

artículo original

Ozono y factores de crecimiento ozonizados en el tratamiento de la hernia discal y discartrosis de la columna lumbar

Adriana Schwartz

M.D. Directora de la Clínica Fiorela, Madrid, España.
Directora Científica del Instituto Clínico Fiorela, San Pedro Sula, Honduras
www.clinicafiorela.com

Christian Meléndez

Traumatólogo-Ortopeda. Jefe del Servicio de Traumatología del Instituto Clínico Fiorela,
San Pedro Sula, Honduras.

Manuel Martínez

Director Clínico del Instituto Clínico Fiorela, San Pedro Sula, Honduras

Palabras clave

Factores de Crecimiento
PRP
Ozono
Discólisis
hernia discal

Resumen

El manejo de la hernia discal y sus complicaciones mediante técnicas quirúrgicas altamente invasivas tiene entre otros inconvenientes un elevado número de efectos adversos. La discólisis con ozono ha demostrado una elevada eficacia terapéutica y el uso de los factores de crecimiento derivados de plaquetas es cada vez más utilizado en la regeneración de tejidos. El presente estudio tiene como propósito demostrar la eficacia y seguridad del ozono sobre la hernia discal y el efecto cicatrizante y reparador de los factores de crecimiento sobre el disco herniado, degenerado o dañado. Se realizó un estudio prospectivo, mono-céntrico, no aleatorizado en el que participaron 60 pacientes en un intervalo de edades de 35 a 82 años con diagnóstico de lumbo-ciática severa, Escala Visual Analógica (EVA) 7-8, y síndrome degenerativo discal. Los pacientes fueron intervenidos con discólisis con plasma autólogo rico en factores de crecimiento derivados de plaquetas y ozono. La evolución de los pacientes se continuó mediante el seguimiento de los síntomas clínicos, la evaluación del EVA y métodos imagenológicos (resonancia magnética). Los resultados evidenciaron un 90% de resolución completa con EVA a los 4 y 6 meses de 0-2, y resonancia magnética que mostró la resolución de la hernia y la rehidratación parcial de los discos dañados. El 10% remanente manifestó una resolución parcial. El 5% de los pacientes manifestó reacciones adversas (2 pacientes con cefalea transitoria leve y 1 paciente neuromoencéfalo). Estos resultados manifiestan la eficacia y seguridad del procedimiento en este tipo de patología.

Sugerencia sobre cómo citar este artículo:

Schwartz, A.; Meléndez, Ch.; Martínez, M. (2013). Ozono y factores de crecimiento ozonizados en el tratamiento de la hernia discal y discartrosis de la columna lumbar. *Revista Española de Ozonoterapia*. Vol. 3, nº 1, pp. 7-19.

Introducción

La cirugía de la lumbo-ciática por hernia discal ha sido la técnica invasiva de elección durante mucho tiempo y sigue siendo muy utilizada, sobre todo con la llegada de las nuevas técnicas microquirúrgicas; sin embargo, sus resultados no son del todo óptimos.¹ Debido a la gran cantidad de complicaciones y fracaso, especialmente por la fibrosis perineural en la zona quirúrgica y la infección hace su uso muy controvertido. Además entre un 10% y un 40% de estos pacientes acaba desarrollando el tan temido síndrome de cirugía fallida de espalda.² Hay que agregar que hasta hace 10 años en EE.UU. se realizaban entre 150 000 a 200 000 cirugías de espalda anualmente, con un índice de fracaso entre el 15% al 25% con un 15% de reintervenciones.³

Solo en el año 2002 se practicaron en los EE.UU. más de 1 millón de intervenciones en la columna vertebral. Observaciones recientes sobre fallos en estos procedimientos son un síntoma de alarma para reconsiderar estos procedimientos (Dr. Charles V. Burton, director médico del *Center for Restorative Spine Surgery*, St. Paul, MN 55102, USA).^{4,5} Teniendo en cuenta lo anterior no es de extrañar que la tendencia actual en el tratamiento de esta patología sea hacia las técnicas percutáneas mínimamente invasivas que se caracterizan por una elevada eficacia y por ser muy bien toleradas.

