**INGE BAUER, LEONIE HALVERSCHEID und
BENEDIKT PANNEN**

Hepatoprotektive Wirkungen des Hämoxygenase-Stoffwechsels: Der Einfluss von Anästhetika

Einleitung

Eine passagere Ischämie der Leber zum Beispiel im Rahmen der Transplantationschirurgie, einer Leberresektion („Pringle-Manöver“), bei Trauma oder bei hämorrhagischem Schock ist ein häufiges klinisches Ereignis, das zu schwerwiegenden Beeinträchtigungen der hepatozellulären Integrität führen kann. Die konsekutive Entwicklung eines akuten Leberversagens ist mit einer hohen Letalität vergesellschaftet. Neben einer direkten ischämischen Schädigung beruht diese Form des Leberversagens auf der Auslösung einer lokalen Entzündungsreaktion, einer gesteigerten Bildung freier Sauerstoffradikale und Störungen der Organdurchblutung während der Reperfusion. Tierexperimentelle Untersuchungen konnten zeigen, dass dem Hämoxygenase-Stoffwechsel (HO-Stoffwechsel) in der Leber unter einer Vielzahl von Stressbedingungen protektive Eigenschaften zukommen. Die Isoenzyme der Hämoxygenase katalysieren den Abbau von Häm zu Biliverdin, Kohlenmonoxid und freiem Eisen. Die protektiven Wirkungen der Induktion der Hämoxygenaseaktivität beruhen auf entzündungshemmenden, antioxidativen und durchblutungsfördernden Wirkungen der Produkte des Hämoxygenase-Stoffwechsels. Die gezielte pharmakologische Induktion der Hämoxygenaseaktivität durch Substanzen wie Kobalt-Protoporphyrin, Häm oder Dobutamin verbessert im Tierexperiment die Leberfunktion zum Beispiel bei Ischämie und Reperfusion und führt zu reduzierter Abstoßung von Transplantatlebern. Auch die Applikation von volatilen Anästhetika führt im Tierexperiment zu einer gezielten Steigerung der Aktivität von HO-1, der induzierbaren Isoform der Hämoxygenase, in der Leber. Diese geht mit einer Verbesserung der mikro- und makrovaskulären Hämodynamik in der Leber einher und zeigt eine signifikante Reduktion eines provozierten Ischämie-Reperfusionsschadens auf.

Somit könnte eine gezielte Induktion der Hämoxygenase-1, dem Schlüsselenzym der oxidativen Stressantwort, durch den Einsatz volatiler Anästhetika eine neue, effektive therapeutische Strategie zum Schutz gegen hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden darstellen.

Der Hämoxygenase-Stoffwechsel

Das Enzym Hämoxygenase (HO) katalysiert den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt beim Abbau von Häm zu Kohlenmonoxid, Eisen und Bilirubin¹ (Abb. 1). Im menschlichen Körper ist HO ubiquitär vorhanden und intrazellulär überwiegend am endoplasmatischen Retikulum lokalisiert. Derzeit sind drei Isoformen der HO charakterisiert: HO-1, HO-2 und HO-3.²

Abb. 1: Hämoxygenase-Stoffwechsel: Hämoxygenase katalysiert den Abbau von Häm zu Biliverdin, Kohlenmonoxid und das Eisen. Biliverdin wird durch Biliverdinreduktase weiter umgewandelt in Bilirubin.

Die HO-3 wurde bislang nur in der Ratte kloniert, ihre biologische Funktion ist unklar. Die HO-2 wird in einer Vielzahl von Geweben konstitutiv exprimiert, eine hohe Enzymaktivität ist zum Beispiel in den Testes, im zentralen Nervensystem, in der Leber, in den Nieren und im Darm messbar. Obwohl die Promotorregion des HO-2-Gens ein glukokortikoidresponsives Element enthält, konnte eine Regulation der HO-2 bisher lediglich durch Glukokortikoide im Gehirn der neugeborenen Ratte nachgewiesen werden.³ Im Gegensatz zu HO-2 ist die HO-1 stark induzierbar. Eine basale Expression der HO-1 findet sich in Geweben, die Erythrozyten abbauen. Dies sind vorwiegend die Milz, retikuloendotheliale Zellen der Leber und das Knochenmark. In allen anderen Geweben muss die HO-1 induziert und damit neu synthetisiert werden. Die HO-1 ist durch eine Reihe von Bedingungen eines zellulären Stresses induzierbar. Hierzu zählen chemische und physikalische Reize, Hyperoxie, Hypoxie, Ischämie und Reperfusion, Entzündung, chirurgische Maßnahmen und auch Anästhetika.⁴

Die Produkte des Hämoxygenase-Stoffwechselweges wurden lange nur als Abfallprodukte angesehen. In den letzten Jahren wurden jedoch wichtige zytoprotektive Funktionen der Metabolisierung des prooxidativ wirkenden Häms sowie der Reaktionsprodukte beschrieben. Die Induktion der Hämoxygenase-1-Genexpression gilt nach heutiger Vorstellung als ein „Rescue-Mechanismus“, der den Organismus vor schädigenden Einflüssen schützen kann. Eine wichtige Funktion der Hämoxygenase-1 bereits unter physiologischen Bedingungen belegt der Fall eines Kindes mit nachgewiesener HO-1-Defizienz. Der junge Patient wies generalisierte Endothelschäden, Koagulopathien, Eisenablagerungen in Leber und Niere, eine hämolytische Anämie sowie eine Leuko- und Thrombozytose auf und verstarb bereits im Kindesalter.⁵

¹ Vgl. Tenhunen *et al.* (1968).

² Vgl. Cruse und Maines (1988) und McCoubrey *et al.* (1997).

³ Vgl. Maines *et al.* (1996).

⁴ Vgl. Carraway *et al.* (2000), Bauer *et al.* (1998), Hayashi *et al.* (2004), Hoetzel *et al.* (2002), Hoetzel und Geiger (2003), Übersicht in Ryter *et al.* (2006).

⁵ Vgl. Yachie *et al.* (1999).

Biologische Funktion der Produkte des Hämoxigenase-Stoffwechsels

Beim enzymatischen Abbau von Häm durch Hämoxigenase entstehen Kohlenmonoxid, Biliverdin und freies Eisen.

Das in der durch Hämoxigenase katalysierten Reaktion gebildete Biliverdin besitzt antivirale Eigenschaften.⁶ Biliverdin wird durch Aktivität der Biliverdinreduktase weiter zu Bilirubin abgebaut. Bilirubin ist ein starkes Antioxidans und in seiner Wirkung mit dem Vitamin E vergleichbar.⁷ Die antioxidativen Eigenschaften wurden sowohl *in vitro* als auch *in vivo* nachgewiesen.⁸ Exogene Zufuhr von Bilirubin und auch endogen gebildetes Bilirubin schützen vor Ischämie-Reperfusionsschäden der Leber.⁹

