

## *Comparing Vitamin B12 and Nitrous Oxide Neurotoxicity in Operating Room Staff and other Hospital Staff: A Multicenter Study*

Sahar Sadeghi<sup>1</sup>,  
Afsaneh Nourozi<sup>2</sup>,  
Hamidreza Azadi<sup>3</sup>,  
Fardin Faraji<sup>4</sup>,  
Mahsa Mardani<sup>5</sup>,  
Bahman Sadeghi<sup>6</sup>

<sup>1</sup> MS Student in Occupation Therapy, University of Social Welfare and Rehabilitation, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Anesthesiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Occupational Therapy, Faculty of Rehabilitation, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

<sup>4</sup> Associate Professor, Department of Neurology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

<sup>5</sup> Medical Student, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

<sup>6</sup> Associate Professor, Department of Social Medicine, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

(Received September 20, 2017 ; Accepted January 21, 2018)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) is an anesthetic widely used in operating rooms. Chronic exposure to N<sub>2</sub>O causes decrease in mental performance, peripheral neuropathy, and polyneuropathy. The aim of this study was to compare neurological complications caused by N<sub>2</sub>O exposure between operating room staff and other hospital staff.

**Materials and methods:** In this multicenter cohort study, operating room staff (n=110) and non-operating room staff (n= 224) in Arak Valiasr Hospital and Isfahan Al-zahra Hospital were randomly selected and individually matched. Both groups were examined for neuropathic symptoms and their medical history was recorded. Clinical neurological exams such as Romberg test were used in both groups. Patients with neuropathic sign and symptoms were referred to a neurology clinic to confirm any diagnosis.

**Results:** The two groups were significantly different in ataxia, numbness, weakness and paresthesia of upper and lower limb, Romberg test score, and levels of Vitamin B12 (P<0.05). No significant differences were observed between the two groups in mean Hemoglobin level, temperature sense, touch and two-point discrimination, stereo gnosis, tandem walking, and plantar and dorsal flexion (P≥ 0.05).

**Conclusion:** Chronic exposure to nitrous oxide was found to decrease serum vitamin B12 levels and caused neurological symptoms and complications. Therefore, clinical and laboratory evaluations and monitoring of exposure to nitrous oxide is necessary.

**Keywords:** operating room staff, neurotoxicity, nitrous oxide, vitamin B12

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (173): 134-139 (Persian).

\* Corresponding Author: Bahman Sadeghi - Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran  
(E-mail: dr.sadeghis@arakmu.ac.ir)

## مقایسه سطح ویتامین B12 و فراوانی نوروکسیسیتی ناشی از گاز نیتروژن اکسید (N2O) در کارکنان اتاق عمل و سایر بخش ها یک مطالعه چند مرکزی

سحر صادقی<sup>1</sup> افسانه نوروزی<sup>2</sup> حمید رضا آزادی<sup>3</sup> فردین فرجی<sup>4</sup> مهسا مردانی<sup>5</sup> بهمن صادقی<sup>6</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** گاز بیهوشی N2O (نیتروژن اکسید) رایج ترین گاز بیهوشی مورد استفاده در اتاق عمل است و به دنبال استنشاق مزمن آن احتمال بروز عوارض متعددی، از جمله نوروپاتی محیطی وجود دارد. این مطالعه با هدف مقایسه عوارض نوروپاتی ناشی از تماس با گاز نیتروژن اکسید در کارکنان شاغل در اتاق عمل با سایر کارکنان بیمارستان انجام شد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه هم گروهی چند مرکزی 110 نفر از کارکنان شاغل در اتاق عمل بیمارستان ولیعصر (عج) اراک و الزهرا (س) اصفهان و 224 نفر از کارکنان شاغل در سایر بخش های همان بیمارستان ها به صورت تصادفی ساده انتخاب و به صورت فردی همسان شدند. سپس علائم نوروپاتی و آزمون های نوروپاتی، در دو گروه بررسی شد و جهت تایید تشخیص نیز نمونه ها به درمانگاه نوروپاتی ارجاع شدند.

