

مقایسه اثر پرولوتراپی مخلوط اکسیژن-ازن و هیالورونیک اسید بر درد و ناتوانی بیماران استئوآرتریت زانو

سیروس مومن زاده^{۱*}، مجید پورفرخ^۲، مسعود هاشمی^۱، آمنه باریکانی^۲

^۱ فلوشیپ فوق تخصص درد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

^۲ فلوشیپ فوق تخصص درد

^۳ متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی فزوبین

چکیده

سابقه و هدف: استئوآرتریت زانو یکی از بیماری‌های شایع در جهان است که علاوه بر درمان‌های جراحی، درمان‌های دارویی متعددی برای آن پیشنهاد شده است. هدف از مطالعه حاضر، مقایسه دو روش درمان دارویی با استفاده از مخلوط اکسیژن-ازن و هیالورونیک اسید بر درد و ناتوانی بیماران با استئوآرتریت زانو بود.

روش بررسی: با استفاده از یک کارآزمایی بالینی تصادفی شده، ۶۰ (۳۰ بیمار در گروه مخلوط اکسیژن و ازون و ۳۰ بیمار در گروه هیالورونیک اسید) بیمار مبتلا به استئوآرتریت زانو بررسی شدند. در گروه ازن، ۸ میلی‌لیتر مخلوط گاز اکسیژن-ازن با غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و در گروه اسید هیالورونیک، ۲ میلی‌لیتر محلول حاوی یک میلیون واحد هیالورونیک اسید داخل مفصل زانو تزریق شد. این کار در هر دو گروه در سه هفته متوالی تکرار و پرسشنامه‌های WOMAC و VAS برای آنها تکمیل شد. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS16 و با به کارگیری آزمون من ویننی U با سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ مقایسه گردید.

یافته‌ها: شدت درد اولیه (VAS base) در گروه مخلوط ازون و اکسیژن برابر ۸/۳±۰/۸ و در گروه هیالورونیک اسید ۱۳/۰±۰/۷ بود ($p < ۰/۰۵$). شدت درد در ماه اول و دوم بعد از آخرین تزریق در گروه مخلوط ازون و اکسیژن برابر ۴۳/۴±۱/۴۳ و ۴۳/۱±۱/۱۲ و در گروه هیالورونیک اسید برابر ۴۳/۱±۱/۳۱ و ۲۴/۲±۱/۲۴ بود ($P = ۰/۰۰۰۱$) و شدت درد در ماه اول و دوم بعد از آخرین تزریق در گروه هیالورونیک اسید برابر ۳۱/۳±۱/۳۱ و ۲۴/۲±۱/۲۴ بود ($P = ۰/۰۰۱$)، اما در بین دو گروه تفاوت معنی دار وجود نداشت. نمره WOMAC اولیه در گروه اکسیژن-ازون ۸/۳±۲/۷ و در گروه هیالورونیک اسید ۱۰/۳±۶/۰ بود. این شاخص در ماه‌های اول و دوم بعد از آخرین تزریق در گروه ازن برابر ۲۴/۸±۱/۸ و ۲۴/۸±۱/۸ بود ($p = ۰/۰۰۱$) و در گروه هیالورونیک برابر ۲۶/۶±۱/۸ و ۲۶/۶±۱/۸ بود ($p = ۰/۰۰۱$)، اما در بین دو گروه تفاوت معنی دار وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که استفاده از روش‌های درمان دارویی برای کاهش درد و ناتوانی ناشی از استئوآرتریت زانو موثر است، اما دو روش درمانی مخلوط اکسیژن و ازون و هیالورونیک اسید مشابه هم عمل می‌کنند.
واژگان کلیدی: پرولوتراپی، اکسیژن-ازون، هیالورونیک اسید، استئوآرتریت زانو.

