

سطح استئوپروتئین و ارتباط آن با میزان فیروز اپیدورال به دنبال لامینکتومی در خرگوش

دکتر ایرج لطفی نیا*، دکتر اسماعیل خاکی، دکتر مهران مسگری آ و دکتر رسول استخری^۱

خلاصه

مقدمه: فیروز اپیدورال قسمتی از پاسخ فیزیولوژیک طبیعی به لامینکتومی بوده و ممکن است یکی از علل مهم عدم پاسخ به درمان جراحی باشد. در حال حاضر هیچ درمان طبی و یا جراحی مؤثری برای فیروز اپیدورال وجود ندارد. استئوپروتئین یک ماده محلول از خانواده گیرنده‌های TNF (tumor necrosis factor receptor) می‌باشد که ممکن است نقشی در فیروز اپیدورال بعد از عمل داشته باشد. هدف از بررسی حاضر ارزیابی وجود ارتباط بین سطح استئوپروتئین و فیروز اپیدورال بعد از لامینکتومی می‌باشد.

روش: در این بررسی تعداد شصت خرگوش نیوزیلندی به صورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه A شامل بیست خرگوش به عنوان گروه شاهد و گروه B شامل چهار خرگوش بود که تحت عمل لامینکتومی دوطرفه L4 و L5 در ناحیه کمر با روش معمول قرار گرفتند. بعد از هشت هفته در هر دو گروه خون‌گیری انجام شد و حیوانات گروه مورد بعد از خون‌گیری کشته شده و سگمان L3 تا L6 ستون فقرات به صورت یک تکه خارج گردید و میزان فیروز در محل لامینکتومی با روش شرح داده شده توسط He و همکاران بین صفر تا سه تقسیم شد. با توجه به میزان اسکار گروه مورد به دو گروه کوچک‌تر تقسیم شد: گروه B1 با فیروز کمتر (گرید صفر و یک) و گروه B2 با فیروز بیشتر (گرید دو و سه). در هر سه گروه سطح سرمی استئوپروتئین با روش ELISA مشخص گردید. برای تعیین تفاوت آماری بین گروه‌ها از روش یک طرفه ANOVA استفاده شد. یافته‌ها: سطح استئوپروتئین در گروه A $4-0$ Pmol/l و به طور متوسط $1/5$ Pmol/l، در گروه B1 کم (B1) $6-0$ Pmol/l و به طور متوسط $2/42$ Pmol/l و در گروه B2 با فیروز شدید (B2) $6-0$ Pmol/l و به طور متوسط $2/15$ بود. تفاوت قابل توجهی بین سطح استئوپروتئین بین سه گروه مشاهده نشد. نتیجه‌گیری: این مطالعه هیچ ارتباطی بین سطح استئوپروتئین و فیروز اپیدورال هشت هفته بعد از لامینکتومی نشان نداد.

واژه‌های کلیدی: استئوپروتئین، فیروز اپیدورال، لامینکتومی

۱- دانشیار جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز ۲- دستیار جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز ۳- دکترای دامپزشکی و کارشناس پژوهش، دانشگاه علوم پزشکی تبریز ۴- استادیار پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

* نویسنده مسؤل، آدرس: گروه جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز • آدرس پست الکترونیک: lotfiniai@yahoo.com

پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۱۷

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۷/۵/۳۰

دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۱/۲۵

مقدمه

FBSS (Failed back surgery syndrome) یک سندرم بالینی است که در آن بیمار بعد از یک یا چند عمل جراحی به منظور اصلاح بیماری لومبوساکرال، درد مزمن کمر و یا پا پیدا می‌کند (۱) یکی از علل FBSS فیروز اپیدورال است (۱،۲).