Kohlenmonoxid hat ausgeprägte vasoaktive Eigenschaften. Über Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase und Anstieg des zyklischen Guanosinmonophosphats cGMP kann Kohlenmonoxid in der Leber eine sinusoidale Vasodilatation hervorrufen.¹⁰ Dieser cGMP-vermittelte Effekt auf die hepatischen Sternzellen ist bereits unter physiologischen Bedingungen wichtig¹¹ und erhält weitaus größere Bedeutung unter pathologischen Bedingungen.¹² Daneben weist Kohlenmonoxid eine Vielzahl weiterer zytoprotektiver Wirkungen auf. Mit Einsetzen der Reperfusion (Volumentherapie) nach regionaler oder systemischer Minderperfusion werden große Mengen reaktiver Sauerstoffspezies gebildet. Diese können durch Lipidperoxidation zu Membranschädigungen und so zum Zelltod führen. Kohlenmonoxid besitzt antioxidative Eigenschaften und schützt Zellen und Organe vor den schädigenden Wirkungen der reaktiven Sauerstoffradikale.¹³ Weiterhin sind antithrombotische, antiproliferative und antiatherosklerotische Effekte von Kohlenmonoxid beschrieben.¹⁴ Die entzündungshemmende Wirkung kann durch Hemmung der Aktivierung von Monozyten und Makrophagen¹⁵ sowie der Leukozytenadhäsion erklärt werden.¹⁶

Kohlenmonoxid kann außerdem über verschiedene Mechanismen in die Apoptosekaskade eingreifen. Kohlenmonoxid supprimiert die Expression proapoptotischer Proteine und steigert die Expression antiapoptotischer Proteine.¹⁷ Wie bereits für Bilirubin beschrieben, wirkt nicht nur endogen gebildetes Kohlenmonoxid zytoprotektiv, sondern auch exogen durch Inhalation zugeführtes Kohlenmonoxid kann einen Leberschaden signifikant verringern, wie im Modell einer durch die Gabe von proinflammatorischen Substanzen erzeugten systemischen Entzündung gezeigt wurde.¹⁸ Die einzelnen Wirkungen von Kohlenmonoxid sind im Detail in einem aktuellen Übersichtsartikel beschrieben.¹⁹

⁶ Vgl. Nakagami *et al.* (1992).

⁷ Vgl. Stocker *et al.* (1987).

⁸ Vgl. Stocker *et al.* (1987), Llesuy und Tomaro (1994).

⁹ Vgl. Tang *et al.* (2007), Rensing *et al.* (1999).

¹⁰ Vgl. Pannen *et al.* (1998).

¹¹ Vgl. Suematsu *et al.* (1995).

¹² Vgl. Fernandez und Bonkovsky (1999), Pannen und Bauer (1998), Bauer *et al.* (1996).

¹³ Vgl. Otterbein *et al.* (1999).

¹⁴ Vgl. Brüne und Ullrich (1987), Fujita *et al.* (2001) Otterbein *et al.* (2003).

¹⁵ Vgl. Fujimoto *et al.* (2004) und Sarady *et al.* (2002).

¹⁶ Vgl. Morisaki *et al.* (2002).

¹⁷ Vgl. Brouard *et al.* (2000) und Liu *et al.* (2002).

¹⁸ Vgl. Sass *et al.* (2004).

¹⁹ Vgl. Übersicht in Hoetzel und Schmidt (2006).

Eisen kann bereits in geringen Konzentrationen zytotoxische Effekte auslösen, indem es die Entstehung des Hydroxylradikals katalysiert (Haber-Weiss/Fenton-Reaktion). Eisen wird jedoch an das Eisen speichernde Protein Ferritin gebunden und induziert dessen Bildung.²⁰ Erhöhte Ferritin-Expression geht oft mit einer Induktion der HO-1 einher. In einem Modell der Sauerstoffstress-induzierten Zytotoxizität waren die beobachtete Induktion von HO-1 und die Zytoprotektion ferritinabhängig.²¹ Ferritin wirkt zudem antiinflammatorisch²² und antiapoptotisch.²³

Expressionsmuster der Hämoxigenase und Bedeutung für die Leber

Die Leber spielt eine wichtige Rolle bei der Aufnahme geschädigter Erythrozyten und freien Hämoglobins aus dem Blutkreislauf. Dabei kommen Hepatozyten und nicht-parenchymatösen Zellen unterschiedliche Funktionen zu.²⁴ Diese unterschiedlichen Funktionen spiegeln sich in einem unterschiedlichen Expressionsmuster der HO-Isoenzyme in den einzelnen Zelltypen in der gesunden Leber wider.²⁵ Die hohe HO-Aktivität in Hepatozyten ist ausschließlich dem Isoenzym HO-2 zuzuordnen, Hepatozyten exprimieren unter physiologischen Bedingungen keine HO-1. Dagegen findet sich eine funktionelle Expression der HO-1 in den Kupfferzellen, den ortsständigen Makrophagen der Leber. Diese basale Expression der HO-1 scheint für die physiologische Eisenwiederverwendung notwendig zu sein, da eine gezielte isolierte Zerstörung des HO-1-Gens in einer Anämie resultiert mit ungewöhnlich niedrigen Serumeisenspiegeln. Dies kann durch ein funktionelles HO-2-Gen nicht kompensiert werden.²⁶

Diese zelltypspezifischen Verteilungsmuster der HO-Isoenzyme in der Leber scheinen für die Wirkungen von Kohlenmonoxid von entscheidender funktioneller Bedeutung zu sein. So kann Kohlenmonoxid, das in Hepatozyten beim Hämabbau gebildet wird, leicht hepatische Sternzellen erreichen, die auf der abluminalen Seite der Endothelzellschicht im Disse-Raum lokalisiert sind.²⁷ In dieser Weise könnte eine parakrine Steuerung des sinusoidalen Blutflusses erfolgen.²⁸ Außerdem könnte die Produktion von Kohlenmonoxid in hepatischen Sternzellen auch autokrine Wirkungen entfalten.²⁹ Allerdings könnte Kohlenmonoxid, das zum Beispiel aus Kupfferzellen freigesetzt wird, durch reichlich vorhandenes Hämoglobin abgefangen werden.³⁰ Vereinbar mit diesem Konzept ist der Druck steigernde Effekt von kompetitiven Hemmstoffen der HO-Aktivität verglichen mit *In-vivo*-Präparationen deutlich stärker ausgeprägt in der isoliert perfundierten Leber in Abwesenheit von Erythrozyten.³¹

²⁰ Vgl. Eisenstein und Blemings (1998).

²¹ Vgl. Balla *et al.* (1992).

²² Vgl. Soares *et al.* (2004).

²³ Vgl. Brouard *et al.* (2002).

²⁴ Vgl. Bissell *et al.* (1972).

²⁵ Vgl. Goda *et al.* (1998), Bauer *et al.* (1998).

²⁶ Vgl. Poss und Tnegawa (1997).

²⁷ Vgl. Wake (1980).

²⁸ Vgl. Goda *et al.* (1998).

²⁹ Vgl. Suematsu *et al.* (1995).

³⁰ Vgl. Goda *et al.* (1998).

³¹ Vgl. Bauer *et al.* (1996), Suematsu *et al.* (1995).