مقدمه

بیماری‌های دژنراتیو مفصلی (DJD)، از شایع‌ترین بیماری‌های روماتیسمی در سراسر جهان می‌باشند که شایع‌ترین آنها

اوستئوآرتریت (OA) است. زانو معمول‌ترین مفصل است که دچار اوستئوآرتریت می‌شود و درد و ناتوانی در همه بیماران مشکل عمده ای است که مطرح می‌باشد. بنا بر تحقیقات شیوع اوستئوآرتریت زانو در سنین بیش از ۱۵ سال برابر ۹/۷٪ است. این بیماری ۳۰-۱۳٪ افراد بالای ۶۵ سال را مبتلا می‌کند و از دلایل شایع ایجاد ناتوانی در بزرگسالان است (۱). در ایران شیوع

آدرس نویسنده مسئول: تهران، فلوشیپ فوق تخصص درد، دانشیار علوم پزشکی شهید بهشتی، سیروس

مومن زاده (e-mail: Smomenzadeh@sbmu.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۲/۱۷

حال حاضر، برخی مطالعات از کارایی و ایمنی تزریق داخل مفصلی ازن در درمان استئوآرتریت زانو حمایت می‌کند (۲۰، ۲۱). اما در هر حال در این مورد نیز توافق واضحی وجود ندارد و تصمیم‌گیری قطعی نیازمند انجام مطالعات آینده‌نگر بیشتر است.

با توجه به نیاز به یافتن درمان‌های غیر جراحی ایمن، ساده و ارزان برای کاهش درد و بهبود عملکرد بیماران دچار استئوآرتریت زانو و وجود خلا اطلاعاتی شدید در مورد کارایی و ایمنی در روش پرولوترابی با ازن در این مطالعه بر آن شدیم تا به مقایسه نتایج این دو روش درمانی در بیماران دچار استئوآرتریت زانو بپردازیم.

مواد و روشها

مطالعه حاضر یک کارآزمایی بالینی تصادفی دو سو کور بود. جامعه مورد بررسی بیماران مراجعه کننده به کلینیک‌های درد بیمارستان‌های شهدای تجریش و امام حسین (دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی) در سال ۱۳۹۲ بود که از بین آنها ۶۰ بیمار دچار استئوآرتریت کمپارتمان داخلی زانو با درجات I و II بر اساس معیار Kellgren-Lawrence انتخاب و بر اساس معیارهای ورود و خروج تعیین شده وارد مطالعه شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل درد استئوآرتریت زانو بیش از سه ماه، درجات I&II بر اساس معیار رادیوگرافی Kellgren-Lawrence و داشتن رضایت مبنی بر شرکت در طرح بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل سابقه جراحی زانو، دفورمیتی و کنتراکچر اندام تحتانی، بیماری نوروماسکولار اندام تحتانی، پاتولوژی کمری حاد، درجات III & IV بر اساس معیار رادیوگرافی Kellgren-Lawrence، درد رادیکولار زانو، مصرف داروهای ضد انعقاد، آرتروز پس از تروما یا سپتیک، تزریق اینترآرتیکولار هیالورونیک اسید یا استروئید طی ۱۲ ماه گذشته، سابقه استفاده از داروهای ضد التهاب در ۳ ماه گذشته و درگیری کمپارتمان خارجی زانو بود.

بیماران انتخاب شده به صورت تصادفی ساده در دو گروه ازن تراپی و هیالورونیک اسید پرولوترابی (۳۰ نفر در هر گروه) قرار گرفتند. بیماران و فرد ارزیابی کننده از تخصیص درمان بی اطلاع بودند. ابتدا با بیماران در مورد اهداف طرح و روش انجام آن صحبت و سپس از آنان درخواست شد تا در صورت تمایل برای شرکت در طرح فرم رضایتنامه کتبی و آگاهانه را امضا نمایند. قبل از شروع مطالعه اطلاعات زمینه‌ای و دموگرافیک شامل سن و جنس و شدت بیماری بر اساس معیار K-L (Kellgren-Lawrence) و شدت درد

اوستئوآرتریت زانو در سنین بیش از ۱۵ سال حدود ۳۴/۵٪ گزارش شده که میزان بالایی است (۲).

