegserkrankungen. In: Letzel S, Nowak D, Hrsg. *Handbuch der Arbeitsmedizin*. 33. Lieferung. Landsberg am Lech, Hamburg: ecomed Medizin. S. 1–28
- Ohne Verfasser:in (2018) Isoflurane. In: *LiverTox: Clinical and research information on drug-induced liver injury*. Bethesda, MD: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548501/>, abgerufen am 15 Jul 2021
- Oliveira LA, El Dib RP, Figueiredo DBS, Braz LG, Braz MG (2021) Spontaneous abortion in women occupationally exposed to inhalational anesthetics: a critical systematic review. *Environ Sci Pollut Res Int* 28(9): 10436–10449. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11684-1>
- Palanisamy A, Baxter MG, Keel PK, Xie Z, Crosby G, Culley DJ (2011) Rats exposed to isoflurane in utero during early gestation are behaviorally abnormal as adults. *Anesthesiology* 114(3): 521–528. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318209aa71>
- Parent B, Wearden P, Kounis NG, Chrysostomou C (2011) Kounis syndrome or allergic coronary vasospasm in a two-year-old. *Congenit Heart Dis* 6(5): 499–503. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0803.2011.00499.x>
- Peiris LJ, Agrawal A, Morris JE, Basnyat PS (2012) Isoflurane hepatitis-induced liver failure: a case report. *J Clin Anesth* 24(6): 477–479. <https://doi.org/10.1016/j.jclinane.2011.12.004>
- Plummer JL, Hall PM, Jenner MA, Ilesley AH, Cousins MJ (1986) Effects of chronic inhalation of halothane, enflurane or isoflurane in rats. *Br J Anaesth* 58(5): 517–523. <https://doi.org/10.1093/bja/58.5.517>
- Quansah R, Jaakkola JJ (2010) Occupational exposures and adverse pregnancy outcomes among nurses: a systematic review and meta-analysis. *J Womens Health* 19(10): 1851–1862. <https://doi.org/10.1089/jwh.2009.1876>
- Reitz M, Coen R, Lanz E (1994) DNA single-strand breaks in peripheral lymphocytes of clinical personnel with occupational exposure to volatile inhalational anesthetics. *Environ Res* 65(1): 12–21. <https://doi.org/10.1006/enrs.1994.1018>
- Rice SA (1986) Behavioral effects of in utero isoflurane exposure in young SW mice. *Teratology* 33(3): 100C. <https://doi.org/10.1002/tera.1420330322>
- Rice SA, Baden JM, Kundomal YR (1986) Effects of subchronic intermittent exposure to isoflurane in Swiss Webster mice. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 6(3–4): 285–293
- Rizzi S, Carter LB, Ori C, Jevtovic-Todorovic V (2008) Clinical anesthesia causes permanent damage to the fetal guinea pig brain. *Brain Pathol* 18(2): 198–210. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2007.00116.x>
- Robbiano L, Mereto E, Migliazzi Morando A, Pastore P, Brambilla G (1998) Increased frequency of micronucleated kidney cells in rats exposed to halogenated anaesthetics. *Mutat Res* 413(1): 1–6. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(97\)00187-3](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(97)00187-3)
- Rocha TLA, Dias-Junior CA, Possomato-Vieira JS, Gonçalves-Rizzi VH, Nogueira FR, de Souza KM, Braz LG, Braz MG (2015) Sevoflurane induces DNA damage whereas isoflurane leads to higher antioxidative status in anesthetized rats. *Biomed Res Int* 2015: 264971. <https://doi.org/10.1155/2015/264971>
- Rozgaj R, Kašuba V, Brozović G, Jazbec A (2009) Genotoxic effects of anaesthetics in operating theatre personnel evaluated by the comet assay and micronucleus test. *Int J Environ Hyg Environ Health* 212(1): 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2007.09.001>

- Saber AT, Hougaard KS (2009) 141. Isoflurane, sevoflurane and desflurane. Arbete och Hälsa. The Nordic Expert Group for Criteria Documentation of Health Risks from Chemicals, Hrsg. Gothenburg: Arbets- och miljömedicin, Göteborgs universitet. https://gupea.ub.gu.se/bitstream/2077/21413/1/gupea_2077_21413_1.pdf, abgerufen am 04 Jun 2021