**یافته ها:** از نظر آتاکسی، بی حسی، ضعف و پارستزی اندام های فوقانی و تحتانی و آزمون رومبرگ و سطح ویتامین B12 بین دو گروه تفاوت آماری معنی دار دیده شد ( $P < 0/05$ ) اما از نظر میانگین سطح هموگلوبین، درک حس دما، لمس، تمایز دو نقطه و آزمون tandem walking و وضعیت راه رفتن، اختلاف آماری معنی دار مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ). بنابراین استنتناج: به نظر می رسد تماس مزمن با گاز نیتروس اکساید منجر به کاهش ویتامین B12 و بروز علائم و عوارض نوروپاتی می گردد. بنابراین سنجش و ارزیابی بالینی و آزمایشگاهی آن در کارکنان اتاق عمل لازم و ضروری است.

**واژه های کلیدی:** کارکنان اتاق عمل، نوروکسیسیتی، نیتروس اکساید، ویتامین B12، کارکنان اتاق عمل، گاز نیتروژن اکسید،

نوروکسیسیتی، ویتامین B12

### مقدمه

سیستم تهویه هوا، روش بیهوشی و نشت گاز از ماشین بیهوشی مرتبط است (1-6). سالانه 50000 نفر از کارکنان اتاق های عمل در معرض آلودگی با این گاز قرار می گیرند (7،8).

گاز بیهوشی N2O (نیتروژن اکسید) یکی از رایج ترین گازهای بیهوشی مورد استفاده در اتاق عمل است (1). میزان آلودگی اتاق های عمل و ریکاوری با این گاز به وضعیت

E-mail: dr.sadeghis@arakmu.ac.ir

**مؤلف مسئول:** بهمن صادقی - اراک: دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی

1. دانشجوی کارشناسی ارشد کاردرمانی، دانشکده توانبخشی و علوم بهزیستی، تهران، ایران
2. دانشیار، گروه بیهوشی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
3. استادیار، گروه کاردرمانی، دانشکده توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
4. دانشیار، گروه نوروپاتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
5. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
6. دانشیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: 1396/6/29 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1396/7/16 تاریخ تصویب: 1397/11/1

جنس، بیماری زمینه‌ای و مصرف سیگار، همسان شدند. از معیارهای مهم ورود به مطالعه، حداقل سابقه یک سال کار مداوم و شاخص توده بدنی کم‌تر از 30 بود. سابقه جراحی معده، نوروپاتی شناخته شده، رژیم گیاه خواری، مصرف مکمل، نارسایی کلیوی و اختلال تیروئیدی نیز از شرایط خروج از مطالعه بود. بعد از کسب رضایت‌نامه کتبی، یک نفر کاردرمان گر و یک نفر دانشجوی پزشکی آموزش دیده، مصاحبه و معاینات لازم را زیر نظر استادیار گروه کاردرمانی، انجام و ثبت نمودند. جهت کاهش سوگرایی کارگر سالم نیز، سابقه اخراج، تغییر محل خدمت و یا بازنشستگی و مرگ زودرس با علائم عضلانی اسکلتی پیگیری و بررسی شد.

- ارزیابی سیستم حسی بر اساس حس درد، حس حرارت، حس لمس سطحی، حس ارتعاش، حس وضیعت، Stereognosis، شناسایی اعداد نوشته شده در کف دست و تمیز دو نقطه انجام شد.

- ارزیابی حرکتی براساس قدم زدن در اتاق، چرخیدن و برگشتن، کنترل روش راه رفتن گردو شکن (tandem walking) و heel to shin test، آزمون Romberg و آزمون انحراف (لغزش) پروناتور انجام شد (19). سپس افراد واجد علائم نورولوژیک، جهت بررسی و تایید به نورولوژیست همکار طرح ارجاع شدند. هم‌زمان، آزمایش CBC و اندازه‌گیری سطح ویتامین B12 خون نیز انجام شد. در نهایت داده‌ها در محیط نرم افزار آماری SPSS16، با استفاده از آزمون تی مستقل و آزمون مجذور کای یا آزمون دقیق فیشر تجزیه و تحلیل شدند. کنترل متغیرهای مخدوش‌کننده نیز با همسان سازی و کنترل آماری، با سطح معنی‌داری 0/05 انجام شد.