Ischämie-Reperfusionsschaden der Leber

Die Entwicklung einer Leberschädigung nach Ischämie und Reperfusion (IR) ist von erheblicher klinischer Relevanz. Eine solche Schädigung tritt unter anderem nach Transplantationen, Schockzuständen und leberchirurgischen Eingriffen auf. Um diese Eingriffe durchführen zu können, ist es häufig erforderlich, die Blutzufuhr zu bestimmten Leberlappen (lobäre Ischämie) beziehungsweise zur gesamten Leber (totale Ischämie; „Pringle-Manöver“) vorübergehend vollständig zu unterbrechen.³² Dadurch wird es vielfach erst möglich, traumatische Leber rupturen operativ zu versorgen beziehungsweise den Blutverlust während der Resektion von Lebertumoren zu reduzieren.³³ Der dadurch ausgelöste Reperfusionsschaden und die Beeinträchtigungen der hepatozellulären Integrität können konsekutiv zu einem akuten Leberversagen führen, das mit einer hohen Letalität assoziiert ist.³⁴ Die durch IR ausgelöste hepatische Organschädigung ist außerdem für ca. zehn Prozent der Leberversagen in der frühen Phase nach Transplantationen verantwortlich und geht mit einer gesteigerten Inzidenz an akuten und chronischen Abstoßungsreaktionen einher.³⁵

Der Ischämie-Reperfusionsschaden der Leber beruht nicht nur auf der direkten Schädigung während der Ischämie, sondern vor allem auf Vorgängen während der Reperfusion.³⁶ Diese sind charakterisiert durch eine Aktivierung von Kupfferzellen, die zu einer lokalen Entzündungsreaktion führt, indem unter anderem proinflammatorische Zytokine und freie Sauerstoffradikale gebildet werden.³⁷ Der dadurch ausgelöste oxidative Stress schädigt in der Folge sowohl parenchymatöse als auch nicht-parenchymatöse Zellen.

Als weitere Konsequenz des intravaskulären Stresses manifestieren sich schwerwiegende mikrovaskuläre Durchblutungsstörungen, die für das Ausmaß der Leberzellschädigung von entscheidender Bedeutung sind.³⁸

Da diese Leberzellschädigung zu einem Leberversagen führen kann, das mit einer hohen Letalität vergesellschaftet ist, sind wir auf der Suche nach effizienten und sicheren Maßnahmen, um die Leber vor einer solchen Schädigung zu schützen.

Bedeutung des Hämoxygenase-Stoffwechsels für den Ischämie-Reperfusionsschaden der Leber

In einem Modell des hämorrhagischen Schocks mit Volumentherapie an der Ratte konnten wir zeigen, dass endogenes Kohlenmonoxid die sinusoidale Perfusion aufrechterhält.³⁹ Weiterhin konnten wir zeigen, dass durch hämorrhagischen Schock mit Volumentherapie HO-1 neu in Hepatozyten synthetisiert wird⁴⁰ und diese induzierte HO-1-Aktivität entscheidend zum Schutz gegen den hepatozytären Schaden beiträgt.⁴¹ Auch bei der Le-

³² Vgl. Pringle (1908).

³³ Vgl. Nagao *et al.* (1987).

³⁴ Vgl. Maynard *et al.* (1997), Henrion (2000).

³⁵ Vgl. Howard *et al.* (1990), Fellstrom *et al.* (1998).

³⁶ Vgl. Jaeschke (2003).

³⁷ Vgl. Colletti *et al.* (1990), Jaeschke und Farhood (1991).

³⁸ Vgl. Chun *et al.* (1994), Pannen (2002).

³⁹ Vgl. Pannen *et al.* (1998).

⁴⁰ Vgl. Bauer *et al.* (1998).

⁴¹ Vgl. Rensing *et al.* (1999).

bertransplantation, die ebenfalls mit einer Ischämie und Reperfusion vergesellschaftet ist, konnte ein protektiver Effekt einer Induktion der Hämoxxygenase-1 gezeigt werden. Dies wurde sowohl in tierexperimentellen Studien⁴² als auch für die humane Leber⁴³ beschrieben.

Neben protektiven Effekten der Induktion von HO-1 bei Ereignissen, die mit einer Ischämie und Reperfusion einhergehen, wurden hepatoprotektive Effekte auch bei einer Reihe anderer experimenteller Modelle der Leberschädigung gezeigt: Lipopolysaccharid,⁴⁴ Acetaminophen,⁴⁵ Leberschädigung nach bilateraler Extremitätenischämie⁴⁶ sowie Hypoxie.⁴⁷ Eine aktuelle Übersicht über die hepatoprotektiven Effekte von HO-1 geben Farombi und Surh.⁴⁸

In den letzten Jahren haben sich aus Untersuchungen der eigenen und anderer Arbeitsgruppen zahlreiche Hinweise darauf ergeben, dass sowohl die Präinduktion der HO-1 als auch die Administration von HO-Stoffwechselprodukten nach Ischämie und Reperfusion hepatoprotektive Wirkungen vermittelt. Diese Effekte beruhen neben den antiinflammatorischen und antioxidativen Eigenschaften vor allem auf der durchblutungsfördernden Wirkung von Kohlenmonoxid.⁴⁹

Da HO-1 durch eine Reihe unterschiedlicher zellulärer Stimuli als ein protektiver Mechanismus induziert wird, könnte eine gezielte Induktion dieses wichtigen Enzyms der Stressantwort eine neue, effektive therapeutische Strategie zum Schutz gegen inflammatorische Prozesse und gegen Sauerstoffstress-induzierte Zellschädigung sein. Da inflammatorische Prozesse und die oxidative Stressantwort eine wichtige Rolle bei der Entwicklung eines hepatischen Ischämie-Reperfusionsschadens spielen, könnte dieser Mechanismus der gezielten HO-1-Induktion auch erfolgreich als Schutzmaßnahme vor dieser Schädigung in der Klinik eingesetzt werden.

Die Entwicklung dieser therapeutischen Strategien, die einen protektiven Effekt der HO-1-Induktion nutzen, ist allerdings gebremst durch die Tatsache, dass fast alle pharmakologischen Maßnahmen zur HO-1-Induktion selbst zu einer Störung der Organfunktion führen. Eine weitere Möglichkeit, die HO-1-Enzymaktivität zu induzieren, bietet die Gentherapie, aber auch diese ist mit einer Reihe unerwünschter Nebenwirkungen vergesellschaftet. So ist die klinische Anwendung der bisher beschriebenen Maßnahmen zur HO-1-Induktion zurzeit nicht möglich. Dies bedeutet, dass eine Reihe von Substanzen, die zur Induktion von HO-1 eingesetzt wurden, in (tier-)experimentellen Untersuchungen in den letzten Jahren zwar vielversprechende Ergebnisse lieferte, diese allerdings aufgrund ihrer Toxizität oder unerwünschter oder unbekannter Nebenwirkungen nicht für die Anwendung bei Patienten geeignet sind.

Das volatile Anästhetikum Isofluran führt zu einer Expression von HO-1 in der normalen, gesunden Rattenleber.⁵⁰ Diese Expression verbessert den hepatischen makro- und

⁴² Vgl. Wang *et al.* (2004).

⁴³ Vgl. Geuken *et al.* (2005).

⁴⁴ Vgl. Kyokane *et al.* (2001), Dorman *et al.* (2004).

⁴⁵ Vgl. Bauer *et al.* (2000).

⁴⁶ Vgl. Wunder *et al.* (2002).

⁴⁷ Vgl. Tüzüner *et al.* (2004).

⁴⁸ Vgl. Übersicht in Farombi und Surh (2006).

⁴⁹ Vgl. Pannen *et al.* (1998), Kubulus *et al.* (2005).

⁵⁰ Vgl. Hoetzel *et al.* (2002).

mikrovaskulären Blutfluss bereits unter physiologischen Bedingungen *in vivo*.⁵¹ Isofluran wird in der täglichen klinischen Routine zur Einleitung und Aufrechterhaltung einer Allgemeinanästhesie eingesetzt. Da bisher kein effektiver, sicherer Ansatz zur Prävention oder Verminderung eines hepatischen Ischämie-Reperfusionsschadens im klinischen Alltag entwickelt wurde, ist es von großem Interesse, eine geeignete Substanz zu finden, die zu einer gezielten, spezifischen Induktion von HO-1 führt, die nicht toxisch und klinisch erprobt ist und vor einem Organschaden schützt.