فیروز اپیدورال جایگزینی چربی طبیعی اپیدورال با بافت فیروتیک است که قادر به اتصال و یا ایجاد فشار بر روی ریشه‌های عصبی و احاطه دورمر اطراف این ساختمان‌ها می‌باشد. این وضعیت در نتیجه دستکاری قبلی فضای اپیدورال و یا گذاشتن کاتتر و به‌طور شایع‌تر بعد از جراحی‌های ستون فقرات که شامل Exploration فضای اپیدورال می‌باشد ایجاد می‌شود. فیروز اپیدورال به‌دنبال لامینکتومی دکمپرسیو و جراحی دیسک کمر، به میزان زیادی موجب افزایش زمان و همچنین خطرات اعمال جراحی بعدی مانند آسیب ریشه، پارگی دورمر و یا بی‌ثباتی یا تروژنیک خواهد شد (۳) به این جهت مهم است قبل از دخالت جراحی مجدد، بیمارانی که علائم آن‌ها نشان‌دهنده فیروز اپیدورال است، تشخیص داده شوند. از آنجا که تعداد اندکی نشانه بالینی برای تشخیص این وضعیت وجود دارد (۱) پیدا کردن روش‌های آزمایشگاهی شاید بتواند در این مورد کمک نماید. استئوپروتئین (OPG) یک ماده محلول از خانواده گیرنده‌های TNF (Tumor Necrosis Factor) است که به عنوان یک فاکتور پاراکرین در محیط میکروسکوپی استخوان تأثیر می‌نماید و موجب کاهش جذب استخوان می‌شود (۳-۵). چون OPG به‌وسیله سلول‌های عضلات صاف عروق و سلول‌های اندوتلیال تولید می‌شود و فاکتور رشد و انواع مختلف سیتوکین‌ها تولید آن را افزایش می‌دهند (۶-۸) ممکن است نقش‌های متعددی داشته باشد و برای آن اعمال دیگری نیز ذکر شده است. Sen و همکاران گزارش نموده‌اند بیمارانی با فیروز اپیدورال بعد از عمل جراحی

دارای سطح بالاتری از OPG در مقایسه با بیمارانی بدون فیروز اپیدورال می‌باشند (۳). در بررسی ایشان میزان فیروز اپیدورال با روش تصویربرداری (MRI) تعیین شده و زمان اندازه‌گیری مشخص نشده است. هدف از مطالعه حاضر تعیین سطح OPG در خرگوش‌های بدون فیروز اپیدورال و خرگوش‌های دارای درجات مختلفی از فیروز اپیدورال و تعیین ارتباط بین سطح OPG و میزان فیروز اپیدورال در دو ماه بعد از عمل جراحی می‌باشد.

روش بررسی

تعداد شصت خرگوش مذکر سفید نیوزیلندی با وزن تقریباً مشابه (200 ± 300 گرم) در این مطالعه وارد شدند. خرگوش‌ها به‌صورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه A شامل بیست خرگوش به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد و گروه B حاوی چهل خرگوش بود که تحت عمل جراحی لامینکتومی L4 و L5 قرار گرفتند و در خاتمه لامینکتومی برای تغییر در میزان فیروز اپیدورال این خرگوش‌ها خود به‌صورت تصادفی به دو گروه مساوی تقسیم شدند که در یک گروه بعد از لامینکتومی زخم به صورت آناتومیک بسته شد و در گروه دوم قبل از بستن زخم یک لایه ژل فام برای تغییر در میزان فیروز اپیدورال بر روی دورمر قرار داده شد. نقش ژل فام بر روی فیروز اپیدورال در تحقیق دیگری مورد بررسی قرار گرفته که گزارش آن جداگانه ارائه خواهد گردید.

قبل از عمل جراحی حیوانات از طریق تزریق عضلانی 5mg/kg دیازپام و 30mg/kg کتامین بی‌هوش شدند. برای پیشگیری از عفونت پنی‌سیلین $G(30000\text{ U/Kg})$ به صورت عضلانی تزریق شد. در حین تمامی مراحل درجه حرارت و نبض حیوان کنترل می‌شد. سپس ناحیه لومبوساکرال شیو شده و با محلول بتادین و الکل شستشو داده شد. سپس خرگوش بر روی میز جراحی در حالیکه ناحیه کمر در وضعیت خمیده مختصر بود قرار داده شد و بعد از شستشوی

گرید صفر: دورمر فاقد بافت اسکار بود.
گرید یک: فقط باند و یا باندهای ظریف اسکار بین بافت اسکار و دورمر مشاهده شد.