درمان آرتروز زانو شامل کم کردن درد و اصلاح ناهنجاری ایجاد شده در راستای زانو است. درمان قطعی اوستئوآرتریت زانو جراحی تعویض مفصل زانو (TKA) است که بسیار پرهزینه و خطرناک است و با توجه به محدودیت عمر پروتزها و مشکلات و خطرات فراوان جراحی امروزه تلاش بر این است که تا حد امکان انجام TKA به تعویق بیفتد. به همین دلیل درمان‌های غیر جراحی متعددی شامل داروهای کاهش دهنده درد (NSAIDs)، گلوکزامین، اسید هیالورونیک، فیزیوتراپی، درمان ارتوزی و پرولوترابی با دکستروز معرفی شده و نتایج مطلوبی از درمان درجات خفیف‌تر بیماری با این روش‌ها گزارش گردیده است (۶-۳).

پرولوترابی (prolotherapy) اولین بار توسط Hackett در سال ۱۹۵۰ توصیف شد و به دنبال آن مطالعات مختلف بالینی بر روی انسان و حیوان انجام شد (۶).

پرولوترابی با اسید هیالورونیک در بیماران با استئوآرتریت خفیف تا متوسط در کاهش درد موثر است (البته نیاز به ۳-۵ تزریق هفتگی دارد) و وزن مولکولی آن هر چه بیشتر باشد موثرتر است. این روش در بیمارانی که علائم آنها علی‌رغم درمان استاندارد هنوز باقی است و کنتراندیکاسیون جراحی دارند ارزشمند است (۱۶-۷).

یکی دیگر از روش‌های درمانی نوین که به تازگی در درمان دردهای اسکلتی عضلانی مورد استفاده قرار گرفته است، ازن تراپی است (۲۱-۱۷). ازن یک گاز بسیار محلول و دارای قابلیت اکسیداسیون است و نشان داده شده که تماس آن با مایعات بیولوژیک می‌تواند سبب ساخته شدن محصولات ناشی از اکسیداسیون لیپیدها (Reactive Oxygen Species (ROS) میشود. این مواد با گلبول‌های سفید وارد واکنش می‌شوند و در نتیجه تولید بعضی محصولات دیگر شامل سیتوکین‌های التهابی شده و گلبول‌های قرمز، اکسیژن رسانی به بافت را افزایش می‌دهند (۱۷، ۱۸، ۲۱). تصور بر این است که مکانیسم ضد درد ازن از تحریک دستگاه Antinociceptive توسط اوپیوئیدهای اندوژن و سروتونین ناشی می‌شود که می‌تواند آستانه درد را بالا ببرد. به علاوه ویژگی‌های ضد التهابی ازن می‌تواند با کاهش ادم و تورم مفصل و فشار بر ساختارهای عصبی همراه باشد که خود در کاهش درد موثر است (۱۷، ۱۹، ۲۰). ازن باعث بهبود وضعیت اکسیژناسیون بافت به دنبال افزایش واسکولاریزاسیون (بدنبال آنژیوژنز جدید) می‌شود که می‌تواند تغذیه موضعی بافت و ظرفیت بازدارنده متابولیت‌های التهابی را بهبود بخشد (۱۸، ۱۹، ۲۱). در

تزریق) به کلینیک مراجعه کردند و دوباره پرسشنامه WOMAC و VAS برای آنها تکمیل شد (۲) و اطلاعات به دست آمده در بین دو گروه با استفاده از نرم افزار SPSS16 و با به کار گیری آزمون من ویتنی U با $P < 0.05$ مقایسه گردید.

یافته‌ها

از بین شرکت کنندگان، ۳۶/۷ درصد مرد و ۶۳/۳ درصد زن بودند. میانگین سن شرکت کنندگان $63 \pm 10/2$ و در مردان و زنان به ترتیب $\pm \pm$ بود. بین دو گروه از نظر سن و جنس تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). VAS یک ماه و دو ماه بعد در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). WOMAC یک ماه و دو ماه بعد در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هر دو روش درمانی با ازن و هیالورونیک اسید می‌توانند در کاهش درد و ناتوانی بیماران