Las Guías Europeas para el manejo del dolor crónico lumbar, muestran cómo existe una fuerte evidencia que indica que la cirugía compleja y demandante de la columna vertebral lumbar en la que se emplean diferentes formas de instrumentación espinal, no es más efectiva que una simple, más segura y más barata fusión postero-lateral sin instrumentación. Otros estudios recientes ponen de manifiesto cómo se está produciendo una tendencia hacia la utilización de técnicas mínimamente invasivas, abandonando las fusiones transpediculares, lo que indica claramente que debemos aplicar correctamente el conocimiento basado en la evidencia científica acumulado a lo largo de por lo menos 20 años. Todo ello, permite, recomendar el abandono de la senda instrumentista en gran cantidad de indicaciones actuales, y buscar otros caminos en el campo del tratamiento conservador y rehabilitador correctamente aplicados, utilizando antes de la cirugía descompresiva y de fusión vertebral todos los recursos intervencionistas que actualmente ofrece el tratamiento moderno del dolor crónico.⁶

Un estudio reciente de la Fundación Kovacs asegura que más de 25 millones de euros anuales se gastan en España en pruebas (RM,Rx, TAC) por dolor lumbar.⁷

La discólisis y la paravertebral facetaria con Ozono y Factores de Crecimiento, es una técnica ambulatoria, mínimamente invasiva, que bajo guía fluoroscópica, sedación y anestesia local evita o disminuye ostensiblemente las complicaciones de la cirugía con excelentes resultados. En los últimos años cada vez más aparecen estudios aleatorizados, controlados y de muestra grande, con una evidencia científica adecuada (II) en revistas con alto factor de impacto.^{8,9} Dos estudios de meta-análisis (máximo nivel de evidencia científica) recientes, demuestran que la ozonoterapia es tan eficaz o mejor que la cirugía y sin los efectos adversos de la misma.^{10,11} En el Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, se está llevando a cabo un ensayo clínico controlado que compara esta técnica con la cirugía convencional, con financiación pública y sin intereses comerciales.¹² Por otra parte, la Universidad de Sao Paulo

en Brasil desarrolla un estudio de aplicación de ozono en la zona epidural en pacientes donde el método quirúrgico ha fallado.¹³

En el año 2002 el Dr. A. Alexandre (Treviso, Italia) presentó un estudio multicéntrico sobre una muestra de 6665 pacientes tratados con discólisis percutánea con ozono con un resultado de 81% de abolición del dolor y un 12,5% de mejorados.¹⁴ El Dr. Eduardo Anitua en 1999 comienza en España a trabajar con los Factores de Crecimiento en colaboración con el traumatólogo Miquel Sánchez y demuestra el carácter regenerativo sobre los tejidos del aparato locomotor de estos factores.^{15, 16, 17, 18, 19}

El propósito del presente trabajo es demostrar la efectividad y seguridad del ozono sobre la hernia discal y el efecto cicatrizante y reparador de los factores de crecimiento ozonizados sobre el disco vertebral herniado, degenerado o dañado.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio clínico mono-céntrico, prospectivo, no aleatorizado de intervención con ozono y Plasma Rico en Plaquetas Ozonizado (PRPO3). Se trataron 60 pacientes con lumbociática severa con una intensidad de 7-8, según la Escala Visual Analógica (EVA),²⁰ en un intervalo de edades de 35 a 82 años que asistieron a la consulta del Instituto Clínico Fiorela (San Pedro Sula, Honduras) entre julio de 2012 a enero de 2013. Se tomaron para el estudio los pacientes diagnosticados de hernia discal lumbar y síndrome degenerativo discal, mediante resonancia magnética reciente (de no más de seis meses). A estos 60 pacientes se les practicaron 150 discólisis PRPO₃.

El protocolo de investigación fue sometido a discusión por los investigadores participantes y a revisión y aprobación del Comité de Ética y Revisión Institucional (Instituto Clínico Fiorela, San Pedro Sula, Honduras, y Clínica Fiorela, Madrid, España). El protocolo se ejecutó solo después de su aprobación, al cumplir con los procedimientos éticos para las investigaciones médicas en seres humanos establecidos en la Declaración de Helsinki emanada por la Asamblea Médica Mundial.²¹ Los pacientes recibieron una explicación detallada sobre la investigación y se les tomó su consentimiento de manera verbal y por escrito.

Criterios clínicos de inclusión: Lumbociática con signos de afectación radicular resistente al tratamiento conservador durante al menos tres meses.

Criterios radiológicos: Protrusión, hernia discal contenida y extruída con menos del 50% del diámetro del saco dural con o sin signos de degeneración discal diagnosticado mediante resonancia magnética. Disco conservado. Artrosis interfacetaria.

Criterios de exclusión: Hernia discal calcificada, hernia discal con fragmento libre, extrusión de más del 50% del diámetro del saco dural y déficit neurológico mayor asociado.