گرید دو: چسبندگی مداوم مشاهده شد که کمتر از ۲/۳ محل دیفکت لامینکتومی را شامل می‌شد.

گرید سه: اسکار وسیع بوده و چسبندگی مداوم مشاهده شده بیشتر از ۲/۳ محل دیفکت لامینکتومی را شامل می‌شد و یا چسبندگی‌ها به ریشه‌ها نیز گسترش یافته بود.

میزان فیروز برای هر لام مشخص گردید و با توجه به میزان فیروز گروه B به دو گروه کوچک‌تر تقسیم شد: گروه B1 با فیروز کمتر (گرید صفر و یک) که شامل ۲۱ خرگوش بود و گروه B2 با فیروز بیشتر (گرید دو و سه) که شامل ۱۳ خرگوش بود.

بررسی‌های آزمایشگاهی: سطح OPG با روش ELISA ساندویچ (Novartis, England) مشخص گردید. تمامی نمونه‌ها با شماره مشخص شده بود و فرد آزمایش کننده از وضعیت بالینی نمونه‌ها اطلاعی نداشت. تمامی نمونه‌ها دو بار اندازه‌گیری شده و میزان متوسط آن‌ها مشخص گردید.

بررسی‌های آماری: یافته‌ها به صورت متوسط \pm انحراف متوسط بیان شد. از ANOVA یکطرفه جهت تعیین اهمیت تفاوت بین گروه‌های مختلف خرگوش‌ها استفاده شد. $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. یافته‌ها با استفاده از برنامه SPSS برای ویندوز (Version 13) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

گروه کنترل شامل ۲۰ مورد بود سطح OPG در این گروه 4 Pmol/l - و به‌طور متوسط $1/5 \text{ Pmol/l}$ بود. گروه با فیروز کم از ۲۱ خرگوش تشکیل شده بود که سطح OPG در آن‌ها 6 Pmol/l - و به‌طور متوسط $2/42 \text{ Pmol/l}$ بود. گروه با فیروز شدید از ۱۳ خرگوش تشکیل شده بود که سطح OPG در آن‌ها 6 Pmol/l - و به‌طور متوسط 1 Pmol/l

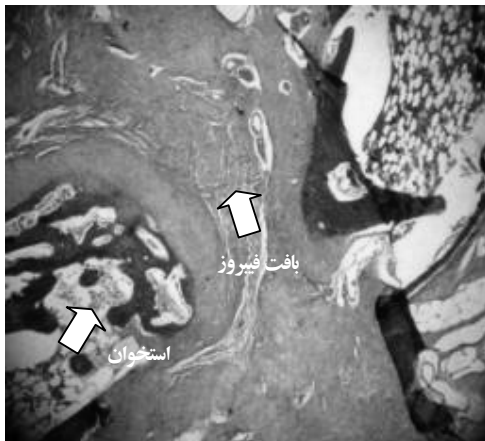
مجدد با محلول بتادین ناحیه لومبوساکرال به صورت استریل پوشانده شد. در محاذات مهره‌های L4 تا L6 برش پوستی در خط وسط داده شد و بعد از بریدن فاسیا و جدا نمودن عضلات، زوائد شوکی و لامینای مهره‌های L4 و L5 به‌طور کامل با استفاده از گوژ ظریف و پانچ کریسون یک میلی‌متری برداشته شد. لیگمان فلاوم و چربی اپیدورال به‌طور کامل برداشته شد و دورمر به‌طور کامل اکسپوز گردید. در طول عمل سعی در ایجاد هموستاز کامل بود. بعد از خاتمه عمل لایه‌ها به صورت آناتومیک با استفاده از ویکریل ترمیم شدند. تمامی حیوانات به یک روش تحت عمل جراحی قرار گرفتند. بعد از خاتمه عمل خرگوش‌ها به مدت هشت هفته در قفس نگهداری شدند و در این مدت دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. بعد از خاتمه زمان فوق اقدام به گرفتن خون از طریق رگ‌های محیطی گردید. در خرگوش‌های عمل نشده نیز که به عنوان گروه شاهد بودند خون‌گیری انجام شد و بعد از سانتریفوژ پلاسما در حرارت منهای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری شد. بعد از خون‌گیری خرگوش‌های گروه B با در نظر گرفتن راهبردهای Euthanasia کشته شدند.

