

Hiperbarik oksijen uygulamasının farelerde otoklavize otojen kemik greftinin inkorporasyonu üzerine etkisi (Deneyisel çalışma)

Fahri Erdoğan⁽¹⁾, Müfit Orak⁽²⁾, Şamil Aktaş⁽³⁾, Ercan Türeci⁽⁴⁾, Vakur Olgaç⁽⁵⁾,
Levent Kabasakal⁽⁶⁾, Önder Aydingöz⁽⁷⁾

Malign kemik tümörlerinin lokal rezeksiyon ile tedavi edilmeleri sırasında oluşan büyük kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu önemli bir problemdir. Bu amaçla otoklavize otojen kemik greftleri de kullanılmaktadır. Fakat geç kaynama ve kaynamama, enfeksiyon gibi dezavantajları nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Biz bu çalışmamızda hiperbarik oksijen (HBO) uygulamasının greftin inkorporasyonunu nasıl etkilediğini araştırdık. Bu amaçla 60 adet Wistar cinsi fare 30'luk iki gruba ayrıldı. Tibia diafizinden çıkarılan 5-7mm'lik segmentler otoklavize edilerek reimplante edildi. Deney grubuna HBO uygulanırken kontrol grubuna HBO uygulaması yapılmadı. 15, 45 ve 90 günlük takipler sonunda fareler sakrifiye edilerek radyolojik, sintigrafik ve histopatolojik olarak karşılaştırıldı. Sonuç olarak her üç parametrede HBO uygulamasının greftin kaynamasını hızlandırdığını gösterdi.

Anahtar kelimeler: Otojen otoklavize greft, hiperbarik oksijen, greft inkorporasyonu

Effect of hyperbaric oxygen therapy on the incorporation of autoclaved autogenous bone grafts by rats (experimental study)

Replacement of the resected bone after wide local resection in the treatment of malignant tumors is a challenging surgical problem. Replantation of resected and autoclaved bone is a well known procedure for reconstruction. The use of autoclaved graft is limited because of its drawbacks such as delayed union, nonunion and infection. We investigated the effect of hyperbaric oxygen therapy (HBO) on incorporation of autoclaved bone. In 60 Wistar Rat, 5-7 mm left tibial segment was resected under anesthesia. In each animal, defect was reconstructed by reinserting the resected segment after autoclaving (121 C° / 20 minutes) with intramedullary Kirschner wire fixation. While half the animals had HBO therapy after operation, the other half were left at standart temperature and pressure (STP). Incorporation of the grafts were studied at 15, 45 and 90 days after surgery radiographically, scintigraphically and histopathologically. We concluded that HBO therapy improves incorporation of autoclaved autologous bone in the light of statistical methods.

Keywords: Autologous autoclaved bone, hyperbaric oxygen therapy, graft incorporation

Kötü huylu kemik tümörlerinin tedavisinde ekstremitte koruyucu cerrahinin ön plana çıkması ve lokal rezeksiyon kavramının yerleşmesi ile ortopedik cerrahinin karşısına yeni bir problem çıkmıştır (kemikte oluşan boşluğun ekstremitenin fonksiyonlarını koruyacak şekilde rekonstrüke edilmesi). Bu problemin çözülmesi için rezeksiyon tipi protezler (2, 5) veya biyolojik rekonstrüksiyon için allogreftler ya da her ikisinin kombinasyonları kullanılmaktadır (5). Protezlerle yapılan rekonstrüksiyonlarda mikro hareketlerin neden olduğu gevşeme ve zaman içerisinde gelişen metal yorgunluğunun yol açtığı protez kırılmaları gibi sorunlar bizleri biyolojik rekonstrüksiyonlara doğru yönlendirmektedir. Bunun yanı sıra bu kadar büyük boşlukların otojen greft ile doldurulması da mümkün değildir. Otojen greftlere seçenek olarak allogreftler düşünüldüğünde ise, elde edilmeleri, hazırlanmaları ve depolanmaları yönünden sosyal ve ekonomik problemler aşılabilmiş değildir. Ayrıca bazı hastalıkların taşınması yönündeki kuşklar halen

