

Faut-il encore utiliser le Protoxyde d'Azote au bloc opératoire ?

Dr. Ph. Richebé

MCU-PH, Département d'Anesthésie et Réanimation 2, Professeur Gérard Janvier, Hôpital Cardiologique Haut Lévêque, CHU de Bordeaux, Avenue de Magellan 33604 Pessac cedex.

Laboratoire « Homéostasie – Allostasie - Pathologie », UMR CNRS 5227, Pr. Guy Simonnet, Université Bordeaux 2, 146 rue Léo saignat, 33076 Bordeaux cedex.

1- Historique du Protoxyde d'Azote

Le protoxyde d'azote (N_2O) fut synthétisé au XVII^{ème} siècle par un anglais nommé Mayo puis purifié en 1772 par Priestley. Davy se l'administre en 1799 et décrit des effets analgésiques et dysphoriques (gaz hilarant). Puis en 1844, Wells, dentiste, se fait arracher une dent sous protoxyde d'azote puis l'adopte pour ses patients. Il fut ensuite rapidement associé aux anesthésies par éther ou chloroforme et l'utilité d'une inhalation concomitante d'oxygène fut rapidement mise en évidence... Le protoxyde d'azote devint alors apprécié non seulement comme adjuvant de l'anesthésie générale, mais aussi pour ses propriétés analgésiques. Cependant, ces dernières restèrent jusqu'aux années 90 assez mal expliquées. Il a fallu attendre la fin du 20^{ème} siècle et le développement des techniques de biologie moléculaire plus performantes pour que des recherches expérimentales tentent d'élucider le mystère des propriétés analgésiques du protoxyde d'azote. Ce n'est que très récemment que les propriétés anti-NMDA et anti-hyperalgésiques du protoxyde d'azote ont été identifiées.

2- Propriétés physico-chimiques, pharmacocinétique et pharmacodynamie

Le protoxyde d'azote est fait de 2 atomes d'hydrogène et un d'oxygène. C'est un gaz inodore, incolore, 1,5 fois plus dense que l'air, non inflammable mais comburant c'est-à-dire qu'il se décompose en azote et oxygène si la température excède 450°C. Cette dernière particularité amène à prendre des précautions en cas de chirurgie au laser ou utilisation de bistouri électrique à proximité des voies aériennes ou des cavités où le protoxyde d'azote aurait diffusé. Le protoxyde d'azote se solubilise en suivant la loi de Henry : son coefficient de solubilité dans le sang est de 0,46 à 37°C (contre 2,3 pour l'halothane, 1,43 pour l'isoflurane) d'où une cinétique rapide et une faible accumulation tissulaire. Son coefficient de solubilité dans l'huile est de 1,4 (contre 224 pour l'halothane, 90 pour l'isoflurane) ce qui explique en partie sa faible puissance anesthésique.

Il est peu soluble dans le sang et les tissus, d'où ses effets d'apparition et de réveil rapide. C'est un agent anesthésique maniable qui répond aux objectifs actuels dits « on/off ».

3- Les arguments POUR le maintien du Protoxyde d'Azote au bloc opératoire :

Analgésie

L'effet analgésique du protoxyde d'azote a longtemps été l'élément justifiant son utilisation. Cet effet analgésique est dose-dépendant et apparaît à partir d'une concentration inspirée de 10%. Mais au-delà de 40%, l'action hypnotique du gaz prédomine, et il est alors difficile d'évaluer, chez l'animal comme chez l'homme, les effets analgésiques propres. L'équivalence analgésique du protoxyde d'azote inhalé à une concentration de 20% a cependant été estimée comme équivalente à 15mg de morphine en administration

sous-cutanée[1]. Mais il semble aussi exister une tolérance rapide aux effets analgésiques : effet maximal obtenu après 20-30min d'exposition, pour une disparition au-delà de 150 min d'exposition[2, 3].

C'est principalement grâce aux travaux du groupe de Mervin Maze, à Londres, que cet effet analgésique proche de celui des opioïdes a été mieux explicité. Depuis le début des années 90, ce groupe s'est attelé à démontrer, chez l'animal, le rôle de la libération d'opioïdes endogènes après exposition au protoxyde d'azote dans l'activation des voies inhibitrices descendantes issues de la substance grise péri-aqueducule (SGPA) qui elles-mêmes modulent, à un étage spinal, la transmission du message douloureux entre les neurones périphériques et centraux des voies ascendantes de la nociception (**figure 1**). Cette hypothèse a été confortée par d'autres travaux émanant de groupes internationaux[4-8].

En pratique clinique, le protoxyde d'azote utilisé comme seul agent d'analgésie a démontré une certaine efficacité principalement en obstétrique, en chirurgie dentaire et en pédiatrie. Cette utilisation hors des blocs opératoires n'est pas le sujet de cette conférence. Cependant, il est démontré en obstétrique une limitation des douleurs relatives aux contractions utérines et/ou une amélioration de l'analgésie lors de césariennes sous anesthésie loco-régionale. En chirurgie dentaire son action est encore controversée par certains. Chez l'enfant il est proposé comme agent analgésique au cours de gestes invasifs. Dans cette indication le protoxyde d'azote présente des avantages indéniables. Cet effet analgésique lors de gestes invasifs est également bien démontré chez l'adulte.

Hyperalgésie

D'un point de vue expérimental, il a été très largement rapporté ces dernières années l'existence d'hyperalgésies dans des modèles chirurgicaux animaux [9]. Le couple glutamate/récepteur NMDA joue un rôle essentiel dans le développement d'une telle plasticité neuronale et hypersensibilité à la douleur. *D'un point de vue clinique*, après chirurgie, apparaît une exacerbation des douleurs provoquées avec altération de la récupération fonctionnelle immédiate du patient. Mais il est difficile d'évaluer la véritable plasticité neuronale responsable des composantes hyperalgique et allodynique de la douleur postopératoire. Cependant, comme chez l'animal, certains tests spécifiques permettent une approche quantitative des hyperalgésies et allodynies (filaments de Von Frey, algomètre). Ils permettent de mettre en évidence une sensibilité accrue aux stimuli mécaniques en période postopératoire[10, 11] qui pourrait faire le lit de douleurs chroniques [12, 13].

Le rôle des opioïdes dans le développement de ces hyperalgésies : les substances opioïdes, au-delà de leur effet analgésique, sont capables d'induire chez l'animal normal[14] et d'amplifier chez l'animal algique[15] les processus de sensibilisation à la douleur. Il a pu être montré que cet effet sensibilisateur des opioïdes était, tout comme celui induit par les influx nociceptifs, dépendant d'une mise en jeu des récepteurs NMDA. Ceci a été clairement démontré par l'effet préventif des antagonistes des récepteurs NMDA sur l'hyperalgésie consécutive à l'administration d'opiacés[15] (**figure 2**).

L'effet analgésique du protoxyde d'azote trouve chez certains auteurs une explication neurophysiologique basée sur le système opioïde endogène comme nous l'avons rapporté ci-dessus[6, 7]. Cependant, il a aussi été démontré que le protoxyde d'azote est un agent anti-NMDA[16] et que, comme la kétamine, il pourrait participer à la réduction des phénomènes de sensibilisation centrale en période per- et post-opératoires[11, 15].

Il a été très récemment rapporté par notre groupe que le protoxyde d'azote administré chez l'animal de façon concomitante aux fortes doses d'opioïdes limitait les phénomènes d'hyperalgésie et d'allodynie consécutives aux opioïdes ou lorsque l'on associait acte chirurgical, fortes doses d'opioïdes et protoxyde d'azote durant l'anesthésie. La tolérance aiguë à la morphine en période postopératoire était aussi limitée par l'utilisation peropératoire du protoxyde d'azote[17]. Des études cliniques restent à réaliser pour confirmer ces résultats précliniques, tant sur l'impact du protoxyde d'azote sur allodynies et hyperalgésies postopératoires immédiates que sur le développement de dysesthésies à long terme corrélées à la plasticité neuronale induite par la chirurgie sous fortes doses d'opioïdes.

Les effets épargneurs d'anesthésie : l'effet narcotique :

La MAC du protoxyde d'azote chez l'homme est de 104%[18]. Le protoxyde d'azote ne peut donc à lui seul, en conditions normobares d'utilisation, offrir une profondeur d'anesthésie suffisante pour la réalisation d'un acte chirurgical et doit donc être, en pratique clinique d'anesthésie pour chirurgie, associé à un autre hypnotique dont il diminue par ailleurs la consommation globale durant l'anesthésie. Comme adjuvant de l'anesthésie, il réduit d'environ 30% la MAC de tous les halogénés. Une étude récente retrouvait même une réduction de 50 à 70% de la consommation de sévoflurane en chirurgie abdominale[19]. De même, il réduit la consommation de propofol d'environ 25% : l'EC₅₀ de propofol à l'incision a été réduite de 6µg/ml à

4,5µg/ml en associant une concentration inhalée de 70% de protoxyde d'azote[20]. Son utilisation comme agent adjuvant d'anesthésie générale pour chirurgie à fort potentiel douloureux a aussi montré un intérêt en terme d'épargne morphinique post-opératoire.

La prédictibilité du protoxyde d'azote quant à la rapidité d'installation (induction d'anesthésie) et la réversibilité (réveil) de ses effets lui a aussi permis de garder une place certaine dans les pratiques d'anesthésies modernes utilisant des agents pharmacologiques et techniques d'administration motivant un réveil rapide des patients[21].