ارزیابی هیستولوژیک: ستون فقرات از ناحیه L3 تا L6 به‌صورت یک تکه همراه با عضلات پاراسپینال خارج گردید و در فورمالین ده درصد فیکس شد. محل عمل مشخص گردید و با استفاده از اره سه برش به ضخامت دو میلیمتر، یکی در بالا و یکی در وسط و یکی در پایین محل عمل تهیه شد. نمونه‌ها جهت دکلسیفیکاسیون به مدت یک هفته در محلول اسید فورمیک پنج در صد قرار داده شده و بعد از قرار دادن در پارافین و برش با میکروتوم از هر نمونه چندین لام تهیه شد. لام‌ها با استفاده از روش استاندارد بوسیله هماتوکسیلین - ائوزین و همچنین ماسون تری کروم رنگ‌آمیزی شد (شکل ۱- الف و ب). وسعت فیروز موجود در اطراف دورمر با روش شرح داده شده توسط He و همکاران (۹) به صورت زیر تقسیم‌بندی شد:

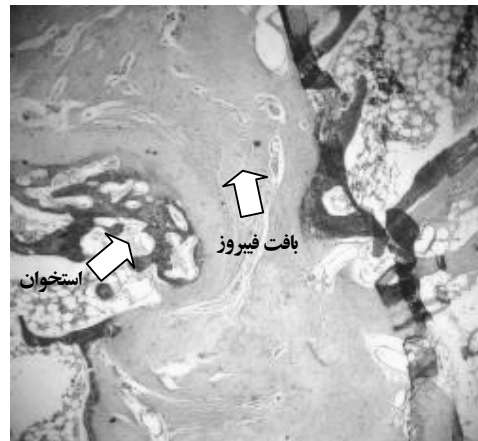
۲/۱۵ بود. نتایج به‌طور خلاصه در جدول زیر نشان داده شده است. همانطور که در جدول مشاهده می‌شود از نظر آماری هیچ تفاوت معنی‌داری بین سه گروه دیده نمی‌شود.

جدول ۱: سطح OPG در سه گروه بررسی شده ($P=0/242$)

گروه‌ها	سطح OPG (Pmol/L)	میانگین	انحراف معیار	تعداد
کنترل	۰-۴	۱/۵۰۰۰	۱/۶۳۸۴	۲۰
فیروز کم	۰-۶	۲/۴۲۸۶	۲/۰۳۸۹	۲۱
فیروز زیاد	۰-۶	۲/۱۵۳۸	۱/۴۶۳۲	۱۳
جمع	۰-۶	۲/۰۱۸۵	۱/۷۸۵۶	۵۴



ب



الف

شکل ۱: بافت فیروز در محل دیفکت لامینکتومی

الف: رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین

ب: رنگ‌آمیزی ماسون-تری کروم

عامل دردهای راجعه و یا اختلالات فیزیکی موجود در معاینه مانند ضعف اندام‌های تحتانی باشد (۱،۲،۹). North و همکاران (۱۰) و Dullerud و همکاران (۱۱) ارتباطی را بین میزان فیروز اپیدورال و نتایج بالینی نامناسب به دنبال عمل جراحی گزارش نمودند. از عوارض دیگر وجود اسکار اپیدورال به دنبال عمل جراحی این است که اعمال جراحی بعدی مشکل‌تر شده و موجب افزایش خطر وقوع عوارض