Im Folgenden werden Eigenschaften volatiler Anästhetika und ihr möglicher Einsatz als Induktoren des zytoprotektiven Enzyms HO-1 und damit ihr Einsatz als hepatoprotektive Substanzen im Rahmen eines hepatischen Ischämie-Reperfusionseignisses näher beschrieben.

Volatile Anästhetika

Volatile Anästhetika sind halogenierte Substanzen, die eine reversible Bewusstlosigkeit, Analgesie und Muskelrelaxation bewirken. Die exakten Wirkmechanismen sind weitgehend unbekannt.

Halothan, das erste Inhalationsanästhetikum, das klinisch eingesetzt wurde, wurde mittlerweile aufgrund seiner toxischen Nebenwirkungen und seiner ungünstigen Pharmakokinetik von neueren Substanzen wie Isofluran, Desfluran und Sevofluran verdrängt.

Halogenierte Inhalationsanästhetika werden nach Beendigung der Narkose zum größten Teil in unveränderter Form wieder abgeatmet. Die Substanzen selbst sind nicht toxisch. Allerdings entstehen im Rahmen der Biotransformation auch reaktive, organotoxische Metaboliten. Trifluoressigsäure oder andere Produkte, die im Rahmen der Biotransformation entstehen, werden mit einer Hepato- beziehungsweise Nephrotoxizität assoziiert. So kann die Anwendung von Halothan zu einer schweren Leberschädigung einschließlich einer schweren Hepatitis führen. Der metabolisierte Anteil der volatilen Anästhetika ist je nach Substanz sehr unterschiedlich.

Die Metabolisierungsrate von Isofluran liegt deutlich unter einem Prozent, daher fallen nur sehr geringe Mengen Trifluoressigsäure an. Isofluran wird daher als weniger hepatotoxisch angesehen.

Eine aktuelle Übersicht über die Eigenschaften volatiler Anästhetika geben Loscar und Conzen.⁵²

Die Entdeckung kardioprotektiver Effekte durch Vorbehandlung mit volatilen Anästhetika, ein Phänomen, das als „Präkonditionierung“ bezeichnet wird, führte dazu, dass volatile Anästhetika in den Mittelpunkt sowohl der experimentellen als auch der klinischen Forschung rückten. So konnte gezeigt werden, dass eine Präkonditionierung mit volatilen Anästhetika den Reperfusionsschaden nach einer Myokardischämie effizient reduzieren kann.⁵³

In unseren Untersuchungen konzentrieren wir uns auf die Leber.

⁵¹ Vgl. Schmidt *et al.* (2004).

⁵² Vgl. Übersicht in Loscar und Conzen (2004).

⁵³ Vgl. Übersicht in Preckel *et al.* (2002).

Volatile Anästhetika wie Isofluran werden bei großen Leberoperationen wie Lebertransplantationen eingesetzt, die auch mit einer ischämischen Leberschädigung vergesellschaftet sind.⁵⁴

Im Folgenden werden die Wirkungen volatiler Anästhetika, insbesondere von Isofluran, auf die Leberintegrität nach Ischämie und Reperfusion sowie die Rolle des protektiven Enzymsystems HO-1 näher erläutert.

Differenzielle hepatozelluläre HO-1-Induktion durch volatile Anästhetika und funktionelle Bedeutung

Unter hypoxischen Bedingungen wird Halothan zu einem freien Radikal metabolisiert, das über eine Lipidperoxidation zu einem Leberschaden führt. Dabei erfolgt ebenfalls eine Induktion der HO-1-Genexpression in der Leber. Diese HO-1-Induktion geht mit einem gleichzeitigen Anstieg der Serum-ALT-Aktivität einher. Eine Vorbehandlung mit Häm führt zu einer hepatischen HO-1-Induktion, die die Halothan-induzierte Hepatotoxizität unter hypoxischen Bedingungen verhindert.⁵⁵ Im Gegensatz zu Halothan führt Isofluran unter hypoxischen Bedingungen nicht zu einer HO-1-Induktion in der Leber.⁵⁶

Im Gegensatz zu den beschriebenen Untersuchungen der hepatischen HO-1-Genexpression unter hypoxischen Bedingungen führten wir eine Reihe von Untersuchungen unter normoxischen Bedingungen durch. Wir untersuchten den Einfluss verschiedener volatiler Anästhetika auf die Regulation der HO-1 in der Leber.

Dazu wurden Versuchstieren verschiedene derzeit im klinischen Gebrauch befindliche Narkosegase (Isofluran, Desfluran oder Sevofluran) *per inhalationem* verabreicht. Unter äquivalenten Dosierungen zeigen sowohl Isofluran als auch Sevofluran, nicht jedoch Desfluran, eine starke Induktion von HO-1 im Lebergewebe auf transkriptioneller Ebene.⁵⁷

Somit sind volatile Anästhetika als Induktoren der HO-1 in der Leber unter normoxischen Bedingungen identifiziert und charakterisiert.

Isofluran führt unter normoxischen Bedingungen zu einer Induktion der HO-1-Genexpression, es erfolgt eine spezifische Überexprimierung von HO-1-mRNA und -Protein in der Leber, und zwar überwiegend in Hepatozyten in der Perizentralregion mit einem nachfolgenden Anstieg der HO-Aktivität bei Isofluran-behandelten Ratten (Abb. 2).⁵⁸

Diese Induktion der HO-1 durch volatile Anästhetika ist auch von funktioneller Relevanz, und zwar bereits unter physiologischen Bedingungen. Dieser Effekt wird möglicherweise über die vasodilatierenden Eigenschaften des HO-Stoffwechselprodukts Kohlenmonoxid vermittelt. So reduziert die Expression der HO-1 nach Isofluranexposition den portalen Strömungswiderstand in der normalen Leber unter physiologischen Bedingungen. Dieser Effekt wird durch Blockade der HO-Aktivität mit Zinn-Protoporphyrin-IX vollständig aufgehoben. Die Blockade des HO-Stoffwechsels ist mit einem Anstieg des Pfortaderdrucks und einer Abnahme des Pfortaderflusses vergesellschaftet. Weiterhin ist eine Reduktion des mikrovaskulären Blutflusses nach HO-Blockade zu beobachten.

⁵⁴ Vgl. Chapin *et al.* (1989).

⁵⁵ Vgl. Odaka *et al.* (2000).

⁵⁶ Vgl. Yamasaki *et al.* (2001).

⁵⁷ Vgl. Hoetzel *et al.* (2002).

⁵⁸ Vgl. Hoetzel *et al.* (2006).

Abb. 2: Zeitlicher Verlauf und zelltypspezifische Expressionsmuster von HO-1 nach Anästhesie mit Pentobarbital (Pento) oder Isofluran (Iso) in der Leber: (A und E) mRNA, (B) Protein, (C und D) Immunhistochemie, (F) Enzymaktivität; * $p < 0,05$ vs. Pentobarbital; # $p < 0,05$ vs. Isofluran 3h (E) oder 6h (F); aus: Hoetzel *et al.* (2006); mit freundlicher Genehmigung von Lippincott, Williams & Wilkins.