Protocolo clínico: Previo a la discólisis se realizó una sesión de infiltración paravertebral lumbar a 2 cm lateral de la línea interapofisaria; el volumen fue de 10 mL de O2-O3 a 10µg/mL por

punto, más 1 mL de procaina i.m. en plano diferente al de la infiltración de ozono.

Todas las discólisis se realizaron en quirófano, bajo total asepsia, control fluoroscópico, sedación y anestesia local. Se administró Ceftriaxona 1g. i.v. a dosis única durante la ejecución del acto quirúrgico.

El Plasma Autólogo Rico en Plaquetas (PRP) fue preparado en sistema cerrado (PROTEAL®) en quirófano por un médico especializado en su preparación y obtención. El generador de ozono utilizado fue Ozonobaric P® con Certificado CE0120 clase IIb (certificación de la Unión Europea) de medición de concentración directa e indirecta, lo que lo hace fiable.

La sangre se heparinizó, el PRP se ozonizó a 40 y 80 µg/mL y se activó con Cloruro Cálcico 10%.

Discólisis: Al paciente se le colocó en decúbito prono con alza abdominal para compensar la lordosis lumbar. Bajo control fluoroscópico con visión túnel en proyección antero-posterior y el auxilio de una aguja Chiva calibre 22 G, se atravesó el anillo fibroso, se colocó la punta de la aguja en el centro del disco y se comprobó su posición en proyección lateral. Una vez confirmada la correcta posición de la aguja se procedió a la administración de ozono intradiscal, a una concentración de 30µg/mL y perirradicular a 10 µg/mL de concentración. Inmediatamente se infiltró el PRPO₃ intradiscal y en espacio peridural, especialmente en los casos en que se diagnosticó afectación artrósica interfascetaria avanzada con osteofitos y canal estrecho.

Post-Discólisis: Se procedió a administrar 1) Seis sesiones paravertebrales facetarias lumbares. 2) Dos sesiones paravertebrales facetarias lumbares con PRPO₃. 3) Diez barridos magnetoterapia. 4) Diez barridos de láser CO₂. 5) Revisiones: a los 15 días, al mes, a los 4 y 6 meses; con control de resonancia magnética a los 4 o 6 meses.

La eficacia del procedimiento se basó en el control del dolor según la escala EVA de 0 a 10; en la exploración clínica mediante las maniobras de Lasegue y Bragard a los 15 días, 1 mes, 4 y 6 meses; y en las imágenes de resonancia magnética de 35 pacientes a los 4 y 6 meses post dicólisis. Todos los pacientes fueron indagados acerca de los posibles efectos secundarios que pudieran tener relación con la técnica. Se registró además el grado de satisfacción del paciente al finalizar el estudio, según los criterios: buena, regular o mala.

Resultados

Los datos demográficos y básicos de los pacientes estudiados se muestran en la Tabla 1.

Se realizaron 150 discólisis percutáneas con ozono factores de crecimiento en 60 pacientes, de los cuales 41 fueron varones (68,3%) y 19 mujeres (31,6%) con una edad que fluctuaba entre los 35 y 82 años, siendo los segmentos L5-S1 y L4-L5 los más frecuentes. La media de segmentos tocados fueron 2-3 por paciente.

Tabla1. Caracterización de los pacientes estudiados.

	Variable	Ozono + PRPO ₃ (n=60)	
		n	%
Edad (años)	35-45	12	20%
	46-55	21	35%
	56-65	15	25%
	66-75	7	11,6%
	76-85	5	8,3%
Género	Femenino	19	31,6 %
	Masculino	41	68,3%
Antecedentes	Hipertensión ^a	11	18,3%
	Diabetes ^b	8	13,3%
	Cardiopatía Isquémica	0	
Factores de riesgo	Hipercolesterolemia ^c	21	35%
	Obesidad ^d	48	80%
	Fumador	0	
	Alcohólico	0	
	Uso de drogas	1	1,6%
Terapias complementarias (anteriores)	Fármacos	60	100%
	Suplementos	31	51,6%
	Rehabilitación física	15	25%
	Cirugía columna	3	5,0%
Ubicación de las lesiones	L5-S1	58	96,6%
	L4-L5	55	91,6%
	L3-L4	22	36,6%
	L2-L3	15	25,0%
	Sacro ilíaca	32	53,3%

a Se consideró hipertensión a la elevación de la presión sistólica >140 mmHg y/o la diastólica >90 mmHg.