## یافته ها و بحث

در این مطالعه دو گروه بر اساس آزمون مجذور کای و سطح معنی‌داری کم‌تر از 0/05، از نظر جنس، بیماری زمینه‌ای، مصرف دارو، سن و سابقه کار، همسان بودند. نسبت خطر نقطه‌ای پیامد نوروتوکسیسیته در

مشخص شده است که حتی با وجود فعال بودن سیستم تهویه، میزان آلودگی در محیط تنفسی کارکنان بیهوشی در 5/56 درصد موارد بالاتر از غلظت مجاز است (1).

استنشاق مزمن گاز نیتروژن اکسید عوارض متعددی نظیر پلی نوروپاتی، غیر فعال شدن ویتامین B12 (5-1) بی‌قراری، ناباروری، بدخیمی‌ها، هیپاتیت، بیماری‌های کلیوی و نورولوژیک را به دنبال دارد (9).

علائم نورولوژیک نیتروژن اکسید و دژنراسیون تحت حاد در ستون خلفی طناب نخاعی (2) با مکانیسم‌های متعددی نظیر مهار آنزیمی (5)، آپوپتوز و مهار گابانژیک ایجاد می‌شود (3، 10-12). تماس مکرر یا حتی یک باره با اکسید نیتروژن منجر به غیر فعال شدن متیونین سنتتاز و کاهش ویتامین B12 می‌شود (13، 14). 8 تا 24 ساعت پس از تماس مداوم، تغییرات مگالوبلاستیک مغز استخوان ظاهر شده و پس از چند ماه تماس متناوب عوارض عصبی شروع می‌شود (15، 16). در صورت کمبود ویتامین B12 بروز عوارض حاد و مزمن تسریع می‌شود (17) و مصرف ویتامین B12، باعث محافظت در برابر عوارض آن می‌شود (18). لذا مطالعه حاضر با هدف مقایسه عوارض نورولوژیک ناشی از تماس با این گاز و تاثیر آن بر سطح ویتامین B12، در کارکنان اتاق عمل با سایر کارکنان بیمارستان انجام شد.

## مواد و روش ها

در این مطالعه هم‌گروهی تاریخی چند مرکزی با کد اخلاق (13-152-92) تاریخ 92/6/25، از بین کارکنان شاغل در اتاق عمل بیمارستان ولیعصر (عج) اراک و الزهرا (ع) اصفهان به صورت تصادفی ساده و با احتساب نسبت آلودگی 56 درصد (1) و دقت 5 درصد با حدود اطمینان 95 درصد، تعداد 110 نفر از کارکنان اتاق عمل و ریکاوری به عنوان گروه در تماس با عامل خطر و 224 نفر از کارکنان شاغل در ICU و بخش اورژانس همان بیمارستان‌ها، به عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. دو گروه به صورت فردی از نظر سن، سنوات خدمت،

اساس آزمون تی مستقل، تفاوت معنی‌دار آماری بین دو گروه وجود داشت ( $P=0/001$ ).

جدول شماره 1: برآورد نقطه ای و فاصله ای نسبت خطر متغیرهای کیفی مطالعه بر اساس آنالیز تک متغیره

متغیر	درصد خطر	نسبت خطر	حدود اطمینان 95 درصد
جنسیت			
مرد	3/45	2/51	1/47 - 2/13
زن	2/89	1	
سن			
پالاتر از 50 سال	9/88	1/88	1/12 - 3/36
30 تا 50 سال	7/81	1/34	
کمتر از 30 سال	4/32	1	
سابقه کار			
10 سال و بالاتر	7/20	2/18	2/68 - 6/31
5 تا 10 سال	4/87	1/87	
کمتر از 5 سال	1/14	1	
سابقه فشار خون بالا			
دارد	11/50	4/32	18/28 - 5/55
ندارد	5/90	2/12	
سابقه دیابت			
دارد	14/70	6/23	2/44 - 6/34
ندارد	4/91	1	
سابقه چربی خون بالا			
دارد	2/91	1/51	1/05 - 2/21
ندارد	1/59	1	
سابقه بیماری قلبی			
دارد	2/23	1/89	1/14 - 2/89
ندارد	1/76	1	
استعمال دخانیات			
دارد	9/34	6/23	1/28 - 5/19
ندارد	2/49	1	