Interessanterweise ist der hier charakterisierte Effekt auf das portalvenöse Stromgebiet beschränkt. Weder im arteriellen Stromgebiet der Leber noch systemisch können Veränderungen der Hämodynamik durch die Isofluran-induzierte HO-1-Expression nachgewiesen werden.⁵⁹

Diese Daten legen nahe, dass die erhöhte HO-1-Aktivität nach Behandlung mit Isofluran zu einer Verbesserung der Leberdurchblutung auf makro- und mikrovaskulärer Ebene führt, die vermutlich durch ein erhöhtes Angebot an vasodilativ wirkendem Kohlenmonoxid vermittelt wird.

Da die beschriebenen Effekte nicht zu Veränderungen der systemischen Hämodynamik führen, resultiert daraus potenziell eine neue Möglichkeit zur spezifischen pharmakologischen Modulation des Blutflusses im portalen Stromgebiet der Leber.

Diese Ergebnisse könnten im Hinblick auf pathologische Zustände, wie Ischämie- und Reperfusionsergebnisse, bei denen es zur Störung der Zirkulation im Sinne einer Widerstandserhöhung vor allem im portalvenösen Stromgebiet kommt, von größter Bedeutung sein. Es stellt sich also die Frage nach der funktionellen Relevanz der Isofluran-vermittelten HO-1-Induktion für die Durchblutung und Integrität dieses Organs unter pathologischen Bedingungen.

Diese wurde von uns untersucht: Eine Vorbehandlung mittels Isofluran führt zur hepatischen HO-1-Induktion. Dadurch wird der durch eine lobäre hepatische Ischämie und Reperfusion hervorgerufene Leberzellschaden erheblich reduziert. Dies zeigt sich an verminderten Plasmaspiegeln der Enzyme ALT, AST und alpha-GST sowie am Rückgang von histopathologischen Zeichen des Leberschadens (perizentrale Nekrosen, Einwanderung von Entzündungszellen, sinusoidaler Blutstau) (Abb. 3).⁶⁰ Die Tatsache, dass eine Blockade des HO-Stoffwechsels mit dem falschen Substrat SnPP-IX den protektiven Effekt aufhebt, belegt die wichtige protektive Funktion des Enzymsystems. In diesem Zusammenhang spielt das Expressionsmuster des HO-1-Proteins nach Vorbehandlung mit Isofluran vermutlich eine entscheidende Rolle. Die HO-1 wird unter physiologischen Bedingungen ausschließlich in den ortsständigen Makrophagen der Leber, den so genannten Kupfferzellen, exprimiert. Die Vorbehandlung mit Isofluran führt vorwiegend in perizentralen Hepatozyten zur *De-novo*-Expression der HO-1 (Abb. 2D). Es handelt sich um die Hepatozyten, die im Rahmen der Sequenz von Ischämie und Reperfusion in besonderem Maße vom Zelluntergang durch Nekrose oder Apoptose bedroht sind. Es wäre somit denkbar, dass für die protektive Wirkung der HO-1-Induktion auch ein direkter, perfusionsunabhängiger lokaler Effekt verantwortlich ist. Wie bereits unter physiologischen Bedingungen gezeigt, führt die Isofluran-vermittelte HO-1-Induktion zu einer signifikanten Verbesserung der mikrovaskulären Leberdurchblutung in der frühen Reperusionsphase. Der hepatische Gehalt an Malondialdehyd, einem Produkt der Lipidperoxidation als Maß für den vor allem in der Reperfusion generierten oxidativen Stress, kann durch die Isofluran-induzierte HO-1-Induktion ebenfalls reduziert werden.⁶¹

Diese Befunde deuten darauf hin, dass die Induktion der hepatischen HO-1 durch das klinisch gebräuchliche und nicht-toxische volatile Anästhetikum Isofluran einen organprotektiven Effekt nach lobärer hepatischer Ischämie und Reperfusion vermittelt. Dies könnte

⁵⁹ Vgl. Schmidt *et al.* (2004).

⁶⁰ Vgl. Schmidt *et al.* (2007).

⁶¹ Vgl. Schmidt *et al.* (2007).

Abb. 3: Protektiver Effekt der Isofluran-vermittelten HO-1-Induktion auf den Leberschaden nach Ischämie und Reperfusion: (A) Plasmaspiegel von Glutathion-S-transferase (alpha-GST), Aspartat-Aminotransferase (AST) und Alanin-Aminotransferase (ALT). n=8 Tiere/Gruppe. * $P < 0,05$ vs. Pentobarbital (PEN)/vehicle; † $P < 0,05$ vs. Isofluran (ISO)/vehicle. (B) Die histopathologische Untersuchung zeigt große nekrotische Areale überwiegend in der perivenulären Zone und sinusoidale Kongestion nach Ischämie und Reperfusion in der Pentobarbitalgruppe. Vorbehandlung mit Isofluran schützt vor diesen Veränderungen. Blockade der HO-Aktivität durch SnPP verschlimmerte den Leberschaden; aus: Schmidt *et al.* (2007); mit freundlicher Genehmigung von Lippincott, Williams & Wilkins

vor allem im Hinblick auf einen möglichen klinischen Einsatz im Sinne einer gezielten HO-1-Präinduktion vor einem schädigenden Ereignis hohe Relevanz erlangen.

Mechanismen der hepatozytären HO-1-Induktion durch Isofluran

Im Folgenden sollen die molekularen Mechanismen der beobachteten HO-1-Induktion in der Leber durch Isofluran beschrieben werden.

Eine Reihe potenzieller Mechanismen oder Mediatoren der HO-1-Induktion durch volatile Anästhetika wären denkbar und wurden untersucht:

Da HO-1 zur Familie der Hitzeschockproteine gehört und daher auch als HSP32 bezeichnet wird, ist eine Induktion im Rahmen einer Hitzeschockantwort wahrscheinlich. Unklar ist allerdings, ob die Applikation von Isofluran eine Hitzeschockantwort, also eine generelle Stressantwort, auslöst. Die Applikation von Isofluran führt zur Induktion von HO-1, nicht jedoch zur Induktion von Hitzeschockprotein 70, dem wichtigsten Vertreter der Hitzeschockproteine, so dass die Isofluran-vermittelte HO-1-Induktion spezifisch ist und unabhängig von einer generellen Stressantwort wie der Hitzeschockantwort.⁶²

Betrachtet man die zelltypspezifischen Expressionsmuster der HO-1 in der Leber, so ergibt sich folgendes Bild: Unter Kontrollbedingungen beschränkt sich die HO-1-Expression auf die Kupfferzellen, die Makrophagen der Leber. Die Applikation von Isofluran führt zu einer präferenziellen Induktion der HO-1 in periportalen Hepatozyten. Das Ausmaß der konstitutiven HO-1-Expression in Kupfferzellen bleibt hingegen unverändert (Abb. 2).⁶³ Die gezielte Induktion von HO-1 in Hepatozyten könnte entweder durch eine direkte Wirkung von Isofluran auf Hepatozyten zustande kommen oder durch eine Beteiligung anderer (Leber-)Zellen an der Vermittlung dieser Reaktion *in vivo*.

Den Kupfferzellen kommt eine zentrale Bedeutung bei der Regulation der hepatozytären Genexpression zu. Ein „Ausschalten“ der Kupfferzellen kann daher wertvolle Hinweise auf ihren Beitrag an der HO-1-Expression liefern. So hemmt die Blockade der Kupfferzellfunktion mit Dexamethason oder Gadoliniumchlorid die Isofluran-vermittelte HO-1-Induktion.⁶⁴ Die Kupfferzellen spielen also für die Regulation der HO-1-Induktion durch volatile Anästhetika eine essenzielle Rolle. Daraufhin stellt sich die Frage, welche Mediatoren der Kupfferzellen diesen Effekt vermitteln.