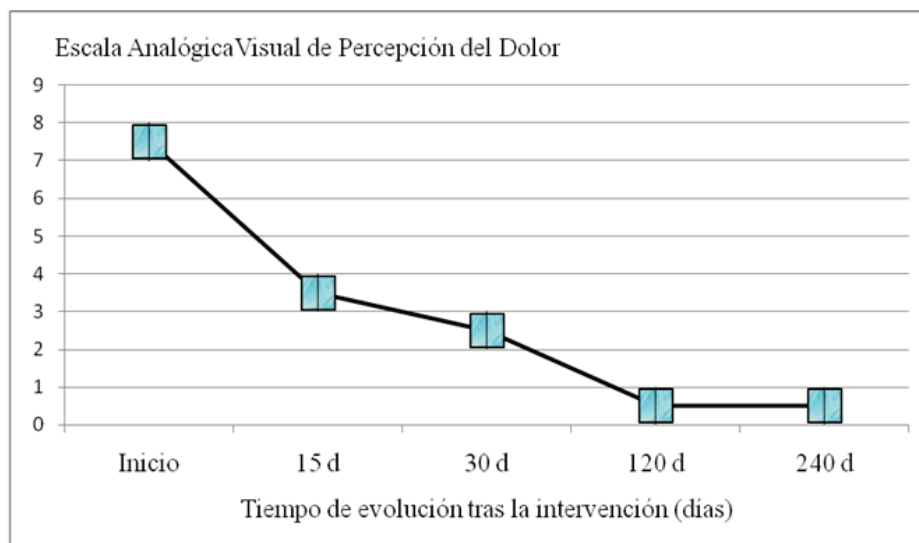
b Glucosa en ayunas >3.58-5.6 mM.

c Valores de colesterol < 200 mg/dl (5,18 mM).

d Valores de IMC > 27. ICM: Índice de masa corporal. PRPO₃: Plasma Rico en Plaquetas Ozonizado.

A los 15 días 58 pacientes reportaron EVA 3-4 puntos que respondía fundamentalmente al dolor local originado en la zona de punción; Lasegue y Bragard negativos; no dolor a la palpación sobre las apófisis espinosas. Los pacientes regresaron a su actividad profesional normal. Un mes después de la intervención 54 pacientes presentaron un EVA de 2-3 puntos; Lasegue y Bragard negativos; no dolor a la palpación sobre apófisis espinosas. A los 4 meses 54 pacientes presentaron un EVA de 0-1 puntos; exploración lumbar negativa y completa recuperación funcional (Figura 1).

Figura 1

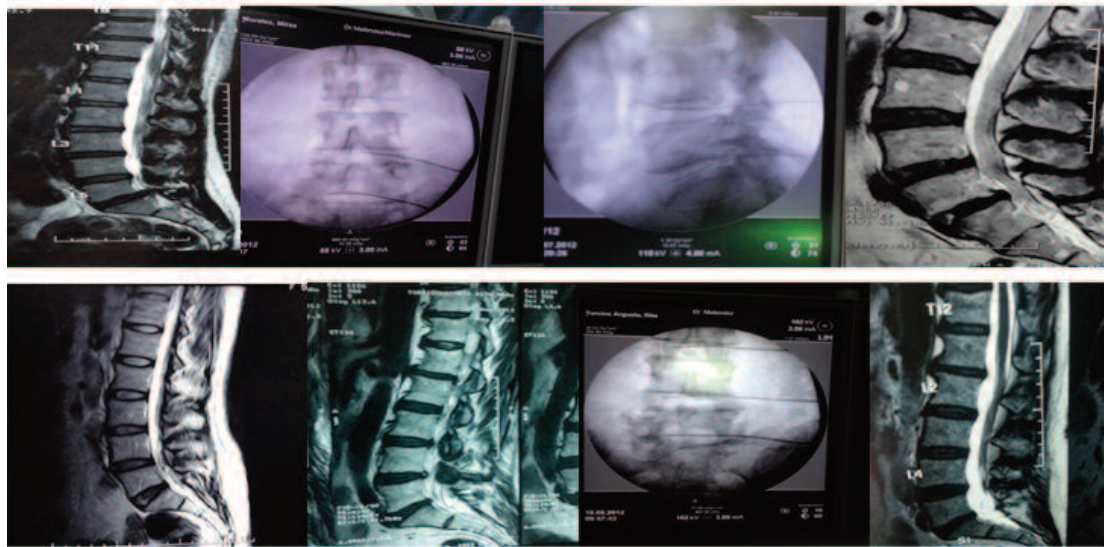


Evolución de la percepción del dolor post tratamiento en base a la escala visual analógica (EVA). Diez representa un dolor insoportable y cero la no presencia de dolor.

