



Toxina botulínica y ozono intrarticular en la artrosis

Intra-articular botulinum toxin and ozone in osteoarthritis

D. Samper Bernal

Instituto Catalán de Ozonoterapia. Tratamiento del Dolor. Hospital Quirón. Barcelona, España

ABSTRACT

Osteoarthritis pain continues to be one of the main causes of medical visit due to the insufficient efficacy of established treatments, therefore, the need arises to search for new therapies that improve the analgesic response.

Intra-articular injection of botulinum toxin and/or medicinal ozone are two of the new options to consider in this pathology.

We develop in this chapter a review of the management of these two analgesic options.

Key words: Osteoarthritis pain, botulinum toxin, ozone, treatment, review.

RESUMEN

El dolor por osteoartrosis continúa siendo una de las principales causas de consulta médica debido a la insuficiente eficacia de los tratamientos establecidos, y por ello surge la necesidad de buscar nuevas terapias que mejoren la respuesta analgésica.

La inyección intrarticular de toxina botulínica y/o de ozono medicinal son dos de las nuevas opciones a considerar en esta patología.

Realizamos en este capítulo una revisión del manejo de estas dos opciones analgésicas.

Palabras clave: Dolor en la artrosis, Osteoartrosis, toxina botulínica, ozono, tratamiento, revisión.

TOXINA BOTULÍNICA

Introducción

La toxina botulínica tipo A es una de las más potentes toxinas biológicas de la naturaleza y, junto con los tipos B, E y F, causa de botulismo en humanos. Todas ellas son productos del *Clostridium botulinum*. Hay ocho serotipos, siete de los cuales, tipos A-G, tienen diferentes duraciones de acción y targets enzimáticos [1]. Dos de estas neurotoxinas, la toxina botulínica A y B, se utilizan habitualmente para el tratamiento de diversas situaciones en las que exista una hiperactividad muscular, tales como las distonías o las espasticidades.

Aplicación clínica

Fue Burgen quien descubrió que las toxinas funcionan inhibiendo la liberación de acetilcolina en los mús-

culos esqueléticos [2]. Estos hallazgos condujeron al desarrollo de su uso terapéutico en la década de los 70, cuando pequeñas cantidades de la toxina fueron usadas para corregir el estrabismo [3]. En la actualidad, la toxina botulínica es la más frecuentemente utilizada para el tratamiento de trastornos autonómicos, trastornos de espasticidad y movimientos hiperkinéticos, así como en cosmética para el tratamiento de las arrugas [4].

Un hallazgo fortuito con la toxina mostró posible eficacia en migraña, estudios posteriores lo confirmaron en migraña crónica pero no para episodios migrañosos [5,6].

Mecanismo de acción

Su efecto implica al complejo receptor proteínico SNA-RE (*Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor Attachment Protein Receptor*) que permite la unión de la membrana

vesicular sináptica y de la membrana plasmática terminal de los nervios periféricos con la consiguiente liberación de neurotransmisores como la acetilcolina. La toxina actúa fragmentando a la proteína SNAP-25 (*soluble NSF attachment protein*), una parte del complejo SNARE, impidiendo la fusión de membranas y por tanto la liberación de neurotransmisores.

La inhibición de liberación de acetilcolina genera la actividad paralizante de la toxina [7].

Inicialmente se pensó que este efecto muscular era el responsable del alivio del dolor secundario, pero estudios posteriores precisaron que la analgesia precedía al efecto muscular.

Se realizaron por ello estudios piloto con toxina botulínica tipo A intrarticular en dolor por artrosis severa [8] y también para el dolor miofascial [9,10].

Otros estudios confirmaron que la toxina no solo inhibe la liberación de acetilcolina, sino que también inhibe otros neurotransmisores como la sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), la glutamina [11-13], así como a los receptores N-metil-D aspartato (NMDA) y receptores de potencial transitorio vaniloide tipo 1 (TRPV1) [14,15]. Ello lleva a pensar que la toxina botulínica podría tener una acción directa sobre la nocicepción.

Por ello, aunque su uso en el tratamiento del dolor se focalizó en el de tipo miofascial, siguieron realizándose estudios precoces en dolor articular (rodilla, hombro, sacroiliacas, facetas cervicales e incluso en articulación esternoclavicular [16-19]).

Evidencia clínica uso toxina botulínica en artrosis

En los últimos 10 años han ido apareciendo estudios con el objetivo de valorar la eficacia de la toxina en procesos articulares degenerativos, especialmente en rodilla, pero también en hombro, cadera y codo. Estos son los más relevantes.