sürmektedir. Rezeke edilmiş tümörün otoklavize edildikten sonra yeniden implante edilmesi hem oluşan defekti anatomik açıdan tam olarak doldurması hem de diğer yöntemlerin getirmiş olduğu sorunların bir kısmını o an için çözmesi yönünden gereğinde kullanılabilir bir yöntem olarak uygulanmaktadır (9, 11, 12, 13, 14). Ancak enfeksiyon ve immünolojik reaksiyonlar, bunların getirdiği kaynama gecikmesi ya da kaynamama sorunları bunların uygulanmalarında da kısıtlanmalara neden olmaktadır (9, 12).

Hiperbarik oksijen uygulaması (HBO), %100'lük saf oksijenin atmosfer basıncının üzerindeki bir basınç altında inhalasyonu ile yaptırılan bir tedavi yöntemidir. Bu yöntemle plazmada çözünen oksijen miktarı artırılarak, yani oksijenin parsiyel basıncı artırılarak hipoksik dokulara oksijen diffüzyonu hızlandırılır. Doku oksijen perfüzyonunun artması sonucunda fibroblastik aktivitede artma, kollajen formasyonu, angiogenesis ve hipoksik lökositlerin fagositoz

(1) İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Uzman Dr.

(2) İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

(3) İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Deniz ve Sualtı Hekimliği Anabilim Dalı, Doç. Dr.

(4) İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Uzman Dr.

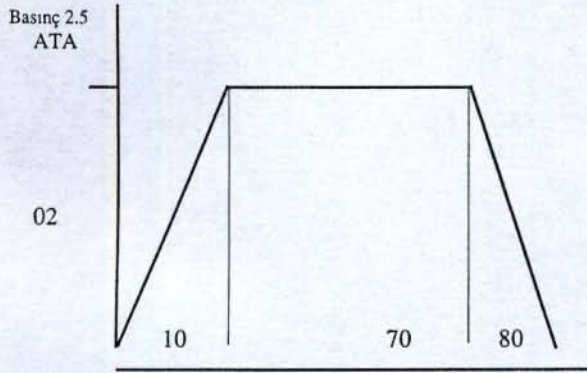
(5) İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Enstitüsü, Patoloji Bölümü, Uzman Dr.

(6) İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Doç. Dr.

(7) İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Doç. Dr.

Fare sayısı	Ölüm nedeni	HBO grubu	Kontrol grubu
5	Anestezi komplikasyonu	3	2
6	Enfeksiyon	1	5
3	Nedeni belirsiz	2	1

Tablo 1: Ölüm nedeniyle çalışma grubu dışına çıkarılan fareler



SÜRE (dakika)

Şekil 1: HBO uygulama profili

yeteneklerinde artma olur. Yeni kapiller yataklar oluşması, mikrosirkülasyonun artması ve granülasyon dokusu oluşumu yara iyileşmesi üzerine olumlu ve hızlandırıcı etki yapar (3, 8).

Biz bu çalışmamızda, enfeksiyon, kaynama gecikmesi veya kaynamama gibi otoklavize grefte ait sorunların çözümü ve greftin inkorporasyonunun artırılması düşüncesiyle, hiperbarik oksijen uygulamasının etkilerini bu teknikte ameliyat edilmiş fareler üzerinde araştırmayı amaçladık.