بحث

فیروز اپیدورال به دنبال عمل جراحی ناحیه کمر ممکن است رخ دهد و ممکن است یکی از علل FBSS (Failed back surgery syndrome) باشد. این سندرم با عود راجعه رادیکولوپاتی و علائمی مانند ضعف و درد در اندام‌های تحتانی مشخص می‌شود. فشرده شدن و یا کشیده شدن ریشه‌های عصبی و یا گانگلیون ریشه در سال می‌تواند

گزارش شده سطح بالای OPG سرم با وجود و همچنین شدت بیماری عروق کرونر ارتباط دارد و به همین جهت این عقیده مطرح شده که سطح OPG سرم ممکن است عاملی در کلسیفیکاسیون عروق باشد (۲۸-۲۶). Moran و همکاران ارتباطی بین سطح OPG و رشد آنورسم آئورت شکمی نشان دادند (۲۹). Sen و همکاران نشان دادند در بیماران که بعد از عمل دچار فیروز اپیدورال هستند سطح OPG بالاتر از بیماران است که فیروز اپیدورال ندارند. به نظر آن‌ها علت این امر مربوط به افزایش فاکتورهای رشد و یا سیتوکین‌ها به ویژه TGF- β می‌باشد. آن‌ها مشاهده نمودند TGF- β 1 همراه با تشکیل بافت فیروز در پریتون و سایر بافت‌ها خواهد بود و به این جهت به عقیده آن‌ها نقش اساسی را در تشکیل چسبندگی‌ها دارد (۳). مطالعات اخیر ارتباط فراوانی را بین سطح OPG با سطح مارکرهای التهابی مانند CRP و تعداد گلبول‌های خون نشان داده است (۱۸، ۱۹). Kim و همکاران ارتباط بین سطح OPG سرم را با interleukin-1 و CRP نشان دادند (۱۸).

در مطالعه حاضر تلاش شد بر اساس یافته‌های پاتولوژیک ارتباط بین سطح OPG و فیروز اپیدورال مشخص شود. در بررسی Sen و همکاران در تمام بیماران برای ارزیابی فیروز اپیدورال از MRI استفاده شده است (۳) و با توجه به اطلاعات نویسنده‌گان، این مطالعه تنها بررسی است که برای ارزیابی ارتباط بین سطح OPG و فیروز اپیدورال صورت گرفته است. همچنین طبق اطلاعات ما بررسی حاضر، تنها مطالعه‌ای است که در ارتباط با فیروز اپیدورال دو ماه بعد از عمل با توجه به یافته‌های پاتولوژیک صورت گرفته است.

در این بررسی سطح OPG دو ماه بعد از عمل تفاوت قابل توجهی بین گروه‌های دارای فیروز (با درجات مختلف) با گروه شاهد (بدون فیروز) نداشت. متأسفانه Sen و همکاران زمان اندازه‌گیری OPG و بررسی MRI را ذکر نکرده‌اند. بر اساس اطلاعات موجود و ارتباط بین سطح