Codo (*epicondilitis lateral*)

En la revisión de Bahman Jabbari en 2011 [20] encontraron tres estudios Clase I y un estudio Clase II:

- Wong [21] realizó un estudio doble ciego en 60 pacientes con epicondilitis lateral crónica (ELC) administrando toxina botulínica A (60 U) s.c. con valoración del VAS a las 4 y 12 semanas. Se obtuvo mejoría significativa VAS en ambos controles.
- Hayton [22] no encontró diferencias significativas en el VAS a los 3 meses en un estudio ciego en 40 pacientes, administrando toxina botulínica i.m.
- Placzek [23] administró toxina botulínica A en un estudio con 130 pacientes valorando el VAS a las 2, 6, 12 y 18 semanas con mejorías significativas hasta las 18 semanas.
- Espandar [24] administró 60 UU de toxina botulínica A en un estudio en 48 pacientes, randomizado con grupo control, valorando el VAS a las 4, 8 y 16 semanas. La mejoría del dolor fue estadísticamente significativa en el grupo de toxina.

Debilidad de dedos y espasmos musculares aparecieron en alguno de los pacientes de los cuatro estudios.

Hombro

- Singh [25], en 2009, publicó un estudio randomizado en pacientes con omalgia refractaria. Fueron 43 pacientes dolor moderado-intenso que recibieron toxina botulínica (100 U) más lidocaína en el brazo activo y SSF más lidocaína en el grupo control. Se evaluó el VAS, índice de discapacidad de dolor de hombro (SPADI), cuestionario de calidad de vida SF-36, porcentaje de pacientes que disminuyeron un 30 % o 2 puntos el VAS y seguridad. Al mes de la administración se obtuvieron reducciones significativas en los parámetros valorados a favor del grupo toxina. Los efectos secundarios fueron similares en ambos grupos.
- Joo, en 2013, publicó un estudio prospectivo controlado comparando los efectos de toxina botulínica A intrarticular (Dysport; 200 U, n = 15) con acetato de triamcinolona en pacientes con capsulitis adhesiva del hombro. Todos los pacientes fueron evaluados mediante el VAS y medida del ROM a las 2, 4 y 8 semanas. En la semana 8 ambos grupos de tratamiento mostraron, respecto a los datos basales, mejorías significativas del dolor, abducción y flexión activa del hombro, así como abducción y rotación externa pasiva [26].

Cadera

- Durán-Hernández [27] realizó un estudio en pacientes con dolor por artrosis de cadera con grados de severidad II a IV en escala de Kellgren y Lawrence. Estudio clínico, experimental y longitudinal abierto pero cegado para el evaluador. Se incluyeron 35 pacientes y 45 infiltraciones de la articulación de la cadera a los que se aplicó el cuestionario WOMAC los días 0 y 90 tras la administración de toxina botulínica A Dysport 350 U, en el músculo iliaco del iliopsoas y 175 U en cada uno de los músculos *adductoris brevis* y *adductoris longus*. Se encontraron disminución estadísticamente significativa de las puntuaciones de EVA y de las tres dimensiones del cuestionario WOMAC.

Rodilla

La articulación de la rodilla es en la que se han realizado mayor número de estudios con toxina botulínica:

- Boon [28], en 2010, evaluó la eficacia y seguridad de la toxina tipo A en dolor por gonartrosis. Se evaluaron 60 pacientes con gonalgia refractaria a tratamientos previos. Estudio randomizado administrando corticoides, toxina botulínica A (100 U) o toxina botulínica A (200 U). Se evaluaron los resultados del VAS, WOMAC y Short Form-36, valoración global del paciente y efectos adversos a las 4, 8, 12 y 26 semanas. El VAS disminuyó en todos los grupos, pero solo en el brazo de baja dosis de toxina fue estadísticamente significativo. Todos los grupos mostraron mejoría estadísticamente significativa en el WOMAC a las 8 semanas. No se registraron efectos adversos importantes.

- Hsieh [29] realizó un estudio randomizado con grupo placebo en 46 pacientes con gonalgia por gonartrosis con Kellgren-Lawrence grado 2 o 3 que recibieron en el grupo activo toxina botulínica A (100 U) intrarticular. Las valoraciones a la semana y 6 meses mostraron diferencias significativas en el VAS y en los cuestionarios WOMAC y Lequesne en el grupo tratado con toxina.
- McAlindon [30] publicó un estudio en gonartrosis sin resultados favorables para el grupo con toxina. Se trataba de estudio multicéntrico, doble ciego, randomizado, controlado con placebo en 158 pacientes con artrosis de rodilla y con dolor nociceptivo (cuestionario Pain DETECT). En tres grupos recibieron toxina botulínica A 400 U o 200 U o placebo. Se valoró el VAS, WOMAC e impresión global del paciente hasta las 8 semanas. No se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos. Los efectos secundarios fueron leves y similares entre grupos toxina y placebo.
- En 2018, son destacables dos estudios comparativos, uno entre toxina botulínica (100 U) + triamcinolona (40 mg) y el corticoide solo realizado por Shukla [31] y el otro entre toxina, ácido hialurónico y placebo realizado por Bao [32]. En el primer estudio el grupo con toxina botulínica A mostró mejorías significativas de los *scores* de control desde las 4 semanas hasta los 6 meses. En el segundo estudio, tanto toxina como hialurónico mejoraron significativamente el dolor y la funcionalidad respecto al placebo, siendo más efectivo el grupo toxina que el de ácido hialurónico.
- En 2019, Godoy [33] comparó toxina botulínica A (100 U) vs. triamcinolona (40 mg) y salino, concluyendo que el corticoide fue más efectivo que la toxina y el salino a las 4 semanas.