- Sachana M, Rolaki A, Bal-Price A (2018) Development of the Adverse Outcome Pathway (AOP): Chronic binding of antagonist to N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) during brain development induces impairment of learning and memory abilities of children. *Toxicol Appl Pharmacol* 354: 153–175. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.02.024>
- Şardaş S, Karabiyik L, Aygün N, Karakaya AE (1998) DNA damage evaluated by the alkaline comet assay in lymphocytes of humans anaesthetized with isoflurane. *Mutat Res* 418(1): 1–6. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(98\)00099-0](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(98)00099-0)
- Semple BD, Blomgren K, Gimlin K, Ferriero DM, Noble-Haesslein LJ (2013) Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Prog Neurobiol* 106–107: 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.04.001>
- Seubert CN, Zhu W, Pavlinec C, Gravenstein N, Martynyuk AE (2013) Developmental effects of neonatal isoflurane and sevoflurane exposure in rats. *Anesthesiology* 119(2): 358–364. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318291c04e>
- Sha H-Y, Zhao J-B, Sha M-X, Guo S-M (2017) Effects of vitamin B12 on postoperative cognitive dysfunction induced by isoflurane anesthesia in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 21(8): 1959–1966
- Slegers-Karsmakers S, Stricker BHC (1988) Anaphylactic reaction to isoflurane. *Anaesthesia* 43(6): 506–507. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.1988.tb06644.x>
- Smith G, Shirley AW (1977) Failure to demonstrate effect of trace concentrations of nitrous oxide and halothane on psychomotor performance. *Br J Anaesth* 49(1): 65–70. <https://doi.org/10.1093/bja/49.1.65>
- Souza KM, Braz LG, Nogueira FR, Souza MB, Bincoletto LF, Aun AG, Corrente JE, Carvalho LR, Braz JRC, Braz MG (2016) Occupational exposure to anesthetics leads to genomic instability, cytotoxicity and proliferative changes. *Mutat Res* 791–792: 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2016.09.002>
- de Souza Hobaika AB, Fernandes ML, Caçado CL, Pereira MLS, Pires KCC (2007) Instabilidade hemodinâmica grave durante o uso de isoflurano em paciente portador de escoliose idiopática: relato de caso [Severe hemodynamic instability during the use of isoflurane in a patient with idiopathic scoliosis: case report]. *Rev Bras Anestesiol* 57(2): 177–181. <https://doi.org/10.1590/s0034-70942007000200006>
- Szyfter K, Szulc R, Mikstacki A, Stachecki I, Rydzanicz M, Jałoszyński P (2004) Genotoxicity of inhalation anaesthetics: DNA lesions generated by sevoflurane in vitro and in vivo. *J Appl Genet* 45(3): 369–374
- Szyfter K, Stachecki I, Kostrzevska-Poczekaj M, Szaumkessel M, Szyfter-Harris J, Sobczyński P (2016) Exposure to volatile anaesthetics is not followed by a massive induction of single-strand DNA breaks in operation theatre personnel. *J Appl Genet* 57(3): 343–348. <https://doi.org/10.1007/s13353-015-0329-y>
- Tang X-N, Yao W, Yao H-X, Zhang Y, Yue J (2020) Influence of isoflurane exposure for 15 consecutive days on ovarian function in adult female mice. *Curr Med Sci* 40(6): 1177–1181. <https://doi.org/10.1007/s11596-020-2300-3>
- Tao G, Xue Q, Luo Y, Li G, Xia Y, Yu B (2016) Isoflurane is more deleterious to developing brain than desflurane: the role of the Akt/GSK3 β signaling pathway. *Biomed Res Int* 2016: 7919640. <https://doi.org/10.1155/2016/7919640>
- Trudnowski RJ, Mehta MP, Rucinski M (1987) Evaluation of the mutagenic potential of enflurane and isoflurane by sister chromatid exchange. *J Med* 18(1): 55–60