A los 6 meses, solo 6 pacientes mantenían quejas de lumbalgia, calificada con un EVA de 5-6 que responde a los antiinflamatorios no esteroideos y fisioterapia, confrontada con un EVA inicial de 7-8. Solo en un paciente fue necesaria la realización de una segunda discólisis a los 15 días de la primera intervención porque su respuesta fue parcial. Tras la segunda intervención se resolvió por completo la sintomatología. Cabe recalcar que el paciente era consumidor habitual de cocaína y no lo había informado.

Dos pacientes (femeninas) presentaron cefaleas transitorias leves y una presentó neuroencefalopatía con mareos y vómitos incapacitante durante 4 días, que obligó a la paciente a guardar reposo en cama durante una semana y a la administración de metocloropramida i.v.; a la semana el cuadro ya estaba completamente resuelto. Se realizó control de resonancia magnética en 35 pacientes a los 4 o 6 meses (no todos los pacientes accedieron a la realización de RM por falta de medios económicos o por no presentar sintomatología alguna, considerándola no necesaria), la cual mostró una reducción significativa del volumen de la hernia y rehidratación parcial de la mayoría de los discos tratados (Figura 2).

Figura 2

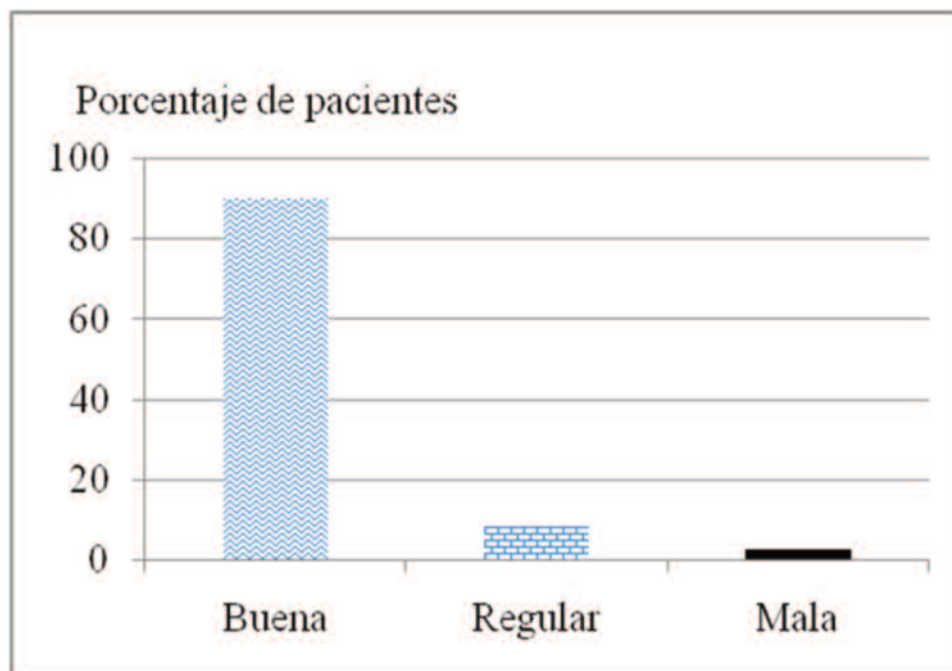


Imágenes representativas de la resonancia magnética de dos pacientes antes y a los 4 meses después del tratamiento. Se observa claramente la resolución de la compresión radicular y el inicio de la rehidratación de los discos L4-L5, L5-S1. Las pacientes se encuentran asintomáticas.

De acuerdo a los datos que arroja este estudio, se puede afirmar que el 90% de los pacientes respondieron de manera muy satisfactoria al tratamiento. Solo el 10% de ellos tuvieron un resultado parcial.

En cuanto a la satisfacción expresada por los pacientes (Figura 3), fue buena para 54 (90%) pacientes, regular para 5 (8,3%) pacientes portadores de discartrosis severa y mala en un paciente (1,6%) que refirió no conseguir mejoría alguna (el paciente no siguió las indicaciones de higiene postural y reposo post-tratamiento).

Figura 3



Percepción cualitativa del grado de satisfacción de los pacientes 6 meses después de la intervención.

Discusión

El uso de concentrados de plaquetas para acelerar el proceso de cicatrización fue descrito inicialmente en 1997.²² Por primera vez, en el 2012 el Dr. Fernando Kirchner aplicó Factores de Crecimiento Ozonizados en el disco vertebral al mismo tiempo que realizaba la discólisis tradicional con ozono. Sus resultados fueron más que buenos, 85% de resolución.²³ Lo anterior coincide con el elevado porcentaje de éxito terapéutico encontrado en este trabajo (90 %).