Coût du Protoxyde d'Azote

Le coût du protoxyde d'azote est très faible si on le compare aux autres agents anesthésiques inhalés. Le coût d'une anesthésie générale modélisée sur un adulte de 40 ans de statut ASA 1, d'une durée de 4h avec protoxyde d'azote 70% et isoflurane 0,3 MAC en circuit fermé (1l/min) après une induction intraveineuse est estimé à 52 USD, 94 USD pour 70% de protoxyde d'azote + isoflurane semi-fermé (3l/min), 84 USD pour 70% protoxyde d'azote + sevoflurane semi-fermé. L'utilisation du xénon élève ce prix à 356 USD (xenon 71%+O₂)[22]. En chirurgie orthopédique ambulatoire par arthroscopie par exemple, le protoxyde d'azote administré à la concentration inspirée de 50% permettait une réduction de consommation de sévoflurane de 60%[23]. Une étude récente comparait les coûts d'anesthésie associant le protoxyde d'azote à l'isoflurane ou à une anesthésie totale intraveineuse (ATIV) : l'ATIV + protoxyde d'azote était 3 fois plus chère que l'isoflurane + protoxyde d'azote, mais au détriment de plus de nausées et vomissements post-opératoires dans le groupe halogénés[24]. Le protoxyde d'azote a cependant sa place associé à l'ATIV en conditions ambulatoires pour diminuer significativement les coûts de telles anesthésies (d'environ un facteur 1,7) sans pour autant aggraver les nausées et vomissement post-opératoires[25, 26]. Cependant dans les chirurgies où l'anesthésie loco-régionale est possible, elle semble être moins coûteuse qu'une anesthésie générale associant halogénés et protoxyde d'azote[27].

Les circuits fermés sont par ailleurs reconnus depuis longtemps comme bénéfiques en terme de coût des agents hypnotiques[28, 29]. Une économie de 80% du coût du protoxyde d'azote est envisageable sans compter l'économie induite sur les volumes d'oxygène et les quantités d'hypnotiques[30].

Il faut cependant tenir compte du coût du réseau : système d'alimentation, distribution, débitmètres-mélangeurs, dispositifs de coupure automatique, analyseur d'oxygène (dont la présence s'impose surtout lors de l'utilisation du protoxyde d'azote), système antipollution ainsi que le coût de la maintenance de l'ensemble.

La réduction des coûts de l'anesthésie induite par le protoxyde d'azote en association avec les halogénés ou les agents hypnotiques intraveineux est réelle et devient intéressante principalement en chirurgie ambulatoire de part la pharmacocinétique du protoxyde d'azote dans ces indications et le nombre croissant de ces procédures au sein de nos établissements hospitaliers.

4- Les arguments CONTRE le maintien du Protoxyde d'Azote au bloc opératoire :

- Efficacité anesthésique faible et tolérance aux effets analgésiques :

Le protoxyde d'azote voit son utilisation au bloc opératoire se restreindre ces dernières années. Il existe cependant une grande diversité d'utilisation selon les pays européens, et selon les régions au sein d'un même pays. Cette diversité d'utilisation existe aussi au niveau d'un même centre hospitalier.

Le protoxyde d'azote a des effets controversés sur les monitorages récemment développés de la profondeur d'anesthésie en période peropératoire : index bispectral ou Entropy. Il pourrait être responsable d'une augmentation d'activité électroencéphalographique perturbant le monitoring par opposition à l'action de drogues gaba-ergiques comme le propofol, et donc aboutir à un approfondissement inadapté de l'anesthésie. D'autres auteurs retrouvent une diminution des valeurs relevées lors du monitoring par Entropy lors d'anesthésie au sévoflurane[31, 32]. Face à cette controverse et à l'absence de réel effet indésirable relevés cliniquement et imputables à l'action du protoxyde d'azote sur ce type de monitoring, il est évident que cet argument ne peut actuellement aller à l'encontre du protoxyde d'azote au bloc opératoire[33, 34]. Cependant, de futures études cliniques seront nécessaires afin de mieux évaluer l'impact du protoxyde d'azote sur ces monitorages de la profondeur d'anesthésie.

- Effets indésirables cliniques chez les patients exposés : hémodynamiques, respiratoires, diffusion, hypoxies, NVPO

Hémodynamiques : il a été montré chez l'animal comme chez l'homme que le protoxyde d'azote déprime le baroréflexe[35, 36], et augmente le tonus sympathique[37]. Il présente aussi une action dépressive modérée sur la contractilité des fibres myocardiques[38] dont l'origine serait une modulation du flux calcique entrant[39].

Plus récemment, une étude clinique a modéré l'impact négatif clinique du protoxyde d'azote sur l'équilibre hémodynamique du patient. Cette étude a analysé par échographie transoesophagienne peropératoire l'action du protoxyde d'azote. En diminuant la consommation de propofol et pour un même objectif qualitatif de profondeur d'anesthésie, le protoxyde d'azote limitait les effets hémodynamiques induits par cet agent hypnotique seul (baisse de pression artérielle moyenne, baisse dose dépendante du débit sanguin aortique, débit de pointe aortique et vitesse maximale du débit sanguin aortique)[40]. L'impact clinique positif d'une diminution des effets indésirables hémodynamiques de l'hypnotique grâce à l'adjonction de protoxyde d'azote remet donc en question les effets délétères modérés du protoxyde d'azote seul.

Circulation cérébrale : quand il est administré à 50% avec FiO₂ 30% et en situation de normocapnie, le protoxyde d'azote induit une augmentation du débit sanguin cérébral, du métabolisme cérébral et de la pression intracrânienne[41]. Il est donc déconseillé chez des patients dont la compliance cérébrale est connue ou suspectée d'être basse[41, 42].

Mélanges hypoxiques : il n'existe plus de possibilité d'erreur de connexion des circuits actuellement. De plus, en France, le protoxyde d'azote est rarement prescrit à une concentration inspirée supérieure à 50%. Cette concentration de 50% est d'ailleurs recommandée par certains pour obtenir une action additive optimale avec les agents halogénés[43]. Or, les accidents hypoxiques à cette concentration inspirés sont extrêmement rares. De plus, les nouvelles techniques de monitoring associées à l'avènement d'une réglementation dans ce domaine (analyseur O₂ inspiré obligatoire) ont rendus ces événements anecdotiques.

Diffusion au sein des cavités closes : le protoxyde d'azote est 30 fois plus diffusible que l'azote ! Au cours d'une anesthésie générale, l'azote a tendance à quitter l'organisme. Le protoxyde d'azote remplit les cavités closes plus vite que l'azote n'en sort : d'où une distension des cavités expansibles (tube digestif, plèvres etc.) ou une augmentation des pressions dans les cavités rigides (sinus, oreille moyenne) après environ 30mn d'exposition. En modélisation in vitro, le protoxyde d'azote, comme le xénon, induisent une augmentation des volumes des bulles de gaz[44]. En pratique clinique de chirurgie cardiaque, le protoxyde d'azote induit une augmentation significative de la taille de bulles lorsqu'on le compare à l'azote ou au xénon[45]. En chirurgie générale, une exposition au protoxyde d'azote (50%) d'une durée médiane de 120mn induisait chez 48% des patients des altérations postopératoires de la pression dans l'oreille moyenne évaluée par tympanométrie par rapport à une évaluation préopératoire[46]. En ophtalmologie, d'autres gaz (gaz C₃/F₈) sont utilisés pour chirurgie du vitré : le protoxyde d'azote, même administré à distance de la chirurgie avec C₃/F₈, peut augmenter le volume des bulles de gaz résiduelles et donc augmenter la pression intravitréenne et donc aboutir dans certains cas à des lésions irréversibles au niveau rétinien[47]. En chirurgie digestive, le protoxyde d'azote a été accusé d'induire une augmentation de volume des anses digestives et donc de contribuer à augmenter les difficultés chirurgicales lors de la fermeture de la paroi abdominale. La distension digestive et notamment colique apparaît pour certains chez 9 à 23% des patients opérés sous protoxyde d'azote[48]. Mais l'incidence de ces distensions et leurs conséquences cliniques restent à l'heure actuelle controversées. Certains auteurs rapportent l'absence de différence dans l'incidence de la distension colique dans sa durée ainsi que dans le temps de reprise de transit des patients[49]. Une méta-analyse très récente sur ce sujet ne retrouvait pas non plus de différence significative en chirurgie digestive quant aux effets indésirables causés par la distension au protoxyde d'azote : distension temps d'exposition dépendante, mais pas de gêne chirurgicale en fin d'intervention, pas de retard de reprise de transit ni de retard à la décharge de l'hôpital[50]. En conclusion, le protoxyde d'azote induit une distension des anses digestives mais qui reste la plupart du temps sans aucune conséquence clinique.

Cependant, les diverses observations cliniques sus-citées ont fait poser certaines contre-indications à l'utilisation du protoxyde d'azote en peropératoire : chirurgie de l'oreille moyenne, chirurgie ophtalmologique, traumatisme thoracique avec risque de pneumothorax, sinus faciaux non communiquant avec les voies aériennes, occlusions digestives et éviscération.

Quant aux effets sur la pression régnant dans les ballonnets des dispositifs médicaux, celle-ci doit être monitorée quel que soit le dispositif[51-53] et notamment quand les ballonnets sont en matière polyuréthane très fine par rapport au PVC classique[54, 55]. Un nouveau prototype de valve devrait peut être voir le jour pour éviter les effets de surpressions dues à la diffusion des gaz comme le protoxyde d'azote[55]. Le monitoring adapté des pressions et nouveaux dispositifs de sécurité de surpression font de la prescription du protoxyde d'azote en peropératoire une pratique clinique à risque minime pour le patient.

Explosions : le mélange méthane + hydrogène d'une perforation digestive induit un risque d'explosion[56]. Le protoxyde d'azote est un comburant : les bonnes pratiques cliniques édictées depuis longtemps soulignent l'éviction du protoxyde d'azote si l'acte chirurgical ne peut se passer d'un laser ou d'un bistouri électrique proche de zones susceptibles de contenir du protoxyde d'azote qui aurait diffusé[57].