خواهد گردید (۱۲، ۱۳، ۱۴). فیروز در نتیجه وجود هماتوم، باقی ماندن بافت‌های نکروتیک و یا واکنش به مواد خارجی رخ می‌دهد. گزارش شده فقط ۳۳٪ از بیماران که تحت عمل جراحی مجدد قرار می‌گیرند بهبود مداوم علائم را نشان می‌دهند (۱۳، ۱۴). OPG ممکن است نقشی در فیروز اپیدورال بعد از عمل داشته باشد. کشف سیستم OPG/RANKL (Osteoprotegerin/Receptor activator of NF- κ B- ligand) نشان داد این مکانیسم مولکولی مسئول تنظیم remodeling استخوان می‌باشد (۳، ۴، ۱۵). استئوبلاست‌ها و سلول‌های استروما RANKL تولید می‌کنند که به گیرنده‌های RANK بر روی پیش سلول‌های استئوکلست متصل شده و مانع از بلوغ آن‌ها و تولید استئوکلست‌های بالغ و دارای کارکرد می‌شود. OPG یک محلول گیرنده رقابتی می‌باشد که توسط استئوبلاست‌ها و سایر سلول‌ها تولید می‌شود و اتصال آن به RANKL مانع از همراهی RANKL با RANK که برای بالغ شدن استئوکلست‌ها ضروری است می‌شود. چندین بررسی *in vivo* نشان داده است تجویز دوز بالای OPG مانع از تخریب استخوانی همراه با بیماری‌های پیشرفته استخوان و یا تومور می‌شود (۱۵). علاوه بر نقش این ماده در turn over استخوان مدارکی در دست است که OPG به علت توانایی آن برای اتصال و مهار تعدادی از اعضای TNF مانند TNF- α و TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) ممکن است دارای اعمال دیگری نیز باشد (۲۳-۱۵). اخیراً نشان داده شده است OPG یک عامل بقاء در انواع مختلفی از سلول‌ها می‌باشد. این تأثیر اساساً با اتصال OPG به TRAIL صورت می‌گیرد. TRAIL در سلول‌های حساس با اتصال به گیرنده‌های خود موجب ایجاد آپوپتوزیس می‌شود، گیرنده‌های TRAIL شامل TRAIL R1، TRAIL R2، TRAIL R5 می‌باشد OPG با اتصال به گیرنده‌های TRAIL و مسدود نمودن رقابتی آن‌ها مانع از آپوپتوزیس ایجاد شده توسط TRAIL می‌شود (۲۴، ۲۵). OPG ممکن است نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های عروقی داشته باشد. در بررسی‌های بالینی اخیر

مطالعات بیشتری برای ارزیابی ارتباط بین فیروز اپیدورال و سطح OPG در فواصل مختلف بعد از عمل توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

در خاتمه بر خود لازم می‌دانیم از زحمات آقای مهندس عبدالرسول صفائیان مربی آمار دانشگاه علوم پزشکی تبریز که زحمت بررسی آماری این پژوهش را قبول نمودند تقدیر و تشکر نماییم.

OPG و میزان التهاب و با توجه به اینکه در مراحل اولیه بعد از عمل میزان التهاب بیشتر است، حدس زده می‌شود این بررسی در فاصله کوتاهی بعد از عمل صورت گرفته در نتیجه التهاب بیشتر و به دنبال آن فیروز بیشتر همراه با سطح بالاتری از OPG بوده است. در طولانی مدت که التهاب کاهش می‌یابد، ارتباطی بین سطح OPG و فیروز اپیدورال وجود ندارد.

نتیجه

در این بررسی ارتباطی بین سطح OPG و فیروز اپیدورال هشت هفته بعد از عمل مشاهده نشد. با این وجود

The Relationship between Serum Level of Osteoprotegerin and Post-laminectomy Epidural Fibrosis in Rabbit

Lotfinia I., M.D.^{1*}, Khallaghi E., M.D.², Mesgari M., D.V.M.,³ Estakhri R., Ph.D.⁴

1. Associate Professor of Neurosurgery, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

2. Resident of Neurosurgery, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

3. Research Assistant, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

4. Assistant Professor of pathology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

* Corresponding author, e-mail: lotfinia@yahoo.com

(Received. 13 April 2008 Accepted 8 Oct. 2008)

Abstract

Background & Aims: Epidural fibrosis (EF) is part of natural physiological tissue response to laminectomy and it may be an important cause of failed back surgery syndrome (FBSS). There is still no effective medical or surgical therapy for EF. Osteoprotegerin (OPG) is a soluble member of the tumor necrosis factor receptor family that might play a role in postoperative EF. The objective of this study was to evaluate the relationship between serum OPG level and EF after laminectomy.

Methods: Sixty rabbits were employed and divided randomly into two groups. Group A contained 20 rabbits as controls and group B contained 40 rabbits that underwent bilateral laminectomy at L4 and L5 lumbar levels under an approved surgical protocol. Serum sample was obtained after 8 weeks from all rabbits and then the animals in group B were killed in accordance with the guidelines for euthanasia. The spine segment from L3 to L6 was removed en bloc. The amount of scar tissue at the laminectomy defect was scored on an ordinal score from 0 to 3 with a scoring system similar to that of He et al. According to the amount of scar the rabbits in group B, were divided into two groups: B1 with low fibrosis (grade 0, 1) and B2 with high fibrosis (grade 2, 3). The serum OPG level of groups A, B1 and B2 were determined using ELISA method. The one way ANOVA was used to assess significant difference among groups.