El presente trabajo se basó en las propiedades regenerativas del PRP que mimetizan los eventos que se suceden durante el proceso fisiológico de cicatrización debido a la liberación de diversos factores de crecimiento. Al ser autólogo, la seguridad del procedimiento es alta y la cantidad requerida se obtiene de la sangre del propio paciente. El PRP es un concentrado que no solo contiene plaquetas, sino que además está formado por plasma, leucocitos, factores de crecimiento, proteínas de secreción y todos los componentes de la cascada de coagulación. Incluye: el factor transformante beta 1 (TGF- β 1), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) entre otros.

La potenciación del mecanismo de cicatrización inducido por concentraciones supra-fisiológicas de plaquetas autólogas en el tejido dañado o zona quirúrgica ha sido demostrado tanto en estudios básicos como clínicos. Debido a la alta concentración y liberación de estos factores el PRP puede potencialmente incrementar el reclutamiento y proliferación de células madres y endoteliales. El ozono promueve la agregación plaquetaria y la liberación de factores

con propiedades mitogénicas, angiogénicas, cito-protectoras y quimiotácticas, especialmente cuando se usa la heparina como anticoagulante,^{24, 25, 26} observándose un significativo aumento de PDGF (*platelet-derived growth factor*), TGF- β 1 (*Transforming Growth Factor β 1*), ecosanoides y de Interleucina 8 (IL-8), por lo tanto, la elección del anticoagulante es crucial cuando pretendemos obtener un plasma rico en factores de crecimiento. Para obtener óptimos resultados se requiere concentrar las plaquetas entre 3-5 veces por encima del valor basal. Teniendo en consideración que un individuo normal tiene alrededor de 200 000 plaquetas/ μ L un concentrado de plaquetas con 1 000 000 plaquetas/ μ L sería óptimo con fines terapéuticos.²⁸ Se ha demostrado que concentraciones superiores no incrementan el efecto, en cuanto a la cicatrización de heridas se refiere. Trabajando bajo estas condiciones este trabajo evidencia que se logran resultados satisfactorios, mantenidos en el tiempo y evidentes tanto desde el punto de vista clínico como de manera objetiva, según lo hemos documentado mediante las imágenes de resonancia magnética.

Para comprender el mecanismo de acción del ozono en el dolor raquídeo es fundamental comprender la fisiopatología de éste. La compresión aislada de la raíz da síntomas deficitarios (parestesias, disestesias, déficit motor), pero no dolor.²⁹ Para que se produzca dolor es preciso que haya irritación química e inflamación de la raíz. El núcleo pulposo del disco herniado contiene altas concentraciones de fosfolipasa A2 que puede iniciar la cascada inflamatoria y de otros mediadores inflamatorios como prostaglandinas, leucotrienos, bradicinina e histamina. Cuando se produce una fisura anular en el disco, que es la primera fase de la degeneración discal, estas sustancias son liberadas por el núcleo y pueden producir radiculitis, aunque no haya compresión radicular.

Así, la aplicación de Ozono y Factores de Crecimiento Intradiscal actúa en diferentes niveles:

1. Inhibe la prostanglandina E2 y de la fosfolipasa A2 (semejante a los esteroides) y otras citocinas proinflamatorias (IL 1, 2, 8, 12, 15, 17, interferón α).
2. Incrementa la liberación de citocinas inmunosupresoras (IL10, factor B1), lo que comporta un efecto analgésico y antiinflamatorio.
3. Incrementa la microcirculación local, reduce la estasis venosa: efecto analgésico, pues la raíz nerviosa es muy sensible a la hipoxia.
4. Presenta efectos directos sobre los mucopolisacáridos y proteoglicanos del núcleo pulposo, lo que se denomina ozonólisis, produciendo una discólisis química con pérdida de agua y deshidratación.
5. Produce posteriormente una degeneración de la matriz, la cual es sustituida por fibras de colágeno, en aproximadamente 5 semanas, y por la formación de nuevas células sanguíneas: reducción del volumen del disco.³⁰

En resumen, hay un cuádruple mecanismo de acción del ozono en el complejo disco radicular: (1) La deshidratación del material discal que disminuiría los factores mecánicos compresivos sobre la raíz. (2) La interrupción del proceso inflamatorio con efecto antálgico de instalación

inmediata con una mejora ostensible del sistema inmunológico. (3) La cicatrización del disco dañado. (4) La revascularización de la zona implicada mejorando el aporte sanguíneo con la desaparición de la hipoxia tisular.³¹ Estos efectos del ozono permitieron el control del síndrome doloroso en estos pacientes; y su asociación con el PRPO₃ incrementó la eficacia del tratamiento al favorecer el proceso de reparación local de los tejidos.