Revisiones sistemáticas y narrativas de la evidencia

En los últimos 4 años, son diversas las revisiones sistemáticas o narrativas realizadas para evidenciar la eficiencia de la toxina botulínica en dolores por artrosis.

- En 2017, Wu realizó una revisión narrativa y analizó seis de 284 artículos y concluyó que, comparada con la terapia convencional, la toxina botulínica A intrarticular tiene efectos beneficiosos con mejoría de la VAS y WOMAC en dolor articular refractario [34].
- Courseau, en 2018, efectuó una revisión sistemática y metanálisis. Analizó ocho artículos de 269 seleccionados y seis para el metanálisis con un total de 382 pacientes. Concluyó que la toxina botulínica A intrarticular ofrece beneficios a corto plazo con disminución significativa del NRS de dolor de alrededor de 1 punto en pacientes con dolor articular refractario. La disminución del dolor a los 6 meses persistió, pero sin significancia estadística. Los estudios en los que se administró 100 U de toxina tuvieron mejores resultados que aquellos en los que se inyectaron 200 U [35].
- En 2018, Safarpour realizó un análisis de la evidencia para la eficacia de toxina botulínica en dife-

rentes síndromes dolorosos. Respecto al uso intrarticular, concluyó que era posiblemente efectiva (Nivel C- un estudio clase II) en artrosis dolorosa de rodilla [36].

- Un año más tarde, en 2019, Zhai presentó una nueva revisión sistemática y metanálisis en artrosis dolorosa de rodilla, en el que incluyó cinco estudios con 314 pacientes, respecto a los valores del VAS y WOMAC a las 4 semanas y 8 o más semanas, concluyó que la toxina botulínica A es efectiva y segura en el dolor por osteoartritis de rodilla [37].
- Recientemente, la American College of Rheumatology, en colaboración con la Arthritis Foundation, ha publicado una Guía Clínica basada en la evidencia para el manejo multimodal de la osteoartritis, abordando tanto terapias físicas, psicosociales, dietéticas, farmacológicas e invasivas. Respecto a las infiltraciones con toxina botulínica otorgan recomendación negativa en pacientes con osteoartritis de rodilla y/o cadera [38].

OZONO

Introducción

El ozono medicinal es una mezcla (un 95 % de O₂ y un 5 % de O₃) utilizada en varias concentraciones y administrada por diferentes vías. Es un gas inestable, transparente y de olor picante. El ozono se produce a partir del oxígeno cuando entra en contacto con una descarga eléctrica que genera diferentes concentraciones según la enfermedad a tratar. No puede ser almacenado y debe usarse de inmediato, ya que su vida media es de 40' a 20 °C [39].

Las aplicaciones de ozono médico se iniciaron a principios del siglo pasado cuando el Dr. Kellogg, en su libro sobre difteria en 1881, ya mencionaba el ozono como desinfectante. Durante décadas su uso se dirigió al tratamiento de procesos infecciosos crónicos e isquémicos (úlceras), aunque posteriormente se ha ido ampliando su uso a problemas de cicatrización, de as-tenia (fibromialgia, cáncer), y en dolor en el tratamiento de patología axial (hernias discales) entre otros. Las formas de aplicación del ozono medicinal son básicamente tres: tópica, infiltrativa y sistémica plasmática o rectal [40].

Mecanismo de acción

Su acción antiinflamatoria se debe a la inhibición de prostaglandinas, incrementando la liberación de antagonistas de citocinas proinflamatorias.

Activa mecanismos antioxidantes endógenos y produce una metabolización de radicales libres, frenando el proceso oxidativo responsable de la destrucción celular. El estrés oxidativo está presente en diversos procesos como la inflamación, enfermedades degenerativas, deficiencias inmunitarias, enfermedades autoinmunes, etc. Su correcta utilización puede mejorar la función celular, aumentando la capacidad de frenar los procesos fisiológicos y patológicos de destrucción celular.

La acción antioxidante a nivel intrarticular disminuye la inflamación y la futura degeneración. Inactiva e inhibe la liberación de enzimas proteolíticas. Estimula la producción de condrocitos y fibroblastos con la posibilidad de formación de nuevo cartílago. Es el tercer oxidante más potente tras el fluroruro y el persulfato.

Tiene un efecto antiinflamatorio y analgésico. Esta acción es consecuencia de una inhibición de la síntesis de prostaglandinas [41] o la liberación de bradicinina y otros mediadores de la inflamación, aumenta la liberación de antagonistas que neutralizan proinflamatorios como citoquinas like (interleuquinas, interferón, factor α de necrosis tumoral y citoquinas inmunosupresoras like), todos con efecto inhibitor de la inflamación y libera endorfinas, que bloquean la transmisión de la señal nociceptiva hacia el tálamo y la corteza. Todo en conjunto produce una disminución del edema, la inflamación y el dolor [42,43].