جنس مرد، سن بالاتر از 50 سال، سابقه کار 5 تا 10 سال، ابتلا به دیابت و فشارخون و استعمال دخانیات بالاتر بود. اما چربی خون بالا و بیماری قلبی تاثیری نداشت (جدول شماره 1). هم چنین خطر نسبی بروز آتاکسی، ضعف، کرختی و پاراستزی در اندام، بیش تر از سایر علائم بود (جدول شماره 2). در ارزیابی حسی و حرکتی، نتیجه تست Romberg، بین دو گروه تفاوت معنی‌دار آماری داشت ( $P=0/027$ ) اما سایر ارزیابی‌ها تفاوت باارزی نداشتند ( $P>0/05$ ) (جدول شماره 3). میانگین هم‌گلوبین در زنان و مردان گروه کنترل به ترتیب  $13 \pm 1/36$  و  $14/2 \pm 0/86$  بود و در گروه مواجهه داشته نیز به ترتیب  $12/9 \pm 0/93$  و  $14/5 \pm 0/75$  بود. هم چنین میانگین MCV در گروه کنترل  $81 \pm 1/41$  و در گروه مواجهه  $84/8 \pm 5/43$  بود. میانگین MCH نیز به ترتیب  $27/1 \pm 1/41$  و  $28 \pm 2/5$  بود. بنابر این بر اساس آزمون تی مستقل از نظر هم‌گلوبین و MCV و MCH بین دو گروه تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ). میانگین ویتامین B12 در کارکنان سایر بخش‌ها  $577/5 \pm 65$  و در کارکنان اتاق عمل  $235/71 \pm 124$  نانو گرم بود که بر

جدول شماره 2: فراوانی علائم بالینی به تفکیک گروه‌ها

علائم بالینی	کارکنان اتاق عمل		کارکنان سایر بخش‌ها		خطر نسبی (RR)	سطح معنی داری*
	دارد تعداد (درصد)	ندارد تعداد (درصد)	دارد تعداد (درصد)	ندارد تعداد (درصد)		
آتاکسی	32 (29)	78 (71)	2 (0/9)	222 (99/1)	32/2	0/00
کرختی اندام فوقانی	10 (9)	100 (91)	0 (0)	224 (100)	9	0/0027**
کرختی اندام تحتانی	18 (16/3)	92 (83/7)	4 (1/8)	220 (98/2)	9/1	0/001
ضعف اندام فوقانی	19 (17/3)	91 (89/1)	0 (0)	224 (100)	17/3	0/013**
ضعف اندام تحتانی	20 (18)	90 (82)	6 (2/7)	218 (97/3)	6/7	0/001
پاراستزی اندام فوقانی	28 (25/4)	82 (74/6)	8 (7/3)	216 (92/7)	3/47	0/00
پاراستزی اندام تحتانی	22 (20)	88 (80)	4 (3/6)	220 (96/4)	5/5	0/002