NVPO : dire que le protoxyde d'azote augmente le risque de nausées et vomissements postopératoires (NVPO) semble une vérité acquise par tous depuis de nombreuses années[58, 59]. Cette augmentation de l'incidence des NVPO est plus importante en chirurgie gynécologique[60, 61]. Une étude récente a mis en évidence la relation entre l'augmentation des pressions dans l'oreille moyenne et l'incidence des NVPO : chez 27 patients qui ont une arthroscopie du genou sous anesthésie générale avec ou sans protoxyde d'azote, l'incidence des NVPO était de 6/16 (37%) pour le groupe protoxyde d'azote *versus* 2/11 (18%) pour le groupe air, et cette incidence était corrélée à une augmentation des pressions dans l'oreille moyenne majorée dans le groupe protoxyde d'azote[62]. Les NVPO après exposition peropératoire au protoxyde d'azote sont un argument en défaveur du protoxyde d'azote. Mais les auteurs de méta-analyses font cependant remarquer que l'éviction du protoxyde d'azote ne permet pas une réduction drastique des NVPO à elle seule. Une gestion en période peropératoire adaptée de l'anesthésie et l'adjonction d'un traitement préventif visant à limiter les NVPO pourrait très simplement éviter cet effet indésirable du protoxyde d'azote : les NVPO ne semblent alors pas être un argument majeur motivant le retrait de cet agent au bloc opératoire.

- Toxicité (figure 3) :

Agent inodore, incolore, le protoxyde d'azote a été trop longtemps considéré comme dépourvu d'effets indésirables. Il faut rappeler que cet agent d'anesthésie, comme certaines anciennes drogues anesthésiques, n'avaient pas fait l'objet initialement d'enquêtes expérimentales et cliniques autorisant leur mise sur le marché. Le protoxyde d'azote n'a reçu son AMM en France pour le bloc opératoire qu'en 2001 et en 2002 pour le mélange équimolaire protoxyde d'azote/oxygène (50%/50%) (Air Liquide, France). L'apparition dans la littérature de signes de toxicité imputables au protoxyde d'azote a obligé la communauté d'anesthésie à réviser et adapter les indications du protoxyde d'azote en pratique clinique[63].

Une inactivation d'environ 30 à 50% de la méthionine-synthétase est observée précocement au bout d'une heure à trois heures d'exposition aussi bien au niveau des cellules hépatiques que cérébrales, chez l'homme comme chez l'animal[64, 65]. L'inactivation de la méthionine-synthétase donne cliniquement un syndrome identique à un déficit en vitamine B12 (syndrome neuro-anémique ou anémie de Biermer). Cependant, ces conséquences cliniquement identifiables n'apparaissent qu'en cas d'exposition prolongée[66-68]. L'inhibition de cette activité enzymatique (MS) induit une augmentation des taux sériques de méthylcystéine et/ou homocystéine, une chute de ceux de L-méthionine et un défaut qualitatif et quantitatif de la synthèse d'ADN[69, 70]. Chez l'animal, il faut 6 heures d'exposition au protoxyde d'azote pour obtenir la disparition complète de l'activité enzymatique[71-74]. En clinique, l'administration de protoxyde d'azote inférieure à 6 heures à des sujets normaux ne s'accompagne pas d'anomalie morphologique des cellules hématopoïétiques[75]. Mais après 12 heures d'anesthésie, les anomalies morphologiques sont présentes chez 5 sur 6 patients, et le test de suppression à la déoxy-uridine (dU test) est anormal[75]. Ce test témoin du blocage de l'activité enzymatique est altéré pendant une période n'excédant cependant pas 12h[75].

Toxicité hématologique : la synthèse d'ADN est dénaturée par le protoxyde d'azote. Le retentissement le plus précoce a lieu au niveau de cellules à renouvellement rapide : les cellules hématopoïétiques sous la forme la plus fréquente : anémie mégalo-blastique identique aux déficits chroniques en vitamine B12. Aucun retentissement hématologique clinique n'est identifiable dans des conditions d'utilisation clinique normale du protoxyde d'azote. Il est par contre rapporté un effet délétère sur l'hématopoïèse lors d'administrations prolongées et continue chez des patients souffrant de tétanos, pratique thérapeutique actuellement abandonnée. Ces patients ont développé une granulopénie et/ou une thrombocytopénie et/ou une anémie mégalo-blastique[76]. En administration discontinue mais répétée (intervalles de temps entre deux prises court) le protoxyde d'azote induit des lésions neurologiques (cf chapitres suivant), mais peu de troubles de l'hématopoïèse. Il s'agit le plus souvent de dentistes dont la majorité des cas rapportés dans la littérature présentait une addiction au protoxyde d'azote[66, 77].

La durée d'exposition nécessaire pour induire des anomalies de l'hématopoïèse varie dans la littérature en fonction du terrain et du mode d'exposition. La moelle osseuse normale contient une réserve de leucocytes matures suffisante pour plusieurs jours. De plus la synthèse de méthionine et ADN reprend 3 à 4 jours après l'arrêt d'exposition au protoxyde d'azote. Ceci explique que dans une pratique clinique courante en

suivant les règles d'utilisation du protoxyde d'azote, il n'apparaît pas de modifications notables hématologiques après anesthésie[78]. L'accent doit pourtant être porté sur les anesthésies itératives : moduler l'utilisation du protoxyde d'azote et dépister soigneusement les anomalies biologiques en cas d'anesthésies répétées à intervalle de temps inférieur à une semaine[66].

Le protoxyde d'azote peut, par son action sur l'hématopoïèse, avoir pour conséquence une immuno-suppression. Ceci a été bien démontré in vitro[79], mais reste sans conséquence clinique patente comme le démontre une récente étude multicentrique randomisée concernant 418 patients ayant bénéficié ou non du protoxyde d'azote pour chirurgie colique : le groupe protoxyde d'azote présentait moins d'infection de paroi en post-opératoire que le groupe contrôle sans protoxyde d'azote (15 versus 20% respectivement)[80].

Chez les donneurs de moelle lors de prélèvement, il a été suggéré que le protoxyde d'azote soit évité. Certains avancent la présence de stigmates biologiques d'atteinte de synthèse d'ADN dans les cellules prélevées[81], mais d'autres ne rapportent aucune différence de viabilité des cellules prélevées si le patient donneur reçoit du protoxyde d'azote[82]. Le « principe de précaution » doit être appliqué chez ces patients donneurs.

Enfin, si la toxicité hématologique est peu parlante en pratique clinique quotidienne, il semble que le dépistage des sujets à risque soit recommandé par tous (sujets dénutris porteurs de néoplasie, patient présentant une intoxication alcoolique chronique, patient carencé en folate ou B12 etc.). Chez les sujets débilisés ou carencés, il existe des modifications sanguines mineures après 2 à 6 heures d'exposition. Le protoxyde devrait donc être évité chez ces patients. Certains auteurs rapportent cependant tout l'intérêt d'un traitement prophylactique par acide folique ou vitamine B12 chez ces patients carencés pour éviter l'apparition de troubles hématologiques[83]. Une telle carence peut être détectée par une diminution des concentrations plasmatiques d'homocystéine ou de MTHF (figure 3). L'homocystéinémie augmente après protoxyde d'azote[84-86]. Cette augmentation est aussi contrée par l'utilisation d'un complexe vitaminique B oral (folates 2.5mg ; B6 25mg ; B12 500µg) administré préventivement avant l'exposition au protoxyde d'azote[85, 86].

Toxicité neurologique : administré au long court, le protoxyde d'azote induit une altération des gaines de myéline, d'où un risque d'atteinte du système nerveux central et des nerfs périphériques : polyneuropathie sensitivo-motrices avec atteinte des cordons postérieurs et latéraux de la moelle par démyélinisation des fibres longues. Ces atteintes neurologiques apparaissent principalement chez les toxicomanes au protoxyde d'azote[87, 88]. Cependant, comme pour la toxicité hématologique, il existe un risque accru d'atteinte neurologique démyélinisante après exposition unique au protoxyde d'azote chez les patients porteurs d'un déficit en vitamine B12[89]. Quelques cas exceptionnels de déficits neurologiques sévères tardifs ont été décrits après anesthésie de routine de plus de 90 min chez des patients souffrant d'avitaminose B12 asymptomatique et donc méconnue en pré-opératoire[90]. Un très récent cas clinique rapportait une aggravation d'une neuropathie diabétique chez un patient carencé en vitamine B12, 8 semaines après 11 heures d'exposition au protoxyde d'azote pour une exploration vasculaire périphérique suivie d'une amputation[91]. Ce cas clinique suggère que le risque de toxicité neurologique est faible si les réserves en vitamine B12 sont normales, mais la vitamine B12 plasmatique peut parfois être normale, et il faut alors penser à doser dans le plasma l'homocystéine qui peut être un indicateur plus sensible de l'oxydation de la vitamine B12.

Le niveau d'homocystéinémie plasmatique est un bon marqueur en cas de suspicion de toxicomanie au protoxyde d'azote alors que la vitamine B12 peut être peu diminuée. Un traitement par cobalamine peut reverser les effets neurologiques chez ces patients[92].

Il est également rapporté une ataxie, des troubles proprioceptifs sévères et une lésion de la corne dorsale de la moelle à l'IRM suite à un excès (1280 l/semaine) de protoxyde d'azote lors d'administrations répétées (soins et nursing à domicile après chirurgie digestive lourde chez un homme de 21 ans). Ce patient présentait une carence en vitamine B12 dont la malabsorption était l'étiologie retenue. Une normalisation des signes neurologiques s'est faite sous vitamine B12 en 3 mois. Mais ce cas pose là aussi la question des expositions itératives chez des patients carencés en cobalamines[93].