El problema de la artrosis no es un problema exclusivamente mecánico, sino que existen alteraciones celulares y bioquímicas que justifican los resultados obtenidos con la aplicación de ozono de pequeñas cantidades peri e intrarticulares [44].

La correlación entre los diferentes mecanismos de acción del ozono y las alteraciones fisiopatológicas articulares de la artrosis es exhaustivamente descrita en el artículo de Seyam, en el que desmenuza esa imbricación en los trastornos musculoesqueléticos y entre ellos, en las articulaciones, cápsulas y tendones del hombro, de la cadera y rodilla, así como en la artritis reumatoidea [45].

Consideraciones de uso del ozono

Su única **contraindicación** clínica absoluta es el déficit severo de G6P-DH (favismo), especialmente si se administra por vía sistémica, por la posibilidad de inducir crisis de hemólisis. Contraindicaciones relativas son la anticoagulación si INR >3, el embarazo, el hipertiroidismo y el paciente consumidor importante de suplementos y alimento con vitaminas C y E ya que podría interferir la acción antioxidante del O_3 .

Sus **efectos secundarios** se limitan a la toxicidad inhalatoria en caso de inhalar concentraciones > 0,1 ppm/h. La sintomatología sería desde la irritación conjuntival al distrés respiratorio dependiendo de la concentración recibida. Estas situaciones solo pueden presentarse por mal uso del ozono.

A nivel local puede ocasionar ligero dolor tolerable si se administran cantidades elevadas a altas concentraciones.

Las **ventajas** que ofrece su aplicación son varias y relevantes: difusión fácil que permite alejarnos de zonas peligrosas, uso de agujas de menor calibre y por tanto menos dolorosas por la punción, no interacciones con fármacos, no interacciones con patologías (diabetes, HTA, cardiopatía, nefropatía), posibilidad de adaptación a la respuesta analgésica con prolongación de tratamientos debido a su inocuidad, menor riesgo de sangrado en pacientes con anticoagulantes o antiagregantes, posibilidad de infiltrar varias articulaciones a la vez, no es imprescindible la esterilidad completa en infiltraciones periféricas (es el germicida más potente).

Su principal **inconveniente** es que los tratamientos habituales se basan en la realización de 3-5 sesiones semanales, lo que puede sobrecargar la actividad asistencial.

Evidencia clínica uso ozono en artrosis

Rodilla

Hasta hace unos 10 años no hemos podido disponer de trabajos consistentes relacionados con el uso de ozono en artrosis, entre ellos cabe mencionar los tres siguientes:

- En 2008, Al-Jaziri valoró 220 pacientes con artrosis axial o de extremidades mediante escala de caras de dolor durante una media de 8,48 meses con disminución significativa del dolor. Concluyó diciendo que el tratamiento con ozono fue eficaz en esas patologías [46].
- Li, en 2013, valoró 200 pacientes con artrosis rodilla, randomizados a ozono, AINE o terapia china. Controles mediante el VAS y WOMAC. En sus conclusiones refirió el alivio en el dolor y rigidez articular en el grupo con ozono [47].
- En 2013, Samper valoró, en un estudio observacional no randomizado y sin grupo control, el efecto de la ozonoterapia en 203 pacientes y 300 infiltraciones para dolor por gonartrosis Kellgren-Lawrence III o IV. Refirió alivio de los valores de EVN significativos respecto a los basales [48].

Es a lo largo de los últimos 5 años, en los que afloran un mayor número de artículos con mayor potencia metodológica y comparando la ozonoterapia con grupos control placebo y/o de fármaco activo.

- En 2018, Babaei-Ghazani realiza estudio randomizado con 62 pacientes con artrosis de rodilla comparando la ozonoterapia con triamcinolona. Valoró los resultados mediante escalas WOMAC, ROM y VAS. Los resultados dieron una eficacia similar inicialmente pero favorable al grupo de ozono a los tres meses [49].
- En el estudio de Feng Xu, en 2017, 76 pacientes con artrosis de rodilla y tratados con AINE (celecoxib) y glucosamina fueron randomizados para añadir ozono o seguir con el mismo tratamiento control. Los autores concluyeron que el grupo con ozono disminuyó significativamente la intensidad del dolor y mejoró la funcionalidad articular más precozmente que en el grupo control [50].
- Su eficacia analgésica fue demostrada comparado con placebo, en el estudio randomizado, doble ciego, de Lopes de Jesús en 2017, realizado en 98 pacientes con artrosis de rodilla. Mejoró también significativamente la función articular y la calidad de vida [51].
- Contrariamente, no demostró ser mejor que plasma enriquecido en plaquetas (PRP) ni que el ácido hialurónico en el trabajo de Mutlu en 2017 realizado en 102 pacientes con artrosis de rodilla. A los tres meses la mejoría era menor con O_3 , a los 6 meses solo se mantenía el alivio de los comparadores y a los 12 meses solo PRP seguía siendo eficaz [52].