ثابت گردید. برای بررسی شدت درد از معیار (VAS) Visual Analogue Scale استفاده شد که در آن صفر به معنی عدم احساس درد و ۱۰ به معنی حداکثر درد است. همچنین برای تمام بیماران پرسشنامه WOMAC تکمیل شد. در گروه ازن ۸ میلی‌لیتر مخلوط گاز اکسیژن-ازن با غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر (۲۰) و در گروه اسید هیالورونیک ۲ میلی‌لیتر محلول حاوی یک میلیون واحد هیالورونیک اسید (سینوکروم ۱٪ شرکت سازنده CROMA کشور اتریش) داخل مفصل زانو تزریق شد (۲). روش تزریق به این صورت بود که بیمار در وضعیت سوپاین قرار داده شد و با فلکسیون زانو به اندازه ۱۵-۱۰ درجه در سمت مدیال زانو لند مارک ناحیه تزریق مشخص شده و سپس محل تزریق با محلول پوویدون آبیوداین ضد عفونی و با تزریق یک میلی‌لیتر محلول لیدوکائین ۱٪ ناحیه تزریق بی‌حس شده و با استفاده از سوزن شماره ۲۷ پس از اسپیراسیون و اطمینان از قرارگیری صحیح سوزن تزریق داخل مفصل انجام شد (۲). این کار در هر دو گروه در سه هفته متوالی تکرار شد و بیماران دو بار (یک و دو ماه پس از آخرین

جدول ۱. خصوصیات مبتلایان به اوستئوآرتریت بر حسب سن و جنس و به تفکیک گروه درمانی

	گروه ازن (n=30)				گروه هیالورونیک (n=30)			
	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
سن	۶۸/۵۷	۹/۲۹	۵۴	۸۷	۶۷/۵۳	۱۱/۱۸	۳۹	۸۸
جنس	زن=۲۰	مرد=۲۰	۱۰	۱۰	زن=۱۸	مرد=۱۲		

جدول ۲. میانگین، انحراف معیار VAS در دو گروه مخلوط اکسیژن-ازن و هیالورونیک اسید

P	گروه ازن (n=30)		گروه هیالورونیک (n=30)		فاصله اطمینان ۹۵٪ تفاوت میانگین ها	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
	۸/۳۰	۰/۷۹	۸/۰۷	۰/۷۴	-۰/۱۶۳	۰/۶۳۰
	۵/۴۳	۱/۴۳	۵	۱/۳۱	-۰/۲۷۶	۱/۱۴۳
	۲/۶۳	۱/۱۲	۲/۹۷	۱/۲۴	-۰/۹۴۸	۰/۲۸۱
	p=۰/۰۰۰۱					

جدول ۳. میانگین، انحراف معیار WOMAC در دو گروه مخلوط اکسیژن-ازن و هیالورونیک اسید

P	گروه ازن (n=30)		گروه هیالورونیک (n=30)		فاصله اطمینان ۹۵٪ تفاوت میانگین ها	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
	۶۷/۶۲	۸/۲۶	۶۰/۳۳	۱۰	-۲/۴۴۱	۷/۰۷۸
	۴۲/۲۰	۹/۸۴	۴۲/۱۳	۱۰/۹۲	-۵/۳۰۹	۵/۴۴۲
	۲۴/۸۰	۸/۵۴	۲۶/۶	۹/۷۸	-۶/۵۴۷	۲/۹۴۷
	p=۰/۰۰۰۱					