Wichtige Mediatoren, die durch Kupfferzellen gebildet werden, sind Stickstoffmonoxid (NO) und Sauerstoffradikale (ROS). Von beiden Mediatoren wurde gezeigt, dass sie Induktoren der HO-1 sind.

Die pharmakologische Hemmung der Produktion von Stickstoffmonoxid hat keinen Effekt auf die durch Isofluran induzierte HO-1-Expression. Somit scheint eine Beteiligung von Stickstoffmonoxid an der Isofluran-induzierten HO-1-Genexpression ausgeschlossen.⁶⁵

Durch die Gabe von Antioxidanzien kann ein möglicher Einfluss von reaktiven Sauerstoffspezies auf die HO-1-Induktion durch Isofluran untersucht werden. Appliziert man den Versuchstieren unterschiedliche Antioxidanzien, erfolgt ebenfalls keine Modulation

⁶² Vgl. Hoetzel *et al.* (2002), Schmidt *et al.* (2004).

⁶³ Vgl. Hoetzel *et al.* (2006).

⁶⁴ Vgl. Hoetzel *et al.* (2006).

⁶⁵ Vgl. Hoetzel *et al.* (2006).

der HO-1-Antwort auf Isofluranstimulation. Somit können wir schlussfolgern, dass offensichtlich auch Sauerstoffradikale oder reaktive Sauerstoffspezies keine Rolle für die HO-1-Induktion durch Isofluran spielen.

Das Cytochrom P450 2E1 ist für den Abbau volatiler Anästhetika verantwortlich. Zudem sind prooxidative Wirkungen dieses Enzyms bekannt. Diese Eigenschaften legen eine mögliche Beteiligung dieses Enzyms an der der HO-1-Induktion nahe. Wir setzten deshalb einen spezifischen Inhibitor des Cytochroms P450 2E1 ein. Auch hier blieb die HO-1-Induktion unverändert. Das negative Ergebnis dieser Untersuchung macht somit eine Beteiligung dieses Enzyms an der HO-1-Induktion durch volatile Anästhetika unwahrscheinlich.⁶⁶

Die Proteinkinase C (PKC) und die Phospholipase A2 (PLA2) sind zwei zentrale Regulatoren transkriptioneller Aktivierung. Beide Enzyme kommen sowohl in Kupfferzellen als auch in Hepatozyten vor. Die spezifische Hemmung der Enzyme mit Chelerythrin oder Quinacrin resultiert in einer deutlichen Abnahme der HO-1-Induktion. Sowohl die PKC als auch die PLA2 scheinen deshalb für die Vermittlung der HO-1-Induktion durch Isofluran verantwortlich zu sein.⁶⁷

Es lässt sich zusammenfassen, dass die HO-1-Induktion durch Isofluran von der Kupferzellfunktion abhängt und durch die PKC und die PLA2 vermittelt wird. Weder Stickstoffmonoxid noch reaktive Sauerstoffspezies spielen in der Signaltransduktion eine wesentliche Rolle.

Somit konnten wir den Mechanismus der HO-1-Induktion in der Leber durch das volatile Anästhetikum Isofluran aufklären. Ein wichtiger Punkt dabei ist, dass die HO-1-Induktion durch Isofluran nicht mit einer allgemeinen Stressantwort vergesellschaftet ist. Daher stellt die Behandlung mit Isofluran zur gezielten Induktion des hepatoprotektiven Enzyms HO-1 eine sichere Maßnahme dar.

„From bench to bedside“

Die Entdeckung und Charakterisierung volatiler Anästhetika als Induktoren der hepatischen HO-1 mit organprotektiver Wirkung bietet im Vergleich zu den bisher lediglich experimentell etablierten Ansätzen wesentliche Vorteile. Insbesondere im Hinblick auf einen zukünftigen klinischen Einsatz ist die Anwendung gentechnischer Methoden aufgrund noch nicht abzuschätzender unerwünschter Wirkungen aus ethischen Erwägungen in absehbarer Zeit nicht zu verantworten. Im Tierexperiment applizierte pharmakologische Induktoren sind zur Charakterisierung grundlegender Mechanismen von Bedeutung, ihr klinischer Einsatz erscheint allerdings wegen der Toxizität dieser Substanzen nahezu ausgeschlossen.

Daher erscheinen volatile Anästhetika – und hier insbesondere Isofluran – für einen potenziellen klinischen Einsatz mit dem Ziel einer spezifischen hepatischen Präinduktion der HO-1 zur Minimierung des Reperfusionsschadens der Leber im Rahmen von Leberresektionen, Transplantationschirurgie, Trauma oder hämorrhagischen Schockereignissen geeignet.

⁶⁶ Vgl. Hoetzel *et al.* (2006).

⁶⁷ Vgl. Hoetzel *et al.* (2006).

Es bedarf jedoch weitergehender Untersuchungen an Patienten, um die Eigenschaft von Isofluran als „ideales“ volatiles Anästhetikum mit geringer Toxizität und hepatoprotektiven Effekten durch die Induktion der HO-1 zu belegen.

Danksagung

Die Autoren danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung der Forschungsarbeiten (Pa 533/3-2 und Pa 533/4-1).

Literatur

- BALLA, G., H. S. JACOB, J. BALLA *et al.* (1992). „Ferritin: a cytoprotective antioxidant strategem of endothelium“, *Journal of Biological Chemistry* 267, 18148–18153.
- BAUER, M., B. H. PANNEN, I. BAUER, C. HERZOG, G. A. WANNER, R. HANSELMANN, J. X. ZHANG, M. G. CLEMENS und R. LARSEN (1996). „Evidence for a functional link between stress response and vascular control in hepatic portal circulation“, *American Journal of Physiology* 271, G929–G935.
- BAUER, I., G. A. WANNER, H. RENSING, C. ALTE, E. A. MIESCHER, B. WOLF, B. H. PANNEN, M. G. CLEMENS und M. BAUER (1998). „Expression pattern of heme oxygenase isoenzymes 1 and 2 in normal and stress-exposed rat liver“, *Hepatology* 27, 829–838.
- BAUER, I., B. VOLLMAR, H. JAECHKE, H. RENSING, T. KRAEMER, R. LARSEN und M. BAUER (2000). „Transcriptional activation of heme oxygenase-1 and its functional significance in acetaminophen-induced hepatitis and hepatocellular injury in the rat“, *Journal of Hepatology* 33, 395–406.
- BISSELL, D. M., L. HAMMAKER und R. SCHMID (1972). „Hemoglobin and erythrocyte catabolism in rat liver: the separate roles of parenchymal and sinusoidal cells“, *Blood* 40, 812–822.
- BROUARD, S., L. E. OTTERBEIN, J. ANRATHER *et al.* (2000). „Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis“, *Journal of Experimental Medicine* 192, 1015–1026.
- BROUARD, S., P. O. BERBERAT, E. Tobiasch *et al.* (2002). „Heme oxygenase-1-derived carbon monoxide requires the activation of transcription factor NFkappa B to protect endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-mediated apoptosis“, *Journal of Biological Chemistry* 277, 17950–17961.
- BRÜNE, B. und V. ULLRICH (1987). „Inhibition of platelet aggregation by carbon monoxide is mediated by activation of guanylate cyclase“, *Molecular Pharmacology* 32, 497–504.
- CARRAWAY, M. S., A. J. GHIO, J. D. CARTER und C. A. PIANTADOSI (2000). „Expression of heme oxygenase-1 in the lung in chronic hypoxia“, *American Journal of Physiology* 278, L806–812.
- CHAPIN, J. W., M. C. NEWLAND und B. J. HURLBERT (1989). „Anesthesia for liver transplantation“, *Seminars and Liver Disease* 9, 195–201.
- CHUN, K., J. ZHANG, J. BIEWER, D. FERGUSON und M. G. CLEMENS (1994). „Microcirculatory failure determines lethal hepatocyte injury in ischemic/reperfused rat livers“, *Shock* 1, 3–9.
- COLLETTI, L. M., D. G. REMICK, G. D. BURTCH, S. L. KUNKEL, R. M. STRIETER, und D. A. CAMPBELL, JR. (1990). „Role of tumor necrosis factor-alpha in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat“, *Journal of Clinical Investigation* 85, 1936–1943.
- CRUSE, I. und M. D. MAINES (1988). „Evidence suggesting that the two forms of heme oxygenase are products of different genes“, *Journal of Biological Chemistry* 263, 3348–3353.