- En los trabajos anteriores hemos comprobado la eficacia analgésica de la ozonoterapia en el tratamiento de la artrosis de rodilla, pero por primera vez se publicó un estudio que además valora la repercusión del gas sobre indicadores bioquímicos de inflamación, así como sobre la anatomía articular. Fernández-Cuadros en 2020 realizó un estudio observacional en 115 pacientes afectados de gonartrosis y dolor articular. Valoró en ellos las dimensiones del WOMAC, los marcadores inflamatorios PCR, VSG y ácido úrico y la medida del espacio articular del componente medial y lateral de la rodilla a través del soporte radiológico. Esperanzadoramente, mejoraron todos los parámetros estudiados sin registrar efectos adversos a los 12 meses de seguimiento [53].

Codo

- La mayoría de los estudios realizados en artrosis no axial se han realizado en rodilla, el siguiente artículo, aun siendo observacional, ha sido practicado en pacientes con afectación en el codo. Los autores compararon, en 80 pacientes con epicondilitis lateral crónica, el efecto del ozono respecto al grupo control con corticosteroides. Los resultados mostraron mejores scores a los 3, 6 y 9 meses en el grupo con ozono [54].

Revisiones sistemáticas y narrativas de la evidencia

- En una reciente revisión realizada por Hedayatbad, incluyó 6 estudios de pacientes con artrosis de rodilla. Se incluían en esos artículos 467 pacientes que habían sido tratados con ozono o con ácido hialurónico. Se evaluaron los datos registrando el VAS y el WOMAC. Los resultados del metanálisis mostraron una mejoría significativa de todos los valores. No hubo una diferencia significativa entre los dos grupos, aunque globalmente fueron mejores para el grupo del ácido hialurónico. Se otorgó nivel de evidencial [55].
- Noori-Zadeh había realizado en 2019 otra revisión sistemática y metanálisis también en pacientes con artrosis de rodilla tratados con O₃. Seleccionaron finalmente 10 estudios para el metanálisis. Los resultados evidenciaron también la eficacia del O₃ en el tratamiento de la artrosis de rodilla [56].
- Como último artículo seleccionado, y que puede servir como ejemplo de la situación actual sobre la evidencia del uso de ozono medicinal en el dolor por artrosis, cabe destacar la revisión de Sconza en 2020, en pacientes con artrosis de rodilla tratados con ozono. Incluyó en 11 estudios seleccionados a 858 pacientes. El autor finalizó diciendo que los artículos revelaron una pobre calidad metodológica, con relevantes sesgos y por ello es difícil poder hacer conclusiones sobre la eficacia del ozono respecto a otros tratamientos. Apunta, sin embargo, que la ozonoterapia es un procedimiento seguro con esperanzadores efectos en

control del dolor y de la recuperación funcional a corto y medio término [57].

- En la línea de la revisión anterior, el Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad, elaboró en 2011 un documento de consenso multidisciplinar sobre los Estándares y Recomendaciones de la Unidad de Tratamiento del Dolor. En el capítulo sobre la Cartera de Servicios, estaba incluida la ozonoterapia en infiltraciones y discólisis, aunque remarcaba que no existía suficiente evidencia sobre la eficacia de esos procedimientos [58].

CONCLUSIONES

Atendiendo a los trabajos publicados, el tratamiento con toxina botulínica podría añadirse a los tratamientos poco invasivos de dolor por artrosis de articulaciones, ofreciendo menores y menos potentes efectos secundarios respecto a otros fármacos utilizados. Sin embargo, es preciso realizar más estudios que puedan establecer su ubicación en los algoritmos analgésicos actuales.

La ozonoterapia puede ser una alternativa eficaz a los tratamientos cruentos por dolor musculoesquelético. La falta de efectos secundarios relevantes, junto a su menor incidencia sobre enfermos anticoagulados o antiagregados y su efecto antimicrobiano, puede situarlo en primera línea de los algoritmos de procedimientos por artrosis periférica.

La falta de estandarización de pautas de tratamiento, así como los pocos estudios disponibles metodológicamente potentes, dificultan encontrar su grado de evidencia.