Results: Serum OPG level ranged from 0-4 Pmol/l with a median of 1.5 Pmol/l in group A, 0-6 Pmol/l with a median of 2.42 Pmol/l in group B1 and 0-6 Pmol/l with a median of 2.15 Pmol/l in group B2. There was not any significant difference in OPG levels among these 3 groups.

Conclusion: This study showed no relation between OPG level and existence of postlaminectomy EF after 8 weeks.

Keyword: Osteoprotegerin, Fibrosis, Epidural space, Laminectomy

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2009; 16(1): 55-63

References

1. Samy A, Russell H. Epidural fibrosis and the failed back surgery syndrome: history and physical findings. *Neurological research* 1999; 21: 55-8.
2. Alkalay RN, Kim DH, Urry DW, XU J, Parker TM, Glazer PA. Prevention of postlaminectomy epidural fibrosis using bioelastic materials. *Spine* 2003; 28(15): 1659-65.
3. Sen O, Gokcel A, Kizilkilic O, Erdogan B, Aydin MV, Sezgin N, *et al.* The relation between serum levels of osteoprotegerin and postoperative epidural fibrosis in patients who underwent surgery for lumbar disc herniation. *Neurol Res* 2005; 27 (4): 452-5.
4. Erdogan B, Aslan E, Bagis T, Gokcel A, Erkanli S, Bavbek M, *et al.* Intima-mediated thickness of the carotid arteries is related to serum osteoprotegerin levels in healthy postmenopausal women. *Neurol Res* 2004; 26(6): 658-61.
5. Holen I, Cross SS, Neville-Webbe HL, Cross NA, Balasubramanian SP, Croucher PI, *et al.* osteoprotegerin (OPG) expression by breast cancer cells in vitro and breast tumours *in vivo* – a role in tumor cell survival? *Breast Cancer Res Treat* 2005; 92(3):207-15.
6. Maïmoun L, Couret I, Mariano-Goulart D, Dupuy AM, Micallef JP, Peruchon E, *et al.* Changes in osteoprotegerin/RANKL system, bone mineral density, and bone biochemical markers in patients with recent spinal cord injury. *Calcif tissue Int* 2005; 76(6): 404-11.
7. Neumann T, Oelzner P, Petrow PK, Thoss K, Hein G, Stein G, *et al.* Osteoprotegerin reduces the loss of periarticular bone mass in primary and secondary spongiosa but does not influence inflammation in rat antigen – induced arthritis. *Inflamm Res* 2006; 55(1): 32-9.
8. Saidenberg-Kermanac'h N, Bessis N, Lemeiter D, de Vernegoul MC, Boissier MC, Cohen-Solal M. Interleukin – 4 cellular gene therapy and osteoprotegerin decrease inflammation – associated bone resorption in collagen-induced arthritis. *J Clin Immunol* 2004; 24(4): 370-8.
9. Kim KD, Wang JC, Robertson DP, Brodke DS, BenDebba M, Block KM, *et al.* Reduction of leg pain and lower – extremity weakness for 1 year with oxiplex/sp gel following laminectomy, laminotomy and discectomy. *Neurosurg focus* 2004 17(1): ECP1.
10. North RB, Ewend MG, Lawton MT, Kidd DH, Piantadosi S. Failed back surgery syndrome: 5-year follow up after spinal cord stimulator implantation undergoing repeated operation. *Neurosurgery* 1991; 28(5): 692-9.