Conclusiones

El abordaje de la hernia discal mediante técnicas mínimamente invasivas con ozono y PRPO₃ es una terapia segura y eficaz, que se justifica ante el alto grado de complicaciones que presentan los métodos quirúrgicos. La práctica de la ozonoterapia se basa en argumentos científicamente sólidos.^{32, 33, 34, 35} Cuando se aplica por personal entrenado, siguiendo los protocolos científicamente aprobados (Ver Declaración de Madrid sobre la Ozonoterapia) y todas las regulaciones de esta práctica médica, su éxito terapéutico es muy elevado y el grado de complicación es mínimo. Lo anterior lo demuestran los resultados de este estudio. La discólisis percutánea con ozono y la infiltración de PRPO₃ con su efecto cicatrizante y reparador sobre el disco, hace de esta técnica una terapia segura y eficaz en el tratamiento de la hernia discal y de la discartrosis.

Referencias

- 1 Davis RA. A long-term outcome analysis of 984 surgically treated herniated lumbar discs. *J Neurosurg.* 1994; 80:415-21.
- 2 Osborn AG. Nonneoplastic disorders of the spine and spinal cord. En: *Diagnostic neuroradiology.* St Louis, Mo: Mosby; 1994 p. 820-75
- 3 Kleikimaki I. Seitsalo S. Osterman H. *et al.* Reoperation after disc surgery a population based study of regional and interspeciality variations. *Spine* 2000; 25: 1500-1508.
- 4 Burton, C. Failed Back surgery patients: The alarm bells are ringing. *Spine Neurology* 2006; 65:5-6.
- 5 Ebeling U, Kalbarcik H, Reulen H. Micosurgical reoperation following lumbar disc surgery. *J Neurosurg* 1989; 70: 397-404.
- 6 Robaina F. J. Situación actual de la cirugía de la columna vertebral degenerativa aplicada al manejo del dolor lumbar crónico: Estenosis de canal. Discopatía degenerativa, resultados basados en la evidencia científica. *Rev. Soc. Esp. Dolor* [revista en la Internet]. 2006 Abr [citado 2012 Jun 23]; 13(3): 167-172. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-80462006000300006&lng=es
- 7 González Alfonso. Más de 25 millones de euros anuales en pruebas por dolor lumbar injustificables. 11/04/2013

http://www.isanidad.es/sociedades.aspx?Id=7484&utm_source=BOLETINisanidad&utm_campaign=1a255e1310-Bolet%C3%ADn_iSanidad&utm_medium=email

8 Bonetti M, Fontana A, Cotticelli B, Dalla Volta G, Guindani M, Leonardi M. Intraforaminal O2-O3 versus periradicular steroidal infiltrations in lower back pain: randomized controlled study. *Am J Neuroradiol.* 2005;26:996-1000.

9 Galluchi M, Limbucci N, Zugaro L, Barile A, Stavroulis E, Ricci A, et al. Sciatica: treatment with intradiscal and intraforaminal injections of steroid and oxygen-ozone versus steroid only. *Radiology* 2007;242:907-13.

10 Francisco N. De Oliveira Magalhaes, Luciana Dotta, Andre Sasse, Manoel J. Teixeira, Erich T. Fonoff. Ozone Therapy as a Treatment for Low Back Pain Secondary to Herniated Disc: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Pain Physician* 2012; 15:E115-E129.

11 Jim Steppan, Thomas Meaders, Mario Muto, and Kieran J. Murphy. A Metaanalysis of the Effectiveness and Safety of Ozone Treatments for Herniated Lumbar Discs. *J VascIntervRadiol* 2010; 21:534–548.

12 Kovacs Foundation. The Effect of Ozone Therapy for Lumbar Herniated Disc. NCT00566007. *Clinicaltrials.gov* (USA). <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00566007?term=ozone&rank=6>

13 University of Sao Paulo. The Effect of Epiduroscopy and Ozone Therapy in Patients With Failed BackSurgery Syndrome. NCT01172457. (USA). <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01172457?term=ozone&rank=4>

14 Alexandre A., J. Buric, R. Paradiso, H. Salgado, M. Murga, L. Corò, A. Albarreal, S. Scopetta, H. Giocoli, F. Marin. Intradiscal Injection of O2-O3 to treat disc herniations. Results at Five Years. *Rivista Italiana di Ossigeno-Ozonoterapia* 2002;1: 165-169.