بررسی‌های متعدد روی حیوانات از تاثیر هیالورونیک اسید در کاهش تخریب غضروف مفصل و بهبود ترمیم بافتی حمایت می‌کند (۱۴). در مطالعه لیسترات و همکاران نشان داده شد که روند تخریب غضروف مفصل در بیماران دچار استئوآرتروز با تزریق هیالورونیک اسید کمتر است (۱۵). در مطالعه پاسکالی و همکاران مشاهده شد که پس از گذشت شش ماه از تزریق کاهش التهاب بافتی و تغییرات ساختاری ترمیمی مشاهده می‌شود (۱۶). میسرا و همکاران در سال ۲۰۱۱ به بررسی تاثیر استفاده از ازن تراپی در درمان استئوآرتروز زانو پرداختند. در یک گروه بیماران سه مرحله تحت تزریق داخل مفصلی ازن ولیدوکائین با فاصله یک ماهه قرار گرفتند. در گروه دیگر از متیل پردنیزولون و لیدوکائین استفاده شد. بیماران ۳ و ۶ ماه پس از تزریق اول مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج درمان بر اساس رضایت بیماران از نتایج به دو صورت موفقیت و شکست تعیین گردید. محققین پس از جمع‌آوری داده‌ها مشاهده نمودند که تزریق داخل مفصلی ازن تاثیرات بهتری نسبت به متیل پردنیزولون در تسکین درد و بهبود خشکی مفصلی و کاهش ناتوانی ناشی از بیماری داشت (۲۰). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که علی‌رغم عدم تفاوت در دو گروه مورد مطالعه از نظر تاثیر بر کاهش درد و ناتوانی بیماران دچار استئوآرتروز زانو در روش با گذشت زمان درد و ناتوانی کاهش یافته است. بهتر است که جهت بررسی بیشتر اثرات ازن-اکسیژن بر درد و ناتوانی بیماران دچار استئوآرتروز زانو نیاز به تحقیقات دیگری با غلظت‌ها و حجم‌های متفاوت گاز و در تعداد نمونه بیشتر و مدت پیگیری طولانی‌تر باشد.

موثر باشند، ولی اختلافی بین آنها وجود ندارد. اندرئولا و همکاران در سال ۲۰۰۳ در ایتالیا به مقایسه نتایج درمان هرنی دیسک لومبار با استفاده از اکسیژن-ازن با اکسیژن-ازن به همراه کورتیکواستروئید پرداختند. محققین مشاهده نمودند که درمان در هر دو گروه کاملاً موثر بوده است و اختلاف بین دو گروه معنی‌دار بود. محققین مطالعه بیان نمودند که اکسیژن-ازن تراپی می‌تواند به عنوان یک درمان موثر در تخفیف درد بیماران دچار هرنی دیسک لومبار که قبلاً به درمان‌های کنسرواتیو پاسخ نداده‌اند، مورد استفاده قرار گیرد. همچنین آنها بیان کردند که تزریق کورتیکواستروئیدها علاوه بر تزریق اکسیژن و ازن می‌تواند در بهبود نتایج درمان تاثیر قابل توجهی داشته باشد (۲۱). هاشمی و همکاران در سال ۱۳۹۱ در تهران در یک مطالعه کارآزمایی بالینی دوسوکور به مقایسه نتایج درمان اوستئوآرتروز زانو با هیالورونیک اسید دکستروز پرولو تراپی داخل مفصلی و تاثیر این روش‌های درمانی در بهبود درد و عملکرد زانو و کیفیت زندگی این بیماران پرداختند و تفاوت معنی‌داری بین دو گروه از نظر درد و عملکرد مشاهده نشد. اما تمام نمرات پرسشنامه نشان از بهبود عملکرد داشت که با مطالعه ما همخوانی داشت (۲). در مطالعه حاضر نیز مقیاس وومک گر چه در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت، اما یافته‌ها حاکی از تاثیر هر دو روش در کاهش ناتوانی بود. در مطالعه لو و همکاران تزریق داخل مفصلی هیالورونیک اسید در مقایسه با دارونما فاقد تاثیر بود که با مطالعه ما همخوانی نداشت (۱۲). در برخی مطالعات بیان شد که هیالورونیک اسید فقط سبب بازگشت خاصیت ویسکوزیته مایع مفصل نمی‌شود، بلکه عوامل پاتولوژیک مرتبط با استئوآرتروز را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۳).