Gereç ve yöntem

Çalışmanın başlangıcında 60 adet fare 30'luk iki grup halinde ayrıldı. Deney grubu ameliyattan sonraki 1. gün HBO tedavisine alındı. Diğer 30 fareden oluşan grup ise HBO tedavisi almayarak kontrol grubunu oluşturdu. Winster cinsi farelerle yapılan çalışmada farelerin ortalama ağırlığı 275 gram (240-320) olup, ortalama yaşları 6 ay (4 -9) idi. Deney grubunda anestezi komplikasyonu nedeniyle ameliyat sırasında ölen 3 fare çıktıktan sonra kalan 27 hayvan HBO tedavisi için ameliyattan sonra İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Deniz ve Sualtı Hekimliği Anabilim Dalına gönderildi. Kontrol grubunda da aynı nedenle ölen 2 fare çıkarıldıktan sonra kalan 28 farelik grup ise ameliyatın yapıldığı İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarında takibe alındı. Her iki gruptaki farelerden toplam 14 tanesi Tablo 1'de belirtilen nedenlerden dolayı öldükleri için çalışma kapsamına alınmadılar.

Ameliyat tekniği: Farelerin ameliyattan bir gün önce sol arka bacaklarına Lapidin jenerik isimli tüy dökücü krem sürüldü. Ameliyat günü kıllar temizlen-

Deney grubu			
Fare sayısı	Ameliyat tarihi	Sakrifikasyon tarihi	Sonuç
6	28. 11. 1997	26. 2. 1998	90 gün
2	05. 12. 1997	05. 3. 1998	90 gün
3	05. 12. 1998	20. 1. 1998	45 gün
5	16. 1. 1998	02. 3. 1998	45 gün
8	15. 1. 1998	30. 1. 1998	15 gün
Kontrol grubu			
Fare sayısı	Ameliyat tarihi	Sakrifikasyon tarihi	Sonuç
6	01. 12. 1997	01. 3. 1998	90 gün
4	24. 12. 1997	07. 2. 1998	45 gün
5	12. 1. 1998	26. 2. 1998	45 gün
7	19. 1. 1998	03. 2. 1998	15 gün

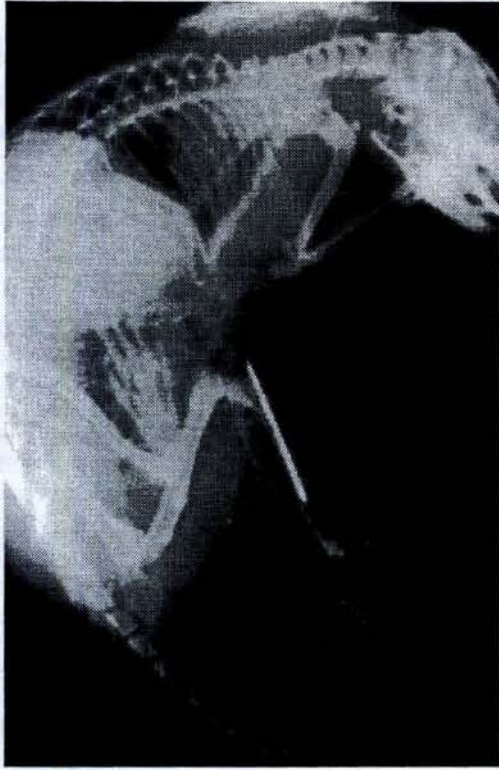
Tablo 2: Deney ve kontrol gruplarının çalışma içerisindeki dağılımı

dikten sonra povidon iyodür ile bacak temizlendi ve steril delikli kompres ile örtüldü. Steril sahadaki bacak tekrar povidon iyodür ile temizlendi. Diz fleksiyona getirilerek belirginleştirilen tibia ön yüzünde antero-medial 2 cm'lik cilt ciltaltı kesi yapıldı. İnsizyon boyunca periost kesildi ve kemik elevatörü yardımı ile yumuşak dokularla birlikte kemikten ayrıldı. İnce testere yardımı ile tibia diafizi iki değişik yerden osteotomize edilerek 5-7 mm'lik kemik segmenti çıkarıldı. Çıkarılan segment otoklava gönderildi. Otoklav süresi boyunca yara ıslak gaz ile korundu. Geri gelen otoklavize greft steril koşullarda anatomik yerine yerleştirilerek intrameduller olarak 0.6 mm'lik Kirschner teli ile tespit edildi. Tespitin yeterliliğinden emin olunduktan sonra periost ve cilt altı dokular tek kat olarak absorbe olabilmeyen dikiş (Vicryl 3/0) ile kapatıldı. Cilt ise absorbe olmayan dikiş (Prolen 4/0) ile kapatıldı. Yara bölgesi tekrar antiseptik ile temizlendi. Gazlı bez pansuman olarak kurdela şeklinde insizyonun üzerine bağlandı. Hiçbir farede dıştan tespit yapılmadı.