\* سطح معنی داری کم تر از 0/05 بر اساس آزمون دقیق فیشر

\*\* سطح معنی داری کم تر از 0/05 بر اساس آزمون کای دو و دقیق فیشر

جدول شماره 3: مقایسه ارزیابی حسی و حرکتی به تفکیک گروه‌ها

ارزیابی حسی	کارکنان اتاق عمل		کارکنان سایر بخش‌ها		خطر نسبی (RR)	سطح معنی داری*
	مختل تعداد (درصد)	نرمال تعداد (درصد)	مختل تعداد (درصد)	نرمال تعداد (درصد)		
حس دما	2 (1/8)	108 (98/2)	2 (0/9)	222 (99/1)	2	0/495
لمس سطحی	4 (3/6)	106 (96/4)	0 (0)	224 (100)	3/6	0/243
تمایز دو نقطه	2 (1/8)	108 (98/2)	0 (0)	224 (100)	1/8	0/495
شناسایی عدد	4 (3/6)	106 (96/4)	4 (1/8)	220 (98/2)	2	0/243
stereognosis	2 (1/8)	108 (98/2)	0 (0)	224 (100)	1/8	0/495
تست گردو شکستن	6 (5/4)	104 (94/6)	0 (0)	224 (100)	5/4	0/118
تست رومیگ	10 (9)	100 (91)	0 (0)	224 (100)	9	0/027

\* سطح معنی داری کم تر از 0/05 بر اساس آزمون دقیق فیشر

بودن تراکم گاز نیتروژن اکسید در اتاق های عمل در مقایسه با کلینیک های دندان پزشکی نسبت داد. یکی از مهم ترین کاستی های این مطالعه، تمرکز بر آثار و عوارض نوروپاتی های گاز نیتروژن اکسید بود حال آن که احتمال بروز عوارض دیگر نیز وجود دارد. به نظر می رسد تماس مزمن با N<sub>2</sub>O در کارکنان اتاق عمل، خطر نسبی کاهش سطح سرمی ویتامین B12 و پیامدهایی نظیر آتاکسی، ضعف در اندام فوقانی و کمر ختی اندام تحتانی را بالا می برد حال آن که در وضعیت حسی و حرکتی تغییر بارزی نخواهد داشت و یا مدت و شدت مواجهه بیش تری لازم دارد ولی پذیرش این موضوع نیاز به مطالعات بیش تر با حجم نمونه بیش تر دارد، بنابراین ارزیابی دوره ای بالینی و آزمایشگاهی و پایش میزان تماس و برقراری سیستم تهویه، لازم و ضروری به نظر می رسد.

### سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می دانند از معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی اراک، ریاست و مجموعه مدیریتی مراکز آموزشی درمانی ولیعصر (عج) اراک و الزهرا (س) اصفهان تقدیر و تشکر به عمل آورند.

### References

1. Irwin MG, Trinh T, Yao CL. Occupational exposure to anaesthetic gases: a role for TIVA. *Expert Opin Drug Saf* 2009; 8(4): 473-483.
2. Lin RJ, Chen HF, Chang YC, Su JJ. Subacute combined degeneration caused by nitrous oxide intoxication: case reports. *Acta Neurol Taiwan* 2011; 20(2): 129-137.
3. Moll R, Davis B. Iron, vitamin B 12 and folate. *Medicine* 2017; 45(4): 198-203.
4. Portmann RW, Daniel JS, Ravishankara AR. Stratospheric ozone depletion due to nitrous oxide: influences of other gases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012; 367(1593): 1256-1264.
5. Wu M, Hsu Y, Lin J, Chen S, Lee J. Spinal myoclonus in subacute combined degeneration caused by nitrous oxide intoxication. *Acta Neurol Taiwan* 2007; 16(2): 102-105.
6. Paone G, Likosky DS, Brewer R, Theurer PF, Bell GF, Cogan CM, et al. Transfusion of 1 and 2 units of red blood cells is associated with increased morbidity and mortality. *Ann Thorac Surg* 2014; 97(1): 87-94.
7. Damodaran VB, Bhatnagar D, Rubin H, Reynolds MM. Nitric Oxide Donors in Nerve Regeneration. In: *Nitric Oxide Donors*. Seabra A. Philadelphia, Elsevier; 2017. P: 141-168.
8. Krajewski W, Kucharska M, Wesolowski W,

بر اساس مطالعه مورد شاهدی Myles، استنشاق مزمن نیتروژن اکسید، باعث سرکوب مغز استخوان و علائم عصبی غیر طبیعی، آنمی مگالوبلاستیک، لوکوپنی و ترومبوسایتوپنی شده بود (20). در مطالعه حاضر پارامترهای خون تغییرات معنی داری نداشتند که دلیل این تفاوت را شاید بتوان به اختلاف در سال های در معرض تماس و نوع مطالعه نسبت داد.