Un dernier cas relatait des effets indésirables neurologiques à type de myélopathie diffuse (parésies des membres supérieurs, paraplégie des extrémités basses et vessie neurologique) chez un homme de 52 ans qui avait bénéficié d'une cure de hernie discale cervicale sous protoxyde d'azote (50%) pendant 200 minutes, puis d'une nouvelle exposition au gaz de 105 minutes lors d'une seconde intervention à 8 semaines d'intervalle. Ces symptômes neurologiques disparurent après une cure d'acide folique et vitamine B12. Au bilan biologique : l'analyse ADN rapportait un polymorphisme dans le gène MTHFR codant pour l'isoforme 5,10-méthylentetrahydrofolate réductase (MTHFR)[94].

En conséquence, sur un plan pratique, comme pour la toxicité hématologique, il est nécessaire d'éviter l'exposition longue au protoxyde d'azote (>6hs) chez les sujets à risque (dénutris, néoplasie, intoxication

alcoolique etc.). Toute suspicion de carence justifie un dépistage (homocystéinémie, vitamine B12 plasmatique, analyse ADN du gène codant pour MTHFR) associé à un traitement préventif préopératoire en vitamine B12 et folates devrait éviter les effets néfastes du protoxyde d'azote au niveau de la gaine de myéline.

Infertilité et tératogénèse : le rôle du protoxyde d'azote sur la synthèse d'ADN foetal et l'induction d'anomalies chromosomiques a fait longtemps dire que ce gaz était responsable d'une réduction de fertilité des personnels exposés, notamment assistantes dentaires et dentistes[95]. Une étude récente a rapporté que le protoxyde d'azote diminuait l'action des neurones à GnRH (gonadotropin-releasing factor hormone) impliqués dans la fonction gonadique pituitaire (diminution de libération de GnRH et de synthèse de l'ARNm-GnRH) et pourrait expliquer le fait que les femmes exposées au travail sans système de dépollution (chirurgie dentaire notamment) ont une fertilité réduite[96]. De plus si les ponctions d'ovocytes pour procréation assistée sont réalisées sous anesthésie générale, et notamment avec protoxyde d'azote, *versus* ALR, il faut noter moins de grossesses à terme, mais pas de différence dans le nombre ou la qualité des embryons réimplantés[97]. D'où par « principe de précaution », l'éviction du protoxyde d'azote lors de procréation médicalement assistée par la majorité des auteurs. Cependant, une étude multicentrique plus récente (cohorte de 455 patientes) ne retrouve pas de risque imputable au protoxyde d'azote prescrit au cours de la procédure de procréation médicalement assistée[98]. Faut-il remettre en cause le « principe de précaution » quant au protoxyde d'azote dans ces indications ?

Une autre enquête épidémiologique suédoise remettait en question le rôle du protoxyde d'azote dans l'augmentation des fausses-couches et la baisse de fertilité chez 3985 sages-femmes : les horaires de travail variables et la charge de travail étaient responsables d'une augmentation des fausses-couches, mais pas l'exposition au protoxyde d'azote[99].

Le protoxyde d'azote est tératogène à partir de 500ppm pendant 24h d'exposition chez le rongeur. Chez la femme, le taux d'avortements spontanés semble augmenter dans la population exposée. Mais à moins de 500ppm, comme dans les conditions classiques de bloc opératoire, les risques tératogènes ne semblent pas différents entre populations exposées ou non. Le protoxyde d'azote avait été contre-indiqué en cas de grossesse de moins de 16 SA, puis jusqu'au 2ème trimestre de gestation. Cependant certaines études rapportent une grande improbabilité d'un effet foetal néfaste lorsque les durées d'inhalations sont celles d'un acte opératoire avec des systèmes de ventilation adéquates[100]. Pour certains auteurs, l'administration de protoxyde d'azote à la femme enceinte n'est plus contre-indiqué[101-103].

En fin de grossesse, le protoxyde d'azote diffuse à travers la barrière foeto-maternelle de façon temps-dépendante et plus lente que chez la mère. Le score APGAR des enfants issus de ces césariennes est moins affecté quand l'administration de protoxyde d'azote est courte (intervalle entre induction protoxyde d'azote et accouchement)[104].

Autres toxicités : blocage des récepteurs N-méthyl-D-Aspartate (NMDA)[16]. Des études expérimentales réalisées notaient des effets excito-toxiques et une dégénérescence des cellules neuronales dépendant de l'âge de l'animal exposé à de fortes concentrations de protoxyde d'azote non atteintes en condition normobare en clinique quotidienne[105-107]. Ces observations faisaient poser la question d'une augmentation des troubles cognitifs post-opératoires du sujet âgé imputables à l'utilisation du protoxyde d'azote, mais aucune certitude clinique n'a pu être apportée à ce jour. Le fait que les effets néfastes du protoxyde d'azote sont antagonisés par la co-administration de drogues anticholinergiques ou agonistes des récepteurs GABA (comme la majorité des agents de l'anesthésie) explique le large index thérapeutique du protoxyde d'azote chez la majorité des sujets[108].

- Pollution au bloc opératoire et en salles de soins :

La pollution du bloc opératoire due au protoxyde d'azote aboutit à des concentrations élevées du site si : administration au masque facial, renouvellement d'air insuffisant, absence de système antipollution efficace. Elle entraîne alors un risque pour le personnel utilisateur[109, 110]. Les cas d'intoxication par pollution au protoxyde d'azote ont le plus souvent été rapportés en chirurgie dentaire et chez les sages-femmes[111] dans des prescriptions ne respectant pas les normes de sécurité en vigueur et recommandées actuellement. Mais chez les chirurgiens dentistes, la plupart des troubles neurologiques rapportés l'étaient chez des soignants aussi toxicomanes au protoxyde d'azote, avec un taux moyen d'exposition supérieur au taux minimal permis par la législation (100ppm) : environ 200 à 4000 ppm[87]. En France, la législation impose toujours un seuil maximal d'exposition à 25ppm. Ce taux est peu réaliste et a été remonté à 100 ppm au Royaume-Uni et en Scandinavie. Ce seuil maximal est cependant parfois dépassé en cas d'induction d'anesthésie au masque (surtout en pédiatrie)[112-114], en l'absence de connection à un circuit d'évacuation des agents inhalés[115]. Un monitoring adéquat a permis d'évaluer les risques encourus par le personnel soignant.

De nos jours, la pollution par le protoxyde d'azote au bloc opératoire est minime car il existe des normes d'utilisation, de ventilation et de récupération qui ne permettent pas de mettre actuellement en évidence d'effet délétère comme certaines études antérieures. Les cartouches absorbantes ne retiennent pas le protoxyde d'azote. Les systèmes antipollution doivent éliminer le protoxyde d'azote et les vapeurs des anesthésiques halogénés à l'extérieur du bâtiment. Des études très récentes ont fait la preuve de leur efficacité[116, 117]. Des circuits particuliers comme l'utilisation de « valves à la demande » permettent de limiter la pollution environnementale autour du patient exposé au protoxyde d'azote[118]. Les normes de ventilation actuelles permettant un renouvellement d'air (apport d'air neuf) d'au moins 15 volumes par heure dans un bloc opératoire minimisent le risque pour le personnel travaillant dans ces structures (Société française d'anesthésie et réanimation. Recommandations faites pour l'équipement d'un site ou d'un ensemble de sites d'anesthésie. Paris : SFAR, 1995).

- Pollution atmosphérique :

Biotransformation et biodégradation du protoxyde d'azote sont très lentes, et la demi-vie du gaz dans l'atmosphère est évaluée entre 100 et 150 ans. Il détruit la couche d'ozone qui nous protège des radiations ultraviolettes du soleil et favorise l'effet de serre en association avec le CO₂. Il favorise donc le réchauffement climatique en réalisant une barrière à l'évacuation des radiations thermiques terrestres[119]. Les couches de gaz imperméables aux infrarouges émis par la terre sont constituées de CO₂ (60%), méthane (20%), CFC (13%) et N₂O (6%). Les rayons ultraviolets émis par le soleil pénètrent les trous de la couche d'ozone et dégradent le protoxyde d'azote présent en 2 composés toxiques : NO (oxyde nitreux) et NO₂ (oxyde nitrique) qui à leur tour attaquent la couche d'ozone et la détériore. Le protoxyde d'azote d'origine médicale ne représente environ que 10% de cette pollution qui est principalement due aux engrais utilisés en agriculture intensive. 90% proviennent de la dégradation bactérienne des nitrates agricoles, des processus de décomposition biologiques des produits organiques dans la nature, ainsi que de l'industrie chimique produisant des fertilisants et du protoxyde d'azote médical[120]. De plus les particules dites « ultrafines » (moins de 10 µm de diamètre ; N₂O, NO, CO) ont été rapportées comme responsables d'une augmentation des problèmes de santé (oxydation des purines) chez des sujets soumis à des expositions urbaines de pollution[121].

Nous disposons actuellement de moyens en anesthésie permettant de limiter cette pollution atmosphérique en limitant la quantité de gaz rejetée : les nouveaux matériels de ventilation avec très faible débit de gaz frais réduisent au minimum la quantité de protoxyde utilisée pour un même effet thérapeutique. Ils réduisent aussi le coût des anesthésies pratiquées sous agents inhalés. Si l'argument écologique peut dissuader certains de l'utilisation du protoxyde d'azote, cet argument devient moins prédominant si l'on considère une prescription du protoxyde d'azote selon les bonnes pratiques d'anesthésie. Le protoxyde d'azote en dehors du bloc opératoire n'est pas le sujet de cette conférence, mais doit par contre aussi être strictement régi par la connaissance de cette pollution atmosphérique.