- Turner GB, O'Rourke D, Scott GO, Beringer TRO (2000) Fatal hepatotoxicity after re-exposure to isoflurane: a case report and review of the literature. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 12(8): 955–959. <https://doi.org/10.1097/00042737-200012080-00017>
- Vellore AD, Drought VJ, Sherwood-Jones D, Tunnicliffe B, Moore VC, Robertson AS, Burge PS (2006) Occupational asthma and allergy to sevoflurane and isoflurane in anaesthetic staff. *Allergy* 61(12): 1485–1486. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01215.x>
- Vouriot A, Gauchard GC, Chau N, Nadif R, Mur J-M, Perrin PP (2005) Chronic exposure to anesthetic gases affects balance control in operating room personnel. *Neurotoxicology* 26(2): 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2004.11.002>
- Wang L-J, Wang X-H, Sun H-J, Xu B (2008) Effects of inhalation anaesthetics on human sperm motility and vitality in vitro. *Br J Anaesth* 101(6): 883–884. <https://doi.org/10.1093/bja/aen307>
- Waskell L (1978) A study of the mutagenicity of anesthetics and their metabolites. *Mutat Res* 57(2): 141–153. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(78\)90261-0](https://doi.org/10.1016/0027-5107(78)90261-0)
- White AE, Takehisa S, Eger EI II, Wolff S, Stevens WC (1979) Sister chromatid exchanges induced by inhaled anesthetics. *Anesthesiology* 50(5): 426–430. <https://doi.org/10.1097/00000542-197905000-00010>
- Wiesner G, Hoerauf K, Schroegendorfer K, Sobczynski P, Harth M, Ruediger HW (2001) High-level, but not low-level, occupational exposure to inhaled anesthetics is associated with genotoxicity in the micronucleus assay. *Anesth Analg* 92(1): 118–122. <https://doi.org/10.1097/00000539-200101000-00023>
- Wiesner G, Schrögendorfer K, Hörauf K, Sobczynski P, Harth M, Taeger K, Rüdiger HW (2002) Eine hohe Arbeitsplatzbelastung mit Inhalationsanästhetika ist mit einer vermehrten Bildung von Schwesterchromatidaustauschen assoziiert – Eine Untersuchung zur Genotoxizität von Inhalationsanästhetika. *Anesthesiol Intensivmed* 43: 16–20

- Wrońska-Nofer T, Palus J, Krajewski W, Jajte J, Kucharska M, Stetkiewicz J, Wąsowicz W, Rydzyński K (2009) DNA damage induced by nitrous oxide: Study in medical personnel of operating rooms. *Mutat Res* 666(1–2): 39–43. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.03.012>
- Xu X-L, Pan C, Hu J-X, Liu X-T, Li Y-F, Wang H, Chen Y-B, Dong H-Y, Dai T-J, Xu L-C (2012) Effects of isoflurane inhalation on the male reproductive system in rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 34(3): 688–693. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.09.020>
- Yang B, Liang G, Khojasteh S, Wu Z, Yang W, Joseph D, Wei H (2014) Comparison of neurodegeneration and cognitive impairment in neonatal mice exposed to propofol or isoflurane. *PLoS ONE* 9(6): e99171. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099171>
- Zhang S, Hu X, Guan W, Luan L, Li B, Tang Q, Fan H (2017) Isoflurane anesthesia promotes cognitive impairment by inducing expression of β -amyloid protein-related factors in the hippocampus of aged rats. *PLoS ONE* 12(4): e0175654. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175654>
- Zhu C, Gao J, Karlsson N, Li Q, Zhang Y, Huang Z, Li H, Kuhn HG, Blomgren K (2010) Isoflurane anesthesia induced persistent, progressive memory impairment, caused a loss of neural stem cells, and reduced neurogenesis in young, but not adult, rodents. *J Cereb Blood Flow Metab* 30(5): 1017–1030. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.274>
- Zou X, Liu F, Zhang X, Patterson TA, Callicott R, Liu S, Hanig JP, Paule MG, Slikker WJ Jr, Wang C (2011) Inhalation anesthetic-induced neuronal damage in the developing rhesus monkey. *Neurotoxicol Teratol* 33(5): 592–597. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2011.06.003>