REFERENCES

1. Symmons D, Mathers C, Pflieger B. Global burden of osteoarthritis in the year. Geneva: World Health Organization (WHO); 2000.
2. Hashemi SM, Madadi F, Razavi S, Nikooseresht M, Hassanzadeh Kiabi F, Nasiripour S. Intra-articular hyaluronic acid injections vs. dextrose prolotherapy in the treatment of osteoarthritic knee pain. Tehran University Medicaal Journal 2012; 69: 872-77.
3. Uthman I, Raynauld JP, Haraoui B. Intra-articular therapy in osteoarthritis. Postgrad Med J 2003; 79:449-53.
4. Poitrs S, Avouac J, Rosignol M, Avouac B, Cedraschi C, Nordin M, et al. A critical appraisal of guidelines for the management of knee osteoarthritis using appraisal of guideline research and evaluation criteria. Arthritis Res Ther 2007; 9:R126.
5. Buckwalter JA, Stanish WD, Roiser RN, Schenck RC Jr, Dennis DA, Coutts RD. The increasing need for nonoperative treatment of patients with osteoarthritis. Clin Orthop Relat Res 2001; 385:36-45.
6. Hackett GC. Prolotherapy in whiplash and low back pain. Postgrad Med 1960; 27:214-19.
7. Petrella RJ, DiSilvestro MD, Hildebrand C. Effects of hyaluronate sodium on pain and physical functioning in osteoarthritis of the knee: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. Arch Intern Med 2002; 162:292-98.

8. Bunyaratavej N, Chan KM, Subramanian N. Treatment of painful osteoarthritis of the knee with hyaloronic acid. Results of a multicenter Asian study. *J Med Assoc Thai* 2001;84; S576-81.
9. Brandt KD, Block JA, Michalski JP, Moreland LW, Caldwell JR, Lavin PT. Efficacy and safety of intraarticular sodium hyaluronate in knee osteoarthritis; ORTHOVISC Study Group. *Clin Orthop Relat Res* 2001;385: 130-43.
10. Guidolin DD, Ronchetti IP, Lini E, Guerra D, Frizziero L. Morphological analysis of articular cartilage biopsies from a randomized clinical study comparing the effects of 500-730 kDa sodium hyaluronate (Hyalgan) and methylprednisolone acetate on primary osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage* 2001;9:371-81.
11. Alvarez A. Apoptosis and nitric oxide in an experimental model of osteoarthritis in rabbit after hyaluronic acid treatment. *J Orthop Res* 2005;23:1370-76.
12. Lo GH, LaValley M, McAlindon T, Felson DT. Intra-articular hyaluronic acid in treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis. *JAMA* 2003;290: 3115-21.
13. Ghosh P, Guidolin D. Potential mechanism of action of intra-articular hyaluronan therapy in osteoarthritis: are the effects molecular weight dependent? *Semin Arthritis Rheum* 2002;32:10-37.
14. Goldberg VM, Buckwalter JA. Hyaluronans in the treatment of osteoarthritis of the knee: evidence for diseasemodifying activity. *Osteoarthritis Cartilage* 2005;13:216-24.
15. Listrat V, Ayral X, Patarnello F, Bonvarlet JP, Simonnet J, Amor B, et al. Arthroscopic evaluation of potential structure modifying activity of hyaluronan (Hyalgan) in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1997;5:153-60.
16. Pasquali Ronchetti I, Guerra D, Taparelli F, Boraldi F, Bergamini G, Mori G, et al. Morphological analysis of knee synovial membrane biopsies from a randomized controlled clinical study comparing the effects of sodium hyaluronate (Hyalgan) and methylprednisolone acetate (Depomedrol) in osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40: 158-69.
17. Bocci V. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future of medicine? *Br J Biomed Sci* 1999; 56:270-78.
18. Benvenuti P. Oxygen-ozone treatment of the knee, shoulder and hip: a personal experience. *Rivista Italiana di Ossigeno-Ozoterapia* 2006; 5: 135-44.
19. Bocci V. Ozone as janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators of Inflammation* 2004; 13: 3-11.
20. Kr Mishra S, Pramanik R, Das P, Pratim Das Pl. Role of intra-articular ozone in osteoarthritic knee for functional and symptomatic improvement. *IJPMR* 2011;22:65-69.
21. Andreula CF, Simonetti L, De Santis F, Agati R, Ricci R, Leonardi M. Minimally invasive oxygen-ozone therapy for lumbar disk herniation. *Br J Biomed Sci* 2003; 24:996-1000.
22. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis* 1957; 16:494-502.
23. Watterson JR, Esdaile JM. Visco supplementation: therapeutic mechanisms and clinical potential in osteoarthritis of the knee: *J Am Acad Orthop Surg* 2000; 8:277- 84.