15 Anitua A. Factores de Crecimiento plasmático. Una revolución terapéutica. *Ideas y Trabajos Odontoestomatológicos* 2001;2(2):90-94.

16 Wang-Saegusa A, Cugat R, Ares O, Seijas R, Cuscó X, Garcia-Balletbó M. Infiltration of plasma rich in growth factors for osteoarthritis of the knee short-term effects on function and quality of life. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2011 Mar;131(3):311-7. doi: 10.1007/s00402-010-1167-3. Epub 2010 Aug 17.

17 Eduardo Anitua, Fernando Fombellida Cortázar, Isabel Andía Ortiz, Francisco Martos Molino Un Nuevo enfoque en la regeneración ósea: plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F). Ed. Eduardo Anitua. Puesta al Día Publicaciones 2004. ISBN 8487673104, 9788487673108, 533 pp.

18 Sánchez M Azofra, Anitua E, Andía I, Padilla S, Mújica I. Use of autologous plasma rich infactors in the treatment of a large, non-traumatic avulsion of articular cartilage a case report.

Med Sci Sport Exer. 2002.

19 Sánchez M, Azofra J, Anitua E, Andia I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achillestendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med.* 2007 Feb;35(2):245-51. Epub 2006 Nov 12.

20 Bijur PE, Silver W, Gallagher PJ. Reliability of the visual analog scale for measurement of acute pain. *Acad Emerg Med* 2001 Dec;8(12):1153-7.

21 WMA. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964: *J Int Bioethique*; 2004. p. 124-29.

22 Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997 Nov;55(11):1294-9.

23 Kirchner, F. Tratamiento de las patologías discales y degenerativas de la columna vertebral con Plasma Rico en Factores de Crecimiento Plaquetario Ozonizados. *Revista Española de Ozonoterapia* 2012; 2(1): 91-106.

24 Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelet. *Mediators of Inflammation*, 1999;8 (4-5):205–9.

25 Re L, Martínez-Sánchez G, Perez Davison G, Sirito M. Role of Ozone/Oxygen in Fibroblast Growth Factor Activation. Discovering the facts. *International Journal of Ozone-Therapy.* 2010;9:55-8.

26 Schwartz A. et al. Factores de Crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades del uso del ozono como activador. *Revista Española de Ozonoterapia* 2011; 1(1): 54-73.

27 Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *J Extra Corpor Technol.* 2004 Mar;36 (1):28-35.

28 Marx Re. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004 Apr;62(4):489-96.

29 Smyth MJ, Wright V. Sciatica and the intervertebral disc. An experimental study. *J Bone Surg.* 1958;40:1401-18.

30 Shamji MF, Setton LA, Jarvis W, So S, Chen J, Jing L, Bullock R, Isaacs RE, Brown C, Richardson WJ. Proinflammatory cytokine expression profile in degenerated and herniated human intervertebral disc tissues. *Arthritis Rheum.* 2010 Jul;62(7):1974-82. doi: 10.1002/art.27444.

- 31 Schwartz Adriana, Claudia Nikolaevna Kontorschikova, Oleg Vitorovich Malesnoko, Gregorio Martínez Sánchez, Lamberto Re, Irina Avenerovna Gribkova. Guía para el uso médico del ozono - Fundamentos terapéuticos e indicaciones, AEPROMO, 2011, 315 p. ISBN: 978-84-615-2244-6.
- 32 Paradiso R, Alexandre A. The different outcomes of patients with disc herniation either by microdiscectomy, or by intradiscal ozone injection. *ActaNeurochir Supp.* 2005;92:139-4.
- 33 Oder B, Loewe M, Reisegger M, Lang W, Ilias W, Thurnher S. CT-guided ozone/steroid therapy for the treatment of degenerative spinal disease-effect of age, gender, disc pathology and multi-segmental changes. *Neuroradiology.* 2008;50:775-85.
- 34 Buric J, Molino Lova R. Ozone chemonucleolysis in non contained lumbar disc hernations: A pilot study with 12 month followup. *ActaNeurochirurgica.* 2005;92:93-7.
- 35 Adriana Schwartz Tapia, Gregorio Martínez-Sánchez. La ozonoterapia y su fundamentación científica. *Revista Española de Ozonoterapia.* 2(1):163-198.
<http://www.revistaespañoladeozonoterapia.es/index.php/reo/article/view/23/23>
- 36 AEPROMO. Declaración de Madrid sobre la Ozonoterapia, Madrid, 2010, http://www.aepromo.org/declaracion_madrid/Declaracion_madrid.pdf