Resulta imperativo realizar más estudios con poblaciones homogéneas y tratamientos estandarizados que puedan compararse a grupos control.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barash JR, Arnon SS. A novel strain of *Clostridium botulinum* that produces type B and type H botulinum toxins. *J Infect Dis.* 2014;209(2):183-91. DOI: 10.1093/infdis/jit449.
2. Burgen ASV, Dickens F, Zatman LJ. The action of botulinum toxin on the neuro-muscular junction. *J Physiol (Lond)* 1949;109(1-2):10-24. DOI: 10.1113/jphysiol.1949.sp004364.
3. Scott AB. Botulinum toxin injection into extraocular muscles as an alternative to strabismus surgery. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 1980;17(1):21-5.
4. Safarpur Y, Jabbari B. Botulinum toxin treatment of movement disorders. *Curr Treat Options Neurol.* 2018;20(2):4. DOI: 10.1007/s11940-018-0488-3.
5. Jackson JL, Kuriyama A, Hayashino Y. Botulinum toxin A for prophylactic treatment of migraine and tension headaches in adults: A meta-analysis. *JAMA.* 2012;307(16):1736-45. DOI: 10.1001/jama.2012.505.
6. Herd CP, Tomlinson CL, Rick C, Scotton WJ, Edwards J, Ives N, et al. Botulinum toxins for the prevention of migraine in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;6(6):CD011616. DOI: 10.1002/14651858.CD011616.pub2.
7. Montecucco C, Molgo J. Botulinum neurotoxins: Revival of an old killer. *Curr Opin Pharmacol.* 2005;5(3):274-9. DOI: 10.1016/j.coph.2004.12.006.