5/ Conclusion :

Le protoxyde d'azote est un adjuvant de l'anesthésie générale qui reste utile et diminue le coût global des autres agents. Il a reçu l'autorisation de mise sur le marché en France en 2001. Le regain d'intérêt pour cet ancêtre de l'anesthésie vient non seulement des récents travaux explicitant ses caractéristiques analgésiques[6, 7], mais aussi de ses propriétés anti-NMDA[16]. Ces dernières lui confèrent une capacité à réduire drastiquement les phénomènes d'allodynie et d'hyperalgésie postopératoires mais aussi la tolérance aiguë à la morphine après un geste chirurgical réalisé sous fortes doses d'opioïdes[17]. De plus certains travaux en cours de publication ont démontré le rôle préventif du protoxyde d'azote à long terme quant au développement d'une plasticité neuronale à l'origine d'hypersensibilités à la douleur lors d'événements douloureux itératifs.

Certes le protoxyde d'azote présente des inconvénients en terme de toxicité pour le patient comme pour le personnel exposé, de pollution de bloc opératoire et atmosphérique, et d'effets indésirables. Cependant, tous ses inconvénients peuvent être minimisés voire supprimés par un certain nombre de précautions et le respect de ses contre-indications.

Bien que la question de son abandon ait été posée[122], on ne dispose actuellement pas d'arguments suffisants pour son abandon et de nombreuses évaluations ont conclu en faveur de son maintien[109, 123, 124]. Les solutions alternatives au protoxyde d'azote ont-elles aussi leurs limites en terme de coût et d'effets indésirables, et ne sont pour la plupart qu'au stade de développement ou d'évaluation clinique. Le xénon est un gaz anesthésique prometteur mais dont le coût d'utilisation reste à évaluer ainsi que son utilisation clinique en France où il n'a pas encore reçu d'AMM.

Ainsi, pour aujourd'hui et le futur proche, le maintien du protoxyde d'azote semble justifié. Son utilisation doit suivre les recommandations de bonnes pratiques en anesthésie afin d'en limiter au maximum les effets indésirables pour le patient et l'environnement.

Figure 1 : le protoxyde d'azote induit une activation des neurones opioïdiques dans la substance grise périaqueducule (SGPA). Ces opioïdes libérés agissent sur leurs récepteurs et inhibent l'activation des interneurones inhibiteurs GABA. Il s'ensuit une activation des voies adrénergiques descendantes et une double modulation négative du message nociceptif au niveau spinal et sur le neurone de 2° ordre des voies nociceptives ascendantes : action directe par le biais des $\alpha 2$ récepteurs, et indirecte par l'action d'interneurones GABA. L'analgésie induite par le protoxyde d'azote ferait donc bien intervenir à la fois les opioïdes endogènes et les voies modulatrices descendantes. Adapté d'après Dawson C. et al, Anesthesiology 2004 [7]. GABA : γ -aminobutyric acid ; « R » : pour récepteur ; NA : noradrénaline ; ExNT : neurotransmetteur excitateur ; Op : opioïde.

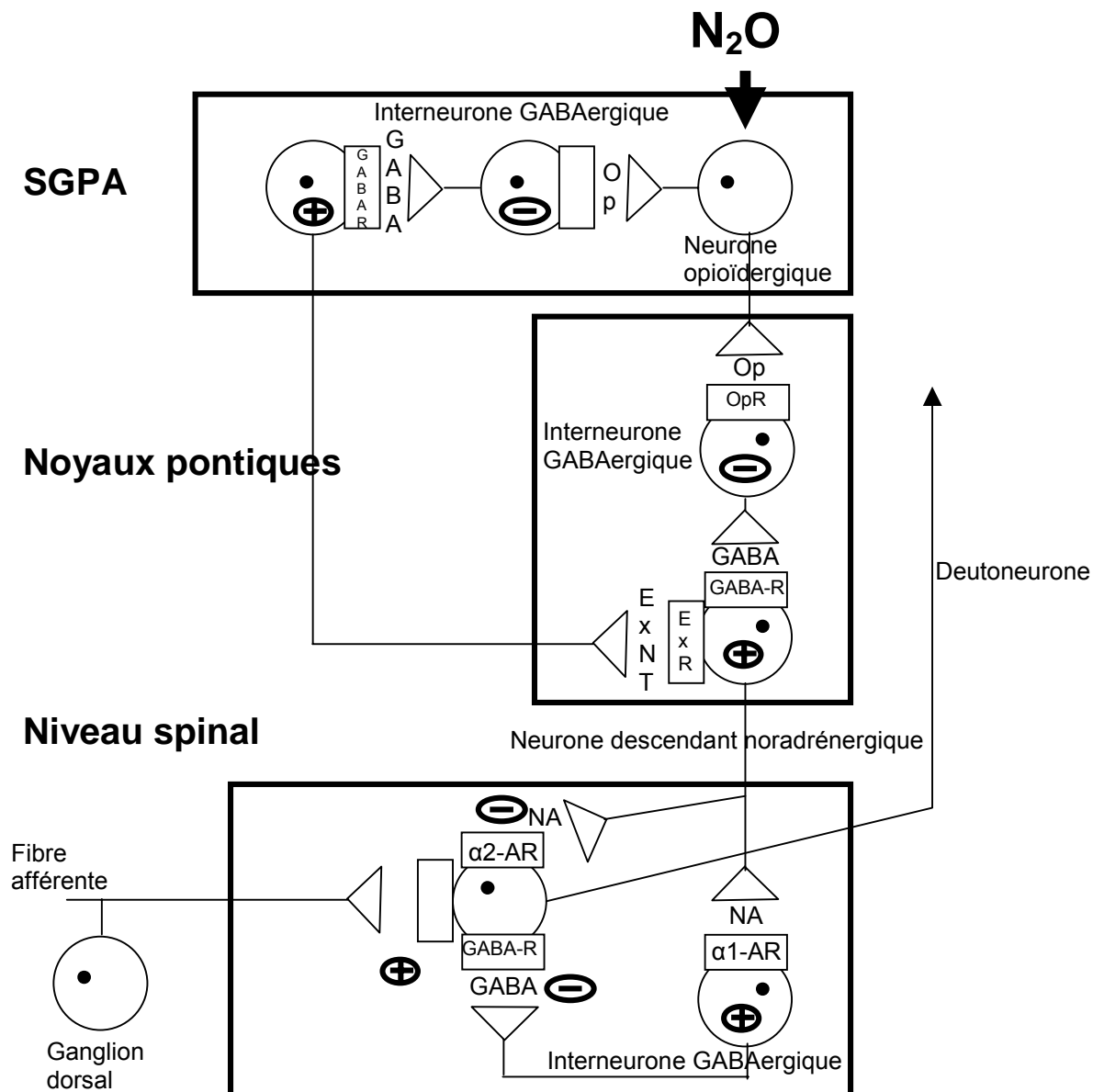


Figure 2 : Schéma neurobiologique des effets des analgésiques opioïdes : représentation schématique de l'hypothèse selon laquelle les substances opioïdes seraient capables d'activer non seulement des systèmes inhibiteurs de la nociception (analgésie), mais aussi des systèmes facilitateurs de la nociception (hyperalgésie, allodynie) via la mise en jeu des récepteurs NMDA. L'effet analgésique d'une première administration d'une substance opioïde serait la résultante du fonctionnement de ces deux systèmes opposés[125].