در مطالعه Krajewski و همکاران سطح ویتامین B12 در کارکنان در معرض تماس به طور معنی داری پایین تر بود ولی در پارامترهای هماتولوژیک تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد (21) که با نتایج به دست آمده در مطالعه ما همخوانی دارد. میانگین ویتامین B12، طیف وسیع 200 تا 835 نانو گرم دارد. بنابراین نتیجه به دست آمده اگرچه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارد ولی کاربرد کلینیکال ندارد.

در مطالعه مقطعی Sweeney با بررسی نمونه خون و مغز استخوان 20 دندان پزشک که در معرض گاز N<sub>2</sub>O بودند معلوم شد که سطح سرمی B12 و اسید فولیک در محدوده نرمال قرار داشت (22) که با نتایج مطالعه ما مغایرت دارد و این تفاوت را می توان به بالا

- Stetkiewicz J, Wronska-Nofer T. Occupational exposure to nitrous oxide–The role of scavenging and ventilation systems in reducing the exposure level in operating rooms. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210(2): 133-138.
9. Collado V, Nicolas E, Faulks D, Hennequin M. A review of the safety of 50% nitrous oxide/oxygen in conscious sedation. *Expert Opin Drug Saf* 2007; 6(5): 559-571.
  10. Hsu CK, Chen YQ, Lung VZ, His SC, Lo HC, Shyu HY. Myelopathy and polyneuropathy caused by nitrous oxide toxicity: a case report. *Am J Emerg Med* 2012; 30(6): 1016-e3-6.
  11. Brown EN, Purdon PL, Van Dort CJ. General anesthesia and altered states of arousal: a systems neuroscience analysis. *Annu Rev Neurosci* 2011; 34: 601-628.
  12. Becker DE, Rosenberg M. Nitrous oxide and the inhalation anesthetics. *Anesth Prog* 2008; 55(4): 124-131.
  13. Lucock M. Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? *BMJ* 2004; 328(7433): 211-214.
  14. Tsai SJ, Hong CJ, Yeh HL, Liou YJ, Yang AC, Liu ME, Hwang JP. Heterozygote advantage of the MTHFR C677T polymorphism on specific cognitive performance in elderly Chinese males without dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2011; 32(3): 159-163.
  15. Nagele P, Tallchief D, Blood J, Sharma A, Kharasch E. Nitrous Oxide Anesthesia and Plasma Homocysteine in Adolescents. *Anesth Analg* 2011; 113(4): 843-848.
  16. Pasternak JJ, McGregor DG, Lanier WL, Schroeder DR, Rusy DA, Hindman B, et al. Effect of nitrous oxide use on long-term neurologic and neuropsychological outcome in patients who received temporary proximal artery occlusion during cerebral aneurysm clipping surgery. *Anesthesiology* 2009; 110(3): 563-573.
  17. Garakani A, Jaffe RJ, Savla D, Welch AK, Protin CA, Bryson EO, et al. Neurologic, psychiatric, and other medical manifestations of nitrous oxide abuse: a systematic review of the case literature. *Am J Addict* 2016; 25(5): 358-369.
  18. Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol* 2006; 5(11): 949-960.
  19. Bickley L, Szilagy PG. Bates' guide to physical examination and history-taking. Philadelphia: LWW; 2012.
  20. Myles PS, Leslie K, Silbert B, Paech MJ, Peyton P. *Anaesth Intensive Care* 2004; 32(2): 165-172.
  21. Krajewski W, Kucharska M, Pilacik B, Fobker M, Stetkiewicz J, Nofer JR, et al. Impaired vitamin B12 metabolic status in healthcare workers occupationally exposed to nitrous oxide. *Br J Anaesth* 2007; 99(6): 812-818.
  22. Sweeney B, Boingham RM, Amos RJ, Petty AC, Cole PV. Toxicity of bone arrow in dentists exposed to nitrous oxide. *Br Med J* 1985; 291(6495): 567-569.