11. Dullerud R, Graver V, Haakonsen M *et al.* Influence of fibrinolytic factors on scar formation after lumbar discectomy. A magnetic resonance imaging follow-up study with clinical correlation performed 7 years after surgery. *Spine* 1998; 23: 1464-9.
12. Rodgers K, Robertson JT, Espinoza T, Oppelt W, Cortese S, dizerega GS, *et al.* Reduction of epidural fibrosis in lumbar surgery with oxiplex adhesion barriers of carboxymethylcellulose and polyethylene oxide. *Spine J* 2003; 3(4): 277-84.
13. Kim KD, Wang JC, Robertson DP, Brodke DS, Olson EM, Duberg AC, *et al.* Reduction of radiculopathy and pain with oxiplex/sp gel after laminectomy, laminotomy and discectomy. *Spine* 2003; 28(10): 1080-7.
14. Luukkonen MT. Medial facetectomy in recurrent lumbar nerve root compression. *J Spinal Disord Tech* 2005; 18(1): 48-51.
15. Neville-webbe HL, Cross NA, Eaton CL, Nyambo R, Evans CA, Coleman RE, *et al.* Osteoprotegerin (OPG) produced by bone marrow stromal cells protects breast cancer cells from TRAIL- induced apoptosis. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 86(3): 269-79.
16. Rosso DA, Karis J, Braier J, Henter JI, Fadeel B. Elevated serum levels of the decoy receptor osteoprotegerin in children with langerhans cell histiocytosis. *Pediatr Res* 2006; 59(2): 281-6.
17. Jono S, Ikari Y, Shioi A, Mori K, Miki T, Hara K, *et al.* Serum Osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation* 2002; 106(10): 1192-94.
18. Kim SM, Lee J, Ryu OH, Lee KW, Kim HY, Seo JA, *et al.* Serum Osteoprotegerin levels are associated with inflammation and pulse wave velocity. *Clin Endocrinol* 2005; 63(5): 594-8.
19. Gravallese EM. Bone destruction in arthritis. *Ann rheum dis* 2002; 61 (suppl 2):84-6.
20. Stilgren LS, Hegedüs LM, Beck-nielsen H, Abrahamsen B. Osteoprotegerin levels in primary hyperparathyroidism: effect of parathyroidectomy and association with bone metabolism. *Calcif Tissue Int* 2003; 73(3): 210-6.
21. Magal I, Lebel E, Altarescu G, Itzhaki M, Rudensky B, Foldes AJ, *et al.* Serum levels of osteoprotegerin polymorphisms in Gaucher disease. *BrJ Haematol* 2006; 133(1): 93-7.
22. Mandelin J, Li TF, Liljeström M, Kroom ME, Hancmaaijer R, Santavirta S, *et al.* Imbalance of rankl/rank/opg system in interface tissue in loosening of total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br* 2003; 85(8): 1196-201.
23. Crisafulli A, Micari A, Altavilla D, Saporito F, Sardella A, Passaniti M, *et al.* Serum levels of osteoprotegerin and RANKL in patients with ST elevation acute myocardial infarction. *Clin Sci* 2005; 109(4): 385-95.
24. Harada M, Osuga Y, Hirata T, Hirota Y, Koga K, Yoshino O, *et al.* Concentration of osteoprotegerin (OPG) in peritoneal fluid is increased in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2004; 19(10): 2188-91.
25. Lipton A, Ali SM, Leitzel K, Chinchilli V, Witters L, Engle L, *et al.* Serum osteoprotegerin levels in healthy controls and cancer patients. *Clin Cancer Res* 2002; 8(7): 2306-10.

26. Nitta K, Akiba T, Uchida K, Otsubo S, Takei T, Yumura W, *et al.* Serum osteoprotegerin levels and the extent of vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19(7): 1886-9.
27. Avignon A, Sultan A, Piot C, Elaerts S, Cristol JP, Dupuy AM. Osteoprotegerin is associated with silent coronary artery disease in high-risk but asymptomatic type 2 diabetes patients. *Diabetes Care* 2005; 28(9): 2176-80.
28. Browner WS, Lui LY, Cummings SR. Association of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures and mortality in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(2): 631-7.
29. Moran CS, McCann M, Karan M, Norman P, Ketheesan N, Golledge J. Association of osteoprotegerin with human abdominal aortic aneurysm progression. *Circulation* 2005; 111(23): 3119-25.