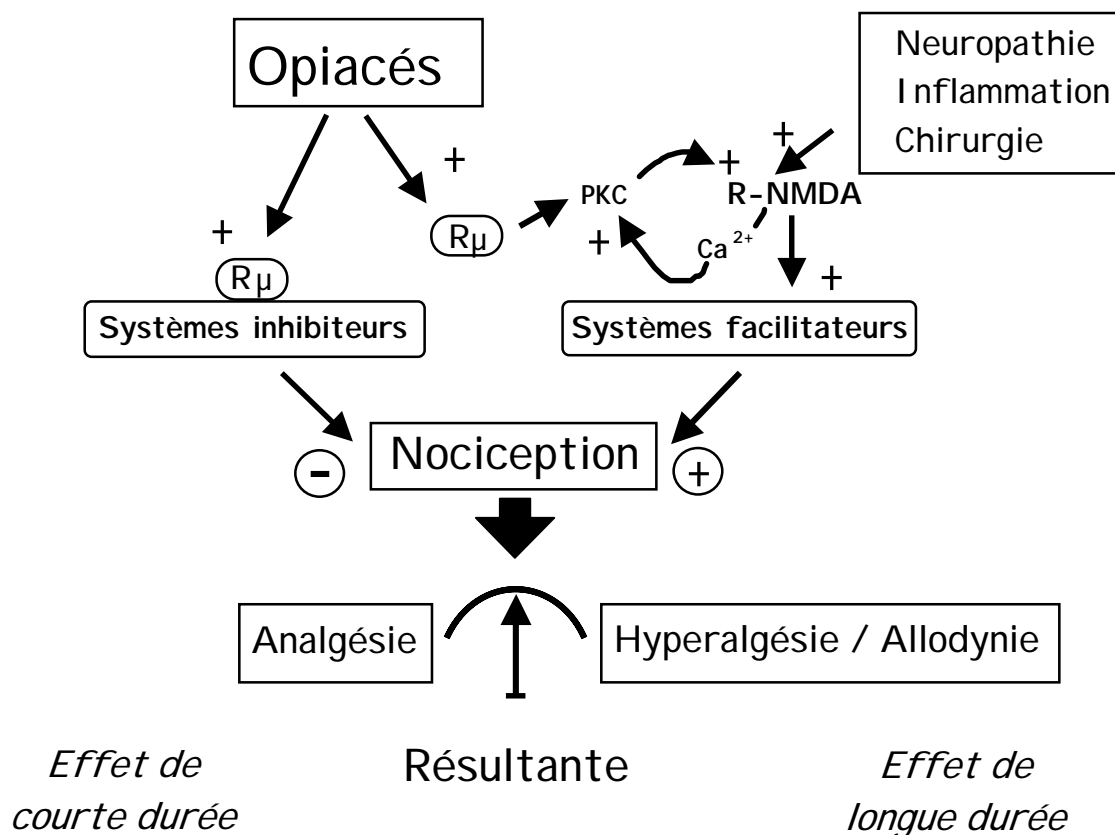
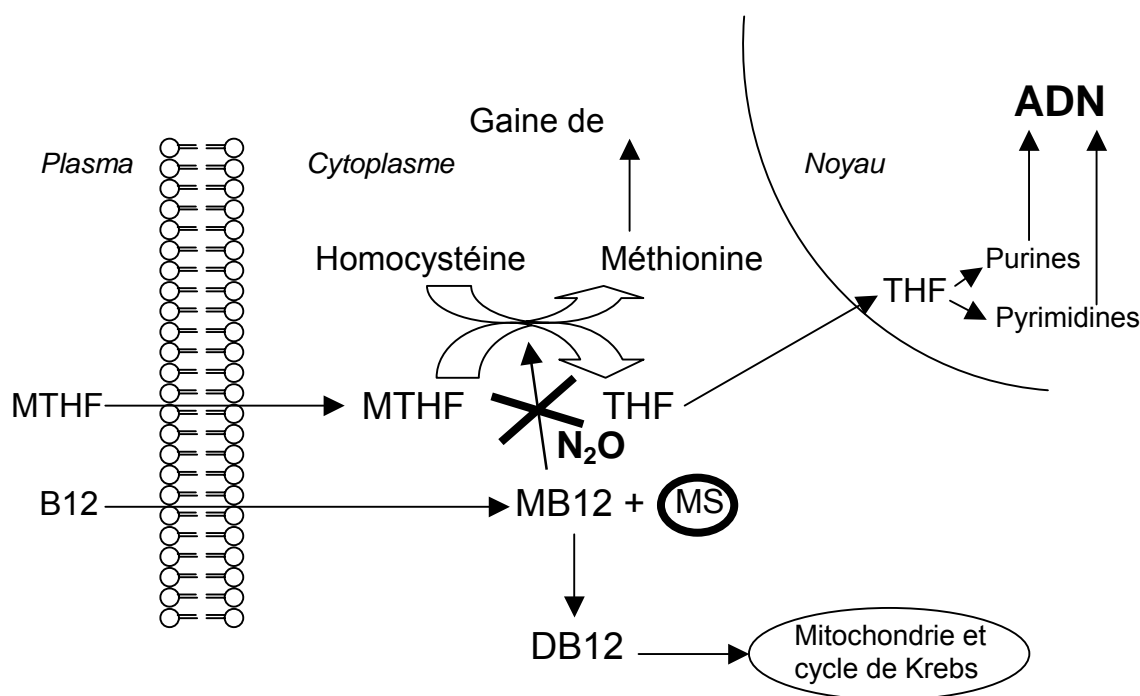


Figure 3 : Mécanisme de la toxicité d'origine enzymatique : La vitamine B12 ou cobalamine est transformée en méthylcobalamine (MB12) dans le cytoplasme où elle interagit avec l'enzyme méthionine-synthétase (MS). Ce complexe MB12 et MS active la transformation de méthyltetrahydrofolate (MTHF) en tétrahydrofolate (THF) et aussi de l'homocystéine en méthionine. La méthionine participe à la synthèse des gaines de myéline, le THF à la synthèse des bases nécessaires à l'élaboration nucléaire d'ADN. D'autre part, la deoxyadenosylcobalamine (DB12) est une autre coenzyme de la vitamine B12. Elle intervient dans la synthèse du succinyl coenzyme A qui joue un rôle prépondérant dans le cycle de krebs au sein des mitonchondries. Le protoxyde d'azote inactive MB12 par oxydation de l'ion cobalt qu'elle contient et empêche MB12 de jouer son rôle de cofacteur de MS (Nunn JF livre 1985 + endnote ; Guttormsen AB AAS 1994). Ceci bloque les différentes cascades de synthèse d'éléments majeurs pour la cellule [89].



Références

1. Chapman, W.P., J.G. Arrowood, and H.K. Beecher, *The analgesic effects of low concentration of nitrous oxide compared in man to morphine*. J Clin Invest, 1943. 22: p. 871-875.
2. Ruprecht, J., et al., *Tolerance to nitrous oxide in volunteers*. Acta Anaesthesiol Scand, 1985. 29(6): p. 635-8.
3. Ramsay, D.S., et al., *Nitrous oxide analgesia in humans: acute and chronic tolerance*. Pain, 2005. 114(1-2): p. 19-28.
4. Quock, R.M., F.J. Kouchich, and L.F. Tseng, *Does nitrous oxide induce release of brain opioid peptides?* Pharmacology, 1985. 30(2): p. 95-9.
5. Maze, M. and M. Fujinaga, *Recent advances in understanding the actions and toxicity of nitrous oxide*. Anaesthesia, 2000. 55(4): p. 311-4.
6. Ohashi, Y., et al., *Brain stem opioidergic and GABAergic neurons mediate the antinociceptive effect of nitrous oxide in Fischer rats*. Anesthesiology, 2003. 99(4): p. 947-54.
7. Dawson, C., et al., *Dexmedetomidine enhances analgesic action of nitrous oxide: mechanisms of action*. Anesthesiology, 2004. 100(4): p. 894-904.
8. Quock, R.M. and L.K. Vaughn, *Do inhalation general anesthetic drugs induce the neuronal release of endogenous opioid peptides?* Life Sci., 2005. 77(21): p. 2603-10.
9. Brennan, T.J., E.P. Vandermeulen, and G.F. Gebhart, *Characterization of a rat model of incisional pain*. Pain, 1996. 64(3): p. 493-501.
10. Stubhaug, A., *A new method to evaluate central sensitization to pain following surgery. Effect of ketamine*. Acta Anaesthesiol Scand Suppl, 1997. 110: p. 154-5.
11. Joly, V., et al., *Remifentanyl-induced postoperative hyperalgesia and its prevention with small-dose ketamine*. Anesthesiology, 2005. 103(1): p. 147-55.
12. De Kock, M., P. Lavand'homme, and H. Waterloos, *'Balanced analgesia' in the perioperative period: is there a place for ketamine?* Pain, 2001. 92(3): p. 373-80.
13. Macrae, W.A., *Chronic pain after surgery*. British Journal of Anaesthesiology, 2001. 87(1): p. 88-98.
14. Laulin, J.P., et al., *The role of ketamine in preventing fentanyl-induced hyperalgesia and subsequent acute morphine tolerance*. Anesth Analg, 2002. 94: p. 1263-9.
15. Richebe, P., et al., *Ketamine improves the management of exaggerated postoperative pain observed in perioperative fentanyl-treated rats*. Anesthesiology, 2005. 102(2): p. 421-8.
16. Jevtovic-Todorovic, V., et al., *Nitrous oxide (laughing gas) is an NMDA antagonist, neuroprotectant and neurotoxin*. Nat Med, 1998. 4(4): p. 460-3.
17. Richebe, P., et al., *Nitrous Oxide revisited: evidence for potent ant-hyperalgesic properties*. Anesthesiology, 2005. 103(4): p. 845-54.
18. Dwyer, R., et al., *Effects of isoflurane and nitrous oxide in subanesthetic concentrations on memory and responsiveness in volunteers*. Anesthesiology, 1992. 77(5): p. 888-98.
19. Albertin, A., et al., *The effect of adding nitrous oxide on MAC of sevoflurane combined with two target-controlled concentrations of remifentanyl in women*. Eur J Anaesthesiol., 2005. 22(6): p. 431-7.
20. Davidson, J.A., et al., *Effective concentration 50 for propofol with and without 67% nitrous oxide*. Acta Anaesthesiol Scand., 1993. 37(5): p. 458-64.
21. Lichtor, J.L., B.S. Lane, and M.B. Zimmerman, *Residual sleepiness after N2O sedation: a randomized control trial [ISRCTN88442975]*. BMC Anesthesiol., 2004. 4(1): p. 5.
22. Nakata, Y., et al., *Cost analysis of xenon anesthesia: a comparison with nitrous oxide-isoflurane and nitrous oxide-sevoflurane anesthesia*. J Clin Anesth., 1999. 11(6): p. 477-81.
23. Jakobsson, I., M. Heidvall, and S. Davidson, *The sevoflurane-sparing effect of nitrous oxide: a clinical study*. Acta Anaesthesiol Scand., 1999. 43(4): p. 411-4.
24. Visser, K., et al., *Randomized controlled trial of total intravenous anesthesia with propofol versus inhalation anesthesia with isoflurane-nitrous oxide: postoperative nausea with vomiting and economic analysis*. Anesthesiology., 2001. 95(3): p. 616-26.
25. Tang, J., et al., *Use of propofol for office-based anesthesia: effect of nitrous oxide on recovery profile*. J Clin Anesth., 1999. 11(3): p. 226-30.
26. Heath, K.J., et al., *Nitrous oxide reduces the cost of intravenous anaesthesia*. Eur J Anaesthesiol., 1996. 13(4): p. 369-72.
27. Li, S., et al., *Comparison of the costs and recovery profiles of three anesthetic techniques for ambulatory anorectal surgery*. Anesthesiology., 2000. 93(5): p. 1225-30.
28. Nathan, N., et al., *[Infusion of propofol or closed-circuit isoflurane. A study of cost]*. Ann Fr Anesth Reanim, 1993. 12(6): p. 571-4.
29. Cotter, S.M., et al., *Low-flow anaesthesia. Practice, cost implications and acceptability*. Anaesthesia., 1991. 46(12): p. 1009-12.
30. Picard, C., et al., *[A comparative study of the cost of open-circuit as opposed to closed-circuit ventilation]*. Cah Anesthesiol, 1992. 40(5): p. 321-32.
31. Hans, P., et al., *Effect of nitrous oxide on the bispectral index and the 95% spectral edge frequency of the electroencephalogram during surgery*. Anaesthesia., 2001. 56(10): p. 999-1002.
32. Hans, P., et al., *Effects of nitrous oxide on spectral entropy of the EEG during surgery under balanced anaesthesia with sufentanil and sevoflurane*. Acta Anaesthesiol Belg, 2005. 56(1): p. 37-43.