- DORMAN, R. B., M. L. BAJT, A. FARHOOD, J. MAYES und H. JAESCHKE (2004). „Heme oxygenase-1 induction in hepatocytes and non-parenchymal cells protects against liver injury during endotoxemia“, *Comparative Hepatology* 3, Supplement 1, 42.
- EISENSTEIN, R. S. und K. P. BLEMINGS (1998). „Iron regulatory proteins, iron responsive elements and iron homeostasis“, *Journal of Nutrition* 128, 2295–2298.
- FAROMBI, E. O. und Y. J. SURH (2006). „Heme oxygenase-1 as a potential therapeutic target for hepatoprotection“, *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 39, 479–491.
- FELLSTROM, B., L. M. AKUYREK, U. BACKMAN, E. LARSSON, J. MELIN und L. ZEJINA (1998). „Postischemic reperfusion injury and allograft arteriosclerosis“, *Transplantation Proceedings* 30, 4278–4280.
- FERNANDEZ, M. und H. L. BONKOVSKY (1999). „Increased heme oxygenase-1 gene expression in liver cells and splanchnic organs from portal hypertensive rats“, *Hepatology* 29, 1672–1679.
- FUJIMOTO, H., M. OHNO, S. AYABE *et al.* (2004). „Carbon monoxide protects against cardiac ischemia-reperfusion injury in vivo via MAPK and Akt-eNOS pathways“, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 24, 1848–1853.
- FUJITA, T., K. TODA, A. KARIMOVA *et al.* (2001). „Paradoxical rescue from ischemic lung injury by inhaled carbon monoxide driven by derepression of fibrinolysis“, *Nature Medicine* 7, 598–604.
- GEUKEN, E., C. I. BUIS, D. S. VISSER, H. BLOKZIJL, H. MOSHAGE, B. NEMES, H. G. LEUVENINK, K. P. DE JONG, P. M. PEETERS, M. J. SLOOFF und R. J. PORTE (2005). „Expression of heme oxygenase-1 in human livers before transplantation correlates with graft injury and function after transplantation“, *American Journal of Transplantation* 5, 1875–1885.
- GODA, N., K. SUZUKI, M. NAITO, S. TAKEOKA, E. TSUCHIDA, Y. ISHIMURA, T. TAMATANI und M. SUEMATSU (1998). „Distribution of heme oxygenase isoforms in rat liver. Topographic basis for carbon monoxide-mediated microvascular relaxation“, *Journal of Clinical Investigation* 101, 604–612.
- HAYASHI, M., T. TAKAHASHI, H. MORIMATSU *et al.* (2004). „Increased carbon monoxide concentration in exhaled air after surgery and anesthesia“, *Anesthesia Analgesia* 99, 444–448.
- HENRION, J. (2000). „Ischemia/reperfusion injury of the liver: pathophysiologic hypotheses and potential relevance to human hypoxic hepatitis“, *Acta Gastro-Enterologica* (Belgica) 63, 336–347.
- HOETZEL, A., S. GEIGER, T. LOOP *et al.* (2002). „Differential effects of volatile anesthetics on hepatic heme oxygenase-1 expression in the rat“, *Anesthesiology* 97, 1318–1321.
- HOETZEL, A. und K. GEIGER (2003). „Stressproteine: Grundlagen und Bedeutung für die Anästhesie und Intensivmedizin“, *Anaesthesiologie und Intensivmedizin* 44, 145–158.
- HOETZEL, A. und R. SCHMIDT (2006). „Carbon monoxide – poison or potential therapeutic?“, *Anaesthesist* 55, 1068–1079.
- HOETZEL, A., D. LEITZ, R. SCHMIDT, E. TRITSCHLER, I. BAUER, T. LOOP, M. HUMAR, K. K. GEIGER und B. H. PANNEN (2006). „Mechanism of hepatic heme oxygenase-1 induction by isoflurane“, *Anesthesiology* 104, 101–109.
- HOWARD, T. K., G. B. KLINTMALM, J. B. COFER, B. S. HUSBERG, R. M. GOLDSTEIN und T. A. GONWA (1990). „The influence of preservation injury on rejection in the hepatic transplant recipient“, *Transplantation* 49, 103–107.
- JAESCHKE, H. und A. FARHOOD (1991). „Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver“, *American Journal of Physiology* 260, G355–G362.
- JAESCHKE, H. (2003). „Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning“, *American Journal of Physiology* 284, G15–G26.
- KUBULUS, D., H. RENSING, M. PAXIAN, J. T. THIERBACH, T. MEISEL, H. REDL, M. BAUER und I. BAUER (2005). „Influence of heme-based solutions on stress protein expression and organ failure after hemorrhagic shock“, *Critical Care Medicine* 33, 629–637.