Anestezi tekniği: 1.5 mg Rompun (Xsilazin) İ.M. ve 15mg Ketalar (Ketamin) İ.M. uygulamayla anesteziye başlandı. Segment çıkarıldıktan sonra otoklavize edilip geri gelmesi ortalama 30 dakikalık bir süre gerektiriyordu, bu süre içinde hiçbir ağrı uyaran verilmemesine rağmen, fareler uyandırları için 5 mg'lık ketamin İM uygulamasıyla anestezi sürdürüldü. Greft tekrar yerine yerleştirilmeden önce 1.5mg Xsilazin verilerek anestezi derinleştirildi. Anestezi komplikasyonu nedeniyle ölen 5 fare de bu bekleme aşamasından sonra verilen dozların çalışmanın başlangıç döneminde ayarlanamaması nedeniyle öldüler.

Hiperbarik Oksijen Uygulama Protokolü:

Fareler 0.4 m³ hacimli, tek bölmeli, deney basınç odasında 2.5 ATA'lık basınç altına alındılar. Basınç odasında 1 ATA'lık basınçta %100 oksijenle 10 dakika dalış, 60 dakika 2.5 ATA'lık tedavi derinliği ve 10 dakika çıkıştan oluşan bir tedavi profili düzenlendi (Şekil 1). Bu profil ameliyat sonrası birinci gün başlamak kaydıyla günde bir kez, haftada yedi gün olmak üzere hiç ara vermeden belirtilen sürelerde uygulandı. Bu süreler Tablo 2'de verildiği gibi 8 fare



Şekil 2: Hemen ameliyat sonrası çekilen direkt grafi

Kontrol grubu	Sağ tibia	Sol tibia	% Sağ/Sol
1	348	552	0.630435
2	454	620	0.732258
3	452	593	0.762226
4	499	673	0.741456
5	473	600	0.788333

HBO grubu	Sağ tibia	Sol tibia	% Sağ/Sol
1	576	916	0.628821
2	524	1232	0.425325
3	421	1004	0.419323
4	567	871	0.650976
5	687	1000	0.687

Tablo 3: Kontrol grubu ve HBO tedavisi gören grubun sintigrafisi sonuçları (Wilcoxon testi, p<005)

için 90 gün, 8 fare için 45 gün ve kalan 8 fare için 15 gündür. HBO tedavisi sırasında enfeksiyon nedeniyle 8. günde ölen bir, anlaşıl原因 nedenlerle 4. ve 11. günde ölen 2 olmak üzere toplam 3 hayvan daha çalışma grubundan çıkarılmışlardır.

Otoklav tipi ve greftin otoklavize edilme tekniği: Otoklavizasyon işlemi MMM Münchener Medizin, Mechanic GmbH, Siemens marka otoklavda 121 °C 20 dakika süre ile yapılmıştır (10).

Ameliyat sonrası protokol: Gerek HBO uygulaması alan grup gerekse kontrol grubu için ameliyat sonrası dönemde koruyucu antibiotik tedavisi yapılmamıştır. Sadece hayvanların günlük bakım ve temizlikleri yapılmıştır.