33. Sleigh, J.W. and J.P. Barnard, *Entropy is blind to nitrous oxide. Can we see why?* Br J Anaesth., 2004. 92(2): p. 159-61.
34. Doufas, A.G., et al., *Automated responsiveness test and bispectral index monitoring during propofol and propofol/N₂O sedation.* Acta Anaesthesiol Scand., 2003. 47(8): p. 951-7.
35. Ebert, T.J., *Differential effects of nitrous oxide on baroreflex control of heart rate and peripheral sympathetic nerve activity in humans.* Anesthesiology., 1990. 72(1): p. 16-22.
36. Tanaka, M. and T. Nishikawa, *Effects of nitrous oxide on baroreflex gain and heart rate variability.* Acta Anaesthesiol Scand., 2004. 48(9): p. 1163-7.
37. Sellgren, J., J. Ponten, and B.G. Wallin, *Percutaneous recording of muscle nerve sympathetic activity during propofol, nitrous oxide, and isoflurane anesthesia in humans.* Anesthesiology., 1990. 73(1): p. 20-7.
38. Cason, B.A., et al., *Effects of nitrous oxide on coronary pressure and regional contractile function in experimental myocardial ischemia.* Anesth Analg., 1991. 72(5): p. 604-11.
39. Carton, E.G. and P.R. Housmans, *Role of transsarcolemmal Ca²⁺ entry in the negative inotropic effect of nitrous oxide in isolated ferret myocardium.* Anesth Analg., 1992. 74(4): p. 575-9.
40. Shiga, T., et al., *Nitrous oxide produces minimal hemodynamic changes in patients receiving a propofol-based anesthetic: an esophageal Doppler ultrasound study.* Can J Anaesth., 2003. 50(7): p. 649-52.
41. Reinstrup, P. and K. Messeter, *Cerebrovascular response to nitrous oxide.* Acta Anaesthesiol Scand., 1994. 38(8): p. 761-2.
42. Rowney, D.A., R. Fairgrieve, and B. Bissonnette, *The effect of nitrous oxide on cerebral blood flow velocity in children anaesthetised with sevoflurane.* Anaesthesia., 2004. 59(1): p. 10-4.
43. Jeske, A.H., et al., *Noninvasive assessment of diffusion hypoxia following administration of nitrous oxide-oxygen.* Anesth Prog, 2004. 51(1): p. 10-3.
44. Benavides, R., M. Maze, and N.P. Franks, *Expansion of gas bubbles by nitrous oxide and xenon.* Anesthesiology., 2006. 104(2): p. 299-302.
45. Grocott, H.P., et al., *The influence of xenon, nitrous oxide and nitrogen on gas bubble expansion during cardiopulmonary bypass.* Eur J Anaesthesiol., 2005. 22(5): p. 353-8.
46. Teixeira, F.M., S. Tomita, and M.A. Lima, *Evaluation of tympanometric alterations in patients subject to general anesthesia with nitrous oxide.* Rev Bras Otorrinolaringol (Engl Ed). 2005. 71(3): p. 274-280. 2005.
47. Lee, E.J., *Use of nitrous oxide causing severe visual loss 37 days after retinal surgery.* Br J Anaesth., 2004. 93(3): p. 464-6. 2004.
48. Akca, O., et al., *Nitrous oxide increases the incidence of bowel distension in patients undergoing elective colon resection.* Acta Anaesthesiol Scand., 2004. 48(7): p. 894-8.
49. Krogh, B., et al., *Nitrous oxide does not influence operating conditions or postoperative course in colonic surgery.* Br J Anaesth., 1994. 72(1): p. 55-7.
50. Orhan-Sungur, M., C. Apfel, and O. Akca, *Effects of nitrous oxide on intraoperative bowel distension.* Curr Opin Anaesthesiol., 2005. 18(6): p. 620-4.
51. van Zundert, A.A., et al., *Comparison of cuff-pressure changes in LMA-Classic and the new Soft Seal laryngeal masks during nitrous oxide anaesthesia in spontaneous breathing patients.* Eur J Anaesthesiol., 2004. 21(7): p. 547-52.
52. Maino, P., et al., *Nitrous oxide diffusion into the cuffs of disposable laryngeal mask airways.* Anaesthesia., 2005. 60(3): p. 278-82.
53. Asai, T. and K. Shingu, *Time-related cuff pressures of the laryngeal tube with and without the use of nitrous oxide.* Anesth Analg., 2004. 98(6): p. 1803-6.
54. Dullenkopf, A., A.C. Gerber, and M. Weiss, *Nitrous oxide diffusion into tracheal tube cuffs: comparison of five different tracheal tube cuffs.* Acta Anaesthesiol Scand., 2004. 48(9): p. 1180-4.
55. Dullenkopf, A., A.C. Gerber, and M. Weiss, *Nitrous oxide diffusion into tracheal tube cuffs--efficacy of a new prototype cuff pressure release valve.* Acta Anaesthesiol Scand., 2005. 49(8): p. 1072-6.
56. El-Kady, A.A. and M. Abd-El-Razek, *Intraperitoneal explosion during female sterilization by laparoscopic electrocoagulation. A case report.* Int J Gynaecol Obstet, 1976. 14(6): p. 487-8.
57. Bouhours, G., et al., *[Intestinal gas explosion during operation: a case report].* Ann Fr Anesth Reanim., 2003. 22(4): p. 366-8.
58. Divatia, J.V., et al., *Omission of nitrous oxide during anesthesia reduces the incidence of postoperative nausea and vomiting. A meta-analysis.* Anesthesiology., 1996. 85(5): p. 1055-62.
59. Tramer, M., A. Moore, and H. McQuay, *Omitting nitrous oxide in general anaesthesia: meta-analysis of intraoperative awareness and postoperative emesis in randomized controlled trials.* Br J Anaesth., 1996. 76(2): p. 186-93.
60. Vanacker, B.F., *The impact of nitrous oxide on postoperative nausea and vomiting after desflurane anesthesia for breast surgery.* Acta Anaesthesiol Belg, 1999. 50(2): p. 77-81.
61. Apfel, C.C., K. Stoeklein, and P. Lipfert, *PONV: a problem of inhalational anaesthesia? Best Pract Res Clin Anaesthesiol., 2005. 19(3): p. 485-500.*
62. Nader, N.D., G. Simpson, and R.L. Reedy, *Middle ear pressure changes after nitrous oxide anesthesia and its effect on postoperative nausea and vomiting.* Laryngoscope., 2004. 114(5): p. 883-6.
63. Sund Kristensen, H. and P.G. Berthelsen, *Risus sardonius and laughing gas--when nitrous oxide lost its innocence.* Acta Anaesthesiol Scand., 1994. 38(8): p. 751-2.