- KYOKANE, T., S. NORIMIZU, H. TANIAI, T. YAMAGUCHI, S. TAKEOKA, E. TSUCHIDA, M. NAITO, Y. NIMURA, Y. ISHIMURA und M. SUEMATSU (2001). „Carbon monoxide from heme catabolism protects against hepatobiliary dysfunction in endotoxin-treated rat liver“, *Gastroenterology* 120, 1227–1240.
- LIU, X. M., G. B. CHAPMAN, K. J. PEYTON *et al.* (2002). „Carbon monoxide inhibits apoptosis in vascular smooth muscle cells“, *Cardiovascular Research* 55, 396–405.
- LLESUY, S. F. und M. L. TOMARO (1994). „Heme oxygenase and oxidative stress. Evidence of involvement of bilirubin as physiological protector against oxidative damage“, *Biochimica et Biophysica Acta* 1223, 9–14.
- LOSCAR, M. und P. CONZEN (2004). „Volatile anesthetics“, *Anaesthesist* 53, 183–197.
- MAINES, M. D., B. C. EKE und X. ZHAO (1996). „Corticosterone promotes increased heme oxygenase-2 protein and transcript expression in the newborn rat brain“, *Brain Research* 722, 83–94.
- MAYNARD, N. D., D. J. BIHARI, R. N. DALTON, R. BEALE, M. N. SMITHIES und R. C. MASON (1997). „Liver function and splanchnic ischemia in critically ill patients“, *Chest* 111, 180–187.
- MCCOUBREY, JR., W. K., T. J. HUANG und M. D. MAINES (1997). „Isolation and characterization of a cDNA from the rat brain that encodes hemoprotein heme oxygenase-3“, *European Journal of Biochemistry* 247, 725–732.
- MORISAKI, H., T. KATAYAMA, Y. KOTAKE *et al.* (2002). „Carbon monoxide modulates endotoxin-induced microvascular leukocyte adhesion through platelet-dependent mechanisms“, *Anesthesiology* 97, 701–709.
- NAGAO, T., S. INOUE, S. GOTO, T. MIZUTA, Y. OMORI, N. KAWANO und Y. MORIOKA (1987). „Hepatic resection for hepatocellular carcinoma. Clinical features and long-term prognosis“, *Annals of Surgery* 205, 33–40.
- NAKAGAMI, T., S. TAJI, M. TAKAHASHI und K. YAMANISHI (1992). „Antiviral activity of a bile pigment, biliverdin, against human herpesvirus 6 (HHV-6) in vitro“, *Microbiology and Immunology* 36, 381–390.
- ODAKA, Y., T. TAKAHASHI, A. YAMASAKI, T. SUZUKI, T. FUJIWARA, T. YAMADA, M. HIRAKAWA, H. FUJITA, E. OHMORI und R. AKAGI (2000). „Prevention of halothane-induced hepatotoxicity by hemin pretreatment: protective role of heme oxygenase-1 induction“, *Biochemical Pharmacology* 59, 871–880.
- OTTERBEIN, L. E., L. L. MANTELL und A. M. CHOI (1999). „Carbon monoxide provides protection against hyperoxic lung injury“, *American Journal of Physiology* 276, L688–694.
- OTTERBEIN, L. E., B. S. ZUCKERBRAUN, M. HAGA *et al.* (2003). „Carbon monoxide suppresses arteriosclerotic lesions associated with chronic graft rejection and with balloon injury“, *Nature Medicine* 9, 183–190.
- PANNEN, B. H. J. und M. BAUER (1998). „Differential regulation of hepatic arterial and portal venous vascular resistance by nitric oxide and carbon monoxide in rats“, *Life Sciences* 62, 2025–2033.
- PANNEN, B. H., N. KÖHLER, B. HOLE, M. BAUER, M. G. CLEMENS und K. K. GEIGER (1998). „Protective role of endogenous carbon monoxide in hepatic microcirculatory dysfunction after hemorrhagic shock in rats“, *Journal of Clinical Investigation* 102, 1220–1228.
- PANNEN, B. H. (2002). „New insights into the regulation of hepatic blood flow after ischemia and reperfusion“, *Anesthesia Analgesia* 94, 1448–1457.
- POSS, K. D. und S. TONEGAWA (1997). „Heme oxygenase 1 is required for mammalian iron reutilization“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, 10919–10924.

- PRECKEL, B., J. MÜLLENHEIM und W. SCHLACK (2002). „Myocardial protection by volatile anesthetics“, *Anesthesiologie und Reanimation* 27, 116–123.
- PRINGLE, J. H. (1908). „Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma“, *Annals of Surgery* 48, 541–549.
- RENSING, H., I. BAUER, V. DATENE, C. PÄTAU, B. H. PANNEN und M. BAUER (1999). „Differential expression pattern of heme oxygenase-1/heat shock protein 32 and nitric oxide synthase-II and their impact on liver injury in a rat model of hemorrhage and resuscitation“, *Critical Care Medicine* 27, 2766–2775.
- RYTER, S. W., J. ALAM und A. M. CHOI (2006). „Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications“, *Physiological Reviews* 86, 583–650.
- SARADY, J. K., S. L. OTTERBEIN, F. LIU *et al.* (2002). „Carbon monoxide modulates endotoxin-induced production of granulocyte macrophage colony-stimulating factor in macrophages“, *American Journal of Respiratory and Cellular Molecular Biology* 27, 739–745.
- SASS, G., S. SEYFRIED, S. M. PARREIRA *et al.* (2004). „Cooperative effect of biliverdin and carbon monoxide on survival of mice in immune-mediated liver injury“, *Hepatology* 40, 1128–1135.
- SCHMIDT, R., A. HOETZEL, T. BAECHLE, T. LOOP, M. HUMAR, M. BAUER, H. L. PAHL, K. K. GEIGER und B. H. PANNEN (2004). „Isoflurane pretreatment lowers portal venous resistance by increasing hepatic heme oxygenase activity in the rat liver in vivo“, *Journal of Hepatology* 41, 706–713.
- SCHMIDT, R., E. TRITSCHLER, A. HOETZEL, T. LOOP, M. HUMAR, L. HALVERSCHEID, K. K. GEIGER und B. H. PANNEN (2007). „Heme oxygenase-1 induction by the clinically used anesthetic isoflurane protects rat livers from ischemia/reperfusion injury“, *Annals of Surgery* 245, 931–942.
- SOARES, M. P., M. P. SELDON, I. P. GREGOIRE *et al.* (2004). „Heme oxygenase-1 modulates the expression of adhesion molecules associated with endothelial cell activation“, *Journal of Immunology* 172, 3553–3563.
- STOCKER, R., Y. YAMAMOTO, A. F. McDONAGH *et al.* (1987). „Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance“, *Science* 235, 1043–1046.
- SUEMATSU, M., N. GODA, T. SANO, S. KASHIWAGI, T. EGAWA, Y. SHINODA und Y. ISHIMURA (1995). „Carbon monoxide: an endogenous modulator of sinusoidal tone in the perfused rat liver“, *Journal of Clinical Investigation* 96, 2431–2437.
- TANG, L. M., Y. P. WANG, K. WANG, L. Y. PU, F. ZHANG, X. C. LI, L. B. KONG, B. C. SUN, G. Q. LI und X. H. WANG (2007). „Exogenous biliverdin ameliorates ischemia-reperfusion injury in small-for-size rat liver grafts“, *Transplantation Proceedings* 39, 1338–1344.
- TENHUNEN, R., H. S. MARVER und R. SCHMID (1968). „The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 61, 748–755.
- TÜZÜNER, E., L. LIU, M. SHIMADA, E. YILMAZ, M. GLANEMANN, U. SETTMACHER, J. M. LANGREHR, S. JONAS, P. NEUHAUS und A. K. NUSSLER (2004). „Heme oxygenase-1 protects human hepatocytes in vitro against warm and cold hypoxia“, *Journal of Hepatology* 41, 764–772.
- WAKE, K. (1980). „Perisinusoidal stellate cells (fat-storing cells, interstitial cells, lipocytes), their related structure in and around the liver sinusoids, and vitamin A-storing cells in extrahepatic organs“, *International Review of Cytology* 66, 303–353.
- WANG, X. H., K. WANG, F. ZHANG, X. C. LI, X. F. QIAN, F. CHENG, G. Q. LI und Y. FAN (2004). „Alleviating ischemia-reperfusion injury in aged rat liver by induction of heme oxygenase-1“, *Transplantation Proceedings* 36, 2917–2923.
- WUNDER, C., R. W. BROCK, S. D. MCCARTER, A. BIHARI, K. HARRIS, O. EICHELBRONNER und R. F. POTTER (2002). „Inhibition of haem oxygenase activity increases leukocyte accumulation

in the liver following limb ischaemia-reperfusion in mice“, *Journal of Physiology* 540, 1013–1021.

YACHIE, A., Y. NIIDA, T. WADA *et al.* (1999). „Oxidative stress causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency“, *Journal of Clinical Investigation* 103, 129–135.

YAMASAKI, A., T. TAKAHASHI, T. SUZUKI, T. FUJIWARA, M. HIRAKAWA, E. OHMORI und R. AKAGI (2001). „Differential effects of isoflurane and halothane on the induction of heat shock proteins“, *Biochemical Pharmacology* 62, 375–382.