8. Mahowald ML, Singh JA, Dykstra D. Long term effects of intra-articular botulinum toxin A for refractory joint pain. *Neurotox Res.* 2006;9(2-3):179-88. DOI: 10.1007/BF03033937.
9. Cheshire WP, Abashian SW, Mann JD. Botulinum toxin in the treatment of myofascial pain syndrome. *Pain* 1994;59(1):65-9. DOI: 10.1016/0304-3959(94)90048-5.
10. Gobel H. Botulinum toxin A in pain management: mechanisms of action and rationales for optimum use. *Pain Headache.* 2003;14:4-22.
11. Welch MJ, Purkiss JR, Foster KA. Sensitivity of embryonic rat dorsal root ganglia neurons to Clostridium botulinum neurotoxins. *Toxicon.* 2000;38(2):245-58. DOI: 10.1016/S0041-0101(99)00153-1.
12. Durham PL, Cady R, Cady R. Regulation of calcitonin gene-related peptide secretion from trigeminal nerve cells by botulinum toxin type A: Implications for migraine therapy. *Headache.* 2004;44(1):35-42, discussion 42-43. DOI: 10.1111/j.1526-4610.2004.04007.x.
13. Meng J, Wang J, Lawrence G, Dolly JO. Synaptobrevin I mediates exocytosis of CGRP from sensory neurons and inhibition by botulinum toxins reflects their anti-nociceptive potential. *J Cell Sci.* 2007;120(Pt 16):2864-74. DOI: 10.1242/jcs.012211.
14. Cheng J, Liu W, Duffney LJ, Yan Z. SNARE proteins are essential in the potentiation of NMDA receptors by group II metabotropic glutamate receptors. *J. Physiol.* 2013;591(16):3935-47. DOI: 10.1113/jphysiol.2013.255075.
15. Morenilla-Palao C, Planells-Cases R, Garcia-Sanz N, Ferrer-Montiel A. Regulated exocytosis contributes to protein kinase C potentiation of vanilloid receptor activity. *J Biol Chem.* 2004;279(24):25665-72. DOI: 10.1074/jbc.M311515200.
16. Mahowald ML, Singh JA, Goelz E, Kushnaryov A, Krug HE. Intra-articular botulinum toxin type A: A new approach to treat arthritis joint pain. In: American College of Rheumatology Annual meeting; 2007. p. Abs 1688.
17. Singh JA, Mahowald ML, Noorbaloochi S. Intra-articular botulinum toxin A for refractory shoulder pain: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Transl Res.* 2009;153(5):205-16. DOI: 10.1016/j.trsl.2009.02.004.
18. Dykstra DD, Stuckey MV, Schimpff SN, Singh JA, Mahowald ML. Use of botulinum toxins for chronic headaches: a focused review. *Pain Clin.* 2007;19:27-32.
19. Fenolosa P, Izquierdo RM, Canós MA, Pallarés J. Efectos de la toxina botulínica A (Botox) intraarticular en la artrosis de rodilla avanzada. *Rev Soc Esp Dolor.* 2011;18(6):320-5.
20. Bahman J, Machado D. Treatment of refractory pain with botulinum toxins-An evidence-based review. *Pain Medicine* 2011;12(11):1594-606. DOI: 10.1111/j.1526-4637.2011.01245.x.
21. Wong SM, Hui Ac, Tong PY. Treatment of lateral epicondylitis with botulinum toxin: A randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 2005;143(11):793-7. DOI: 10.7326/0003-4819-143-11-200512060-00007.
22. Hayton MJ, Santini AJ, Hughes PJ, Frostick SP, Trail IA, Stanley JK. Botulinum toxin injection in the treatment of tennis elbow. A double-blind, randomized, controlled, pilot study. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87(3):503-7. DOI: 10.2106/JBJS.D.01896.
23. Placzek R, Drescher W, Deuretzbacher G, Hempfing A, Meiss AL. Treatment of chronic radial epicondylitis with botulinum toxin A. A double-blind, placebo-controlled, randomized multicenter study. *J Bone Joint Surg Am.* 2007;89(2):255-60. DOI: 10.2106/JBJS.F.00401.
24. Espandar R, Heidari P, Rasouli MR, Saadat S, Farzan M, Rostami M, et al. Use of anatomic measurement to guide injection of botulinum toxin for the management of chronic lateral epicondylitis: A randomized controlled trial. *CMAJ.* 2010;182(8):768-73. DOI: 10.1503/cmaj.090906.
25. Singh J, Mahowald M, Noorbaloochi S. Intra-articular botulinum toxin A for refractory shoulder pain: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Transl Res.* 2009;153(5):205-16. DOI: 10.1016/j.trsl.2009.02.004.
26. Joo YJ, Yoon SJ, Kim CW, Lee JH, Kim YJ, Koo JH, et al. A comparison of the short-term effects of a botulinum toxin type A and triamcinolone acetate injection on adhesive capsulitis of the shoulder. *Ann Rehabil Med.* 2013;37(2):208-14. DOI: 10.5535/arm.2013.37.2.208.
27. Durán-Hernández S, Soto-Rodríguez JF, Allen-Bobadilla J, Durán Hernández N, García-Mosco P. Tratamiento conservador de la osteoartrosis de cadera con toxina botulínica tipo A. *Gac Med Mex.* 2019;155(Suppl 1):S56-S61. DOI: 10.24875/GMM.19005151.
28. Bonn A, Smith J, Dahm D, Sorenson E, Larson D, Fitz-Gibbon P, et al. Efficacy of intra-articular botulinum toxin type A in painful knee osteoarthritis: a pilot study. *PM R* 2010;3(4):268-76. DOI: 10.1016/j.pmrj.2010.02.011.
29. Hsieh L, Wu Ch. Effects of botulinum toxin landmark-guided intra-articular injection in subjects with knee osteoarthritis. *PMR* 2016;8(12):1127-35. DOI: 10.1016/j.pmrj.2016.05.009.
30. McAlindon TE, Schmidt U, Bugarin D, Abrams S, Geib T, DeGryse RE, et al. Efficacy and safety of single-dose onabotulinumtoxinA in the treatment of symptoms of osteoarthritis of the knee: results of a placebo-controlled, double blind study. *Osteoarthritis Cartilage.* 2018(26):1291-9. DOI: 10.1016/j.joca.2018.05.001.
31. Shukla D, Sreedhar S, Rastogi V. A comparative study of botulinum toxin: A con triamcinolone compared to triamcinolone alone in the treatment of osteoarthritis of knee. *Anesth Essays Res.* 2018;12(1):47-9. DOI: 10.4103/aer.AER_210_17.
32. Bao X, Tan J, Flyzik M, Ma X, Liu H, Liu H. Effect of therapeutic exercise on knee osteoarthritis after intra-articular injection of botulinum toxin type A, hyaluronidate or saline: a randomized controlled trial. *J Rehabil Med.* 2018;50(6):534-41. DOI: 10.2340/16501977-2340.
33. Mendes JG, Natour J, Nunes-Tamashiro JC, Toffolo SR, Rosenfeld A, Furtado RNV. Comparison between intra-articular Botulinum toxin type A, corticosteroid, and saline in knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Clinical Rehabilitation.* 2019;33(6):1015-1026. DOI: 10.1177/0269215519827996.
34. Wu T, Song H, Dong Y, Ye Y, Li J. Intra-articular injections of botulinum toxin A for refractory joint pain: a systematic review and meta-analysis. *Clin Rehabil.* 2017;31(4):435-43. DOI: 10.1177/0269215516644951.
35. Courseau M, Vergne P, Ranoux D, Lachatre A. Efficacy of intra-articular botulinum toxin in osteoarticular joint pain: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin J Pain.* 2018;34(4):383-9. DOI: 10.1097/AJP.0000000000000538.
36. Safarpour Y, Jabbari B. Botulinum toxin treatment of pain syndromes- an evidence based review. *Toxicon* 2018;147:120-8. DOI: 10.1016/j.toxicon.2018.01.017.
37. Zhai S, Huang B, Yu K. The efficacy and safety of botulinum toxin type A in painful knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *J Int Med Res.* 2019;48(4):300060519895868. DOI: 10.1177/0300060519895868.