64. Kondo, H., et al., *Nitrous oxide has multiple deleterious effects on cobalamin metabolism and causes decreases in activities of both mammalian cobalamin-dependent enzymes in rats.* J Clin Invest., 1981. 67(5): p. 1270-83.
65. Koblin, D.D., et al., *Nitrous oxide inactivates methionine synthetase in human liver.* Anesth Analg, 1982. 61(2): p. 75-8.
66. Nunn, J.F., et al., *Megaloblastic haemopoiesis after multiple short-term exposure to nitrous oxide.* Lancet, 1982. 1(8286): p. 1379-81.
67. Gillman, M.A., *Haematological changes caused by nitrous oxide. Cause for concern?* Br J Anaesth., 1987. 59(2): p. 143-6.
68. Koblin, D.D., et al., *Effect of nitrous oxide on folate and vitamin B12 metabolism in patients.* Anesth Analg., 1990. 71(6): p. 610-7.
69. Amos, R.J., et al., *Incidence and pathogenesis of acute megaloblastic bone-marrow change in patients receiving intensive care.* Lancet., 1982. 2(8303): p. 835-8.
70. Amos, R.J., et al., *Investigations into the effect of nitrous oxide anaesthesia on folate metabolism in patients receiving intensive care.* Chemioterapia., 1985. 4(5): p. 393-9.
71. Deacon, R., et al., *Inactivation of methionine synthase by nitrous oxide.* Eur J Biochem., 1980. 104(2): p. 419-23.
72. Deacon, R., et al., *Selective inactivation of vitamin B12 in rats by nitrous oxide.* Lancet., 1978. 2(8098): p. 1023-4.
73. Deacon, R., et al., *The effect of nitrous oxide-induced inactivation of vitamin B12 on serine transhydroxymethylase.* Biochem Biophys Res Commun., 1980. 97(4): p. 1324-8.
74. Perry, J., et al., *The effect of nitrous oxide-induced inactivation of vitamin B12 on the activity of formyl-methenyl-methylenetetrahydrofolate synthetase, methylene-tetrahydrofolate reductase and formiminotetrahydrofolate transferase.* Biochem Biophys Res Commun., 1980. 97(4): p. 1329-33.
75. O'Sullivan, H., et al., *Human bone marrow biochemical function and megaloblastic hematopoiesis after nitrous oxide anesthesia.* Anesthesiology., 1981. 55(6): p. 645-9.
76. Lassen, H.C., et al., *Treatment of tetanus; severe bone-marrow depression after prolonged nitrous-oxide anaesthesia.* Lancet., 1956. 270(6922): p. 527-30.
77. Sahenk, Z., et al., *Polyneuropathy from inhalation of N2O cartridges through a whipped-cream dispenser.* Neurology., 1978. 28(5): p. 485-7.
78. Waldman, F.M., et al., *Hematologic effects of nitrous oxide in surgical patients.* Anesth Analg., 1990. 71(6): p. 618-24.
79. Schneemilch, C.E., et al., *Effects of different anaesthetic agents on immune cell function in vitro.* Eur J Anaesthesiol., 2005. 22(8): p. 616-23.
80. Fleischmann, E., et al., *Nitrous oxide and risk of surgical wound infection: a randomised trial.* Lancet., 2005. 366(9491): p. 1101-7.
81. Carmel, R., A.P. Rabinowitz, and A. Mazumder, *Metabolic evidence of cobalamin deficiency in bone marrow cells harvested for transplantation from donors given nitrous oxide.* Eur J Haematol., 1993. 50(4): p. 228-33.
82. Lederhaas, G., et al., *Is nitrous oxide safe for bone marrow harvest?* Anesth Analg., 1995. 80(4): p. 770-2.
83. Christensen, B., et al., *Preoperative methionine loading enhances restoration of the cobalamin-dependent enzyme methionine synthase after nitrous oxide anesthesia.* Anesthesiology., 1994. 80(5): p. 1046-56.
84. Badner, N.H., et al., *Nitrous oxide-induced increased homocysteine concentrations are associated with increased postoperative myocardial ischemia in patients undergoing carotid endarterectomy.* Anesth Analg., 2000. 91(5): p. 1073-9.
85. Badner, N.H., et al., *The use of intraoperative nitrous oxide leads to postoperative increases in plasma homocysteine.* Anesth Analg., 1998. 87(3): p. 711-3.
86. Badner, N.H., D. Freeman, and J.D. Spence, *Preoperative oral B vitamins prevent nitrous oxide-induced postoperative plasma homocysteine increases.* Anesth Analg., 2001. 93(6): p. 1507-10.
87. Layzer, R.B., *Myeloneuropathy after prolonged exposure to nitrous oxide.* Lancet., 1978. 2(8102): p. 1227-30.
88. Layzer, R.B., R.A. Fishman, and J.A. Schafer, *Neuropathy following abuse of nitrous oxide.* Neurology., 1978. 28(5): p. 504-6.
89. Flippo, T.S. and W.D. Holder, Jr., *Neurologic degeneration associated with nitrous oxide anesthesia in patients with vitamin B12 deficiency.* Arch Surg, 1993. 128(12): p. 1391-5.
90. Hadzic, A., et al., *Severe neurologic deficit after nitrous oxide anesthesia.* Anesthesiology., 1995. 83(4): p. 863-6.
91. Ahn, S.C. and A.W. Brown, *Cobalamin deficiency and subacute combined degeneration after nitrous oxide anesthesia: a case report.* Arch Phys Med Rehabil., 2005. 86(1): p. 150-3.
92. Waclawik, A.J., et al., *Myeloneuropathy from nitrous oxide abuse: unusually high methylmalonic acid and homocysteine levels.* Wmj, 2003. 102(4): p. 43-5.
93. Doran, M., et al., *Toxicity after intermittent inhalation of nitrous oxide for analgesia.* Bmj, 2004. 328(7452): p. 1364-5.
94. Lacassie, H.J., et al., *Reversible nitrous oxide myelopathy and a polymorphism in the gene encoding 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase.* Br J Anaesth., 2006. 96(2): p. 222-5. 2005.
95. Kallen, B. and R.I. Mazze, *Neural tube defects and first trimester operations.* Teratology., 1990. 41(6): p. 717-20.

96. Zhang, Q., et al., *Effect of nitrous oxide on intracellular events of GT1-7 GnRH-secreting neurons*. *Anesth Prog*, 2003. 50(2): p. 53-61.
97. Gonen, O., et al., *The impact of different types of anesthesia on in vitro fertilization-embryo transfer treatment outcome*. *J Assist Reprod Genet.*, 1995. 12(10): p. 678-82.
98. Beilin, Y., et al., *The use of propofol, nitrous oxide, or isoflurane does not affect the reproductive success rate following gamete intrafallopian transfer (GIFT): a multicenter pilot trial/survey*. *Anesthesiology.*, 1999. 90(1): p. 36-41.
99. Axelsson, G., G. Ahlberg, Jr., and L. Bodin, *Shift work, nitrous oxide exposure, and spontaneous abortion among Swedish midwives*. *Occup Environ Med.*, 1996. 53(6): p. 374-8.
100. Nunn, J.F., *Nitrous oxide and pregnancy*. *Anaesthesia.*, 1987. 42(4): p. 427-8.
101. Mazze, R.I., *Nitrous oxide during pregnancy*. *Anaesthesia.*, 1986. 41(9): p. 897-9.
102. Mazze, R.I., et al., *Reproductive and teratogenic effects of nitrous oxide, halothane, isoflurane, and enflurane in Sprague-Dawley rats*. *Anesthesiology.*, 1986. 64(3): p. 339-44.
103. Hemminki, K., P. Kyyronen, and M.L. Lindbohm, *Spontaneous abortions and malformations in the offspring of nurses exposed to anaesthetic gases, cytostatic drugs, and other potential hazards in hospitals, based on registered information of outcome*. *J Epidemiol Community Health.*, 1985. 39(2): p. 141-7.
104. Karasawa, F., et al., *Nitrous oxide concentrations in maternal and fetal blood during caesarean section*. *Eur J Anaesthesiol.*, 2003. 20(7): p. 555-9.
105. Jevtovic-Todorovic, V., et al., *Prolonged exposure to inhalational anesthetic nitrous oxide kills neurons in adult rat brain*. *Neuroscience*, 2003. 122(3): p. 609-16.
106. Jevtovic-Todorovic, V., et al., *Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits*. *J Neurosci*, 2003. 23(3): p. 876-82.
107. Jevtovic-Todorovic, V., et al., *A comparative evaluation of the neurotoxic properties of ketamine and nitrous oxide*. *Brain Res*, 2001. 895(1-2): p. 264-7.
108. Berkowitz, B.A., A.D. Finck, and S.H. Ngai, *Nitrous oxide analgesia: reversal by naloxone and development of tolerance*. *J Pharmacol Exp Ther.*, 1977. 203(3): p. 539-47.
109. Dale, O. and B. Husum, *Nitrous oxide: at threat to personnel and global environment?* *Acta Anaesthesiol Scand.*, 1994. 38(8): p. 777-9.
110. Rowland, A.S., et al., *Reduced fertility among women employed as dental assistants exposed to high levels of nitrous oxide*. *N Engl J Med.*, 1992. 327(14): p. 993-7.
111. Henderson, K.A., et al., *Occupational exposure of midwives to nitrous oxide on delivery suites*. *Occup Environ Med.*, 2003. 60(12): p. 958-61.
112. Hoerauf, K., et al., *Occupational exposure to sevoflurane, halothane and nitrous oxide during paediatric anaesthesia. Waste gas exposure during paediatric anaesthesia*. *Anaesthesia.*, 1997. 52(3): p. 215-9.
113. Hoerauf, K., et al., *Occupational exposure to desflurane and isoflurane during cardiopulmonary bypass: is the gas outlet of the membrane oxygenator an operating theatre pollution hazard?* *Br J Anaesth.*, 1997. 78(4): p. 378-80.
114. Hoerauf, K.H., et al., *Exposure to sevoflurane and nitrous oxide during four different methods of anesthetic induction*. *Anesth Analg.*, 1999. 88(4): p. 925-9.
115. Kanmura, Y., et al., *Causes of nitrous oxide contamination in operating rooms*. *Anesthesiology.*, 1999. 90(3): p. 693-6.
116. Chessor, E., et al., *Evaluation of a modified scavenging system to reduce occupational exposure to nitrous oxide in labor and delivery rooms*. *J Occup Environ Hyg.*, 2005. 2(6): p. 314-22.
117. Panni, M.K. and S.B. Corn, *The use of a uniquely designed anesthetic scavenging hood to reduce operating room anesthetic gas contamination during general anesthesia*. *Anesth Analg.*, 2002. 95(3): p. 656-60.
118. Hennequin, M. and P. Onody, *[Pollution level during inhalation sedation with a 50%N2O/50%O2 premix: comparison of two administration devices]*. *Ann Fr Anesth Reanim.*, 2004. 23(10): p. 959-65.
119. Sherman, S.J. and B.F. Cullen, *Nitrous oxide and the greenhouse effect*. *Anesthesiology.*, 1988. 68(5): p. 816-7.
120. Logan, M. and J.G. Farmer, *Anaesthesia and the ozone layer*. *Br J Anaesth*, 1989. 63(6): p. 645-7.
121. Avogbe, P.H., et al., *Ultrafine particulate matter and high-level benzene urban air pollution in relation to oxidative DNA damage*. *Carcinogenesis.*, 2005. 26(3): p. 613-20. 2004.
122. Eger, E.I., 2nd, et al., *Clinical pharmacology of nitrous oxide: an argument for its continued use*. *Anesth Analg.*, 1990. 71(6): p. 575-85.
123. Raeder, J.C., *Total intravenous anaesthesia--free from nitrous oxide, free from problems?* *Acta Anaesthesiol Scand.*, 1994. 38(8): p. 769-70.
124. Raeder, J.C., *Basis of anaesthesia--what do we know after 150 years?* *Acta Anaesthesiol Scand.*, 1996. 40(9): p. 1068-72.
125. Simonnet, G. and C. Rivat, *Opioid-induced hyperalgesia: abnormal or normal pain?* *Neuroreport*, 2003. 14(1): p. 1-7.