38. Kolasinski S, Neogi T, Hochberg M, Oatis C, Guyatt G, Block J, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation guideline for the management of osteoarthritis of the hand, hip and knee. *Arthritis Care Res.* 2020;72(2): 149-62. DOI: 10.1002/acr.24131.
39. Bocci V. General mechanisms of action of ozone therapy and mechanisms in pain treatment. *Rev Soc Esp Dolor.* 2005;12(Supl. II):24-36.
40. Hidalgo-Tallón FJ, Torres LM. Ozonoterapia en medicina del dolor. Revisión. *Rev Soc Esp Dolor.* 2013;20(6):291-300.
41. Bocci V, Corradeschi F. Studies on the biological effects of ozone: III and attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. *Lymphokine Cytokine Res* 1993; 12(2):121-6.
42. Bocci V. Mecanismos de acción generales de la ozonoterapia y mecanismos en el tratamiento del dolor. *Rev Soc Esp Dolor.* 2005;12(Supl. II):24-36.
43. Viebahn-Haensler R. Milestones of medical ozone. *Rev Soc Esp Dolor.* 2005;12(Supl. II):3-9.
44. De Lucas JC. Peripheral infiltrations with ozone. Indications, techniques and clinical experience. *Rev Soc Esp Dolor.* 2005;12(Supl. II):37-47.
45. Seyam O, Smith N, Reid I, Gandhi J, Jiang W, Ali S. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders. *Med Gas Res.* 2018;8(3):103-10. DOI: 10.4103/2045-9912.241075.
46. Al-Jaziri A, Mahmoodi S. Painkilling effect of ozone-oxygen injection on spine and joint osteoarthritis. *Saudi Med J.* 2008;29(4):553-7.
47. Li JH, Zhou LX, Li GY, Cheng B. Treatment of middle-aged and aged patients with knee osteoarthritis of yang-deficiency induced cold-damp syndrome by ozone combined Chinese materia medica: a clinical research *Chin J Int Trad West Med.* 2013;33(4):471-5.
48. Samper D, Rovira G, Moneris M, González M, Mazo V. Tratamiento de la gonalgia por gonartrosis con ozono intrarticular. *Rev Soc Esp Dolor.* 2013;20(3):107-12.
49. Babaei-Ghazani A, Najarzadeh S, Mansoori K, Forough B, Pezhman S, Ebadi S, et al. The effects of ultrasound-guided corticosteroid injection compared to oxygen-ozone (O₂-O₃) injection in patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Clinical Rheumatology.* 2018;37:2517-27.
50. Feng X, Beiping L. Therapeutic efficacy of ozone injection into the knee for the osteoarthritis patient along with oral celecoxib and glucosamine. *J Clin Diagn Res.* 2017;11(9):UC01-UC03. DOI: 10.7860/JCDR/2017/26065.10533.
51. Lopes de Jesus C, dos Santos F, Oliveira L, Monteiro I, Sousa M, Fernandes V. Comparison between intra-articular ozone and placebo in the treatment of knee osteoarthritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *PLoS ONE.* 2017;12(7):e0179185. DOI: 10.1371/journal.pone.0179185.
52. Mutlu T, Mutlu S, Dernek B, Komur B, Aydogmus S, Nur F. Choice of intra-articular injection in treatment of knee osteoarthritis: platelet-rich plasma, hyaluronic acid or ozone options. *Knee Surg Traumatol Arthrosc.* 2017;25(2):485-92. DOI: 10.1007/s00167-016-4110-5.
53. Fernández-Cuadros M, Pérez-Moro O, Albajadejo-Florin MJ, Álava-Rabasa S. El ozono intrarticular modula la inflamación, mejora el dolor, la rigidez, la función y tiene un efecto anabólico sobre la artrosis de rodilla: estudio cuasiexperimental prospectivo tipo antes-después, 115 pacientes. *Rev Soc Esp. Dolor* 2020;27(2):78-88.
54. Ukusoy G, Bilge A, Öztürk Ö. Comparison of corticosteroid injection and ozone injection for relief of pain in chronic lateral epicondylitis. *Acta Orthop Belg.* 2019;85(3):317-24.
55. Hedayatabad J, Kachooei A, Chaharjouy N, Varizi N, Mehrad-Majid H, Emadzadeh M, et al. The effect of ozone (O₃) versus hyaluronic acid on pain and function in patients with knee osteoarthritis: A Systematic review and meta-analysis. *Arch Bone Jt Surg.* 2020;8(3):343-54. DOI: 10.22038/abjs.2020.46925.2292.
56. Noori-Zadeh A, Bakhtiyari S, Khooz R, Haghani K, Darabi S. Intra-articular ozone therapy efficiently attenuates pain in knee osteoarthritic subjects: A systematic review and meta-analysis. *Complement Ther Med.* 2019;42:240-7. DOI: 10.1016/j.ctim.2018.11.023.
57. Souza C, Respizzi S, Virelli L, Vandenbulcke F, Iacono F, Kon E, et al. Oxygen-Ozone therapy for the treatment of knee osteoarthritis: A systematic review of randomized controlled trials. *Arthroscopy.* 2020;36(1):277-86. DOI: 10.1016/j.arthro.2019.05.043.
58. Palanca I, Puig MM, Elola J, Bernal JL, Paniagua JL, Grupo de Expertos. Unidad de tratamiento de dolor: estándares y recomendaciones. Madrid: Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad; 2011.