Bütün hayvanlarda ameliyatın hemen sonrasında (Şekil 2) ve sakrifikasyon sonrası direkt grafiler alın-



Şekil 3: HBO tedavi grubu, ameliyat sonrası 90. gün, greftin kaynadığı görülüyor

dı. Oluşan kallus formasyonu, enfeksiyon ve buna bağlı tespit kaybı yönünden karşılaştırılarak değerlendirildi. 15., 45 ve 90. günlerde sakrifiye edilen hayvanlar histopatolojik olarak karşılaştırıldı. Deney ve kontrol gruplarının çalışma içerisindeki dağılımı ve süreler Tablo 2'de verilmiştir.

Ayrıca 90 günlük takibi olan her iki gruptan 5'er fare sintigrafik olarak osteoblastik aktivite yönünden karşılaştırıldı. Anterior pozisyonda 50 MBq 99m Tc- MDP intravenöz olarak ölçümden 2.5 saat önce verildi. Siemens Orbiter 7500 Digitract Gama kamera ile, 128 x128 pixel matriksinde 10'ar dakikalık çekimler yapıldı.

Sonuçlar

Sintigrafisi sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Eşli serilerde non parametrik Wilcoxon testi ile p<0.05 (p: 0,0431) değeri elde edildi. Bu bize aktivite tutulumu açısından 90 gün deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermekteydi.

Radyolojik olarak her iki grubun ameliyat sonrası 15. gün grafilerinde belirgin bir fark saptanamadı. 45. gün karşılaştırmalı grafilerinde HBO uygulaması altında olan deney grubunda periostal kallus şekillenmeğe başlarken kontrol grubunda buna ait bir görünüm saptanamadı. Ameliyat sonrası 90. günde HBO tedavisi altındaki grupta greftin hem proksimalde hem distalde komşu kemiğe tamamen kaynadığı, greft-kemik arasında boşluk olmadığı, greft ve kemik dansitelerinin birbirinden farklı olmadığı görüldü. Periost-



Şekil 4: Kontrol grubu, ameliyat sonrası 90. gün, greftin henüz kaynamadığı görülüyor



Şekil 5: Kontrol grubu, ameliyat sonrası 90. gün, greftin henüz kaynamadığı ve enfeksiyona bağlı dekalsifiye görüntü, tespit kaybı

tal kallus belirgin olarak komşu kemikten grefte bir köprü şeklinde atlamaktaydı (Şekil 3). Oysa ki 90. günde HBO tedavisi almayan kontrol grubunda greft ile komşu olduğu canlı kemik arasında hem proksimalde hem distalde osteotomi hattı açık olarak görülmüyordu. Aynı şekilde greft ve komşu kemiklerde dekalsifiye bir görüntü hakimdi. Zayıf bir periostal kallus bazı farelerde görülmekteydi (Şekil 4). Zaten bu şekilde herhangi bir kallus formasyonunun olmadığı 3 farede (90 gün kontrol grubu) tespit edilmiş ve ameliyat sonrası pozisyonun korunamadığı görülmekteydi (Şekil 5).

Histopatolojik inceleme sonuçları:

Ameliyat sonrası 15. Gün: Otoklavize edilmiş greftin her iki grupta da tümüyle nekrotik olduğu görülmüyordu. Yine her iki grupta greft çevresinde yoğun lenfosit, plazma hücresi, nötrofil ve eozinofil polimorf infiltrasyonu içeren bağ dokusu görülmekteydi. HBO uygulanan grupta osteoklastik aktivite diğerine oranla fazla iken kontrol grubunda da tek tük osteoklastlar seçilmekteydi. HBO grubunda segmentin çıkarıldığı kemik uçlarında yoğun periostal kemik yapımı dikkat çekiyordu.

Ameliyat sonrası 45. Gün: Kontrol grubunda greft çevresinde yoğun iltihapsal hücre içeren bağ dokusu izlenmekte iken HBO grubunda bu yoğunluk görülüyordu. Greft her iki grupta da tümüyle nekroze fakat HBO grubunda osteoklastik aktivite daha da artmış görülmüyordu. Kontrol grubunda da kemik uçlarında periostal kemik yapımı başlamıştı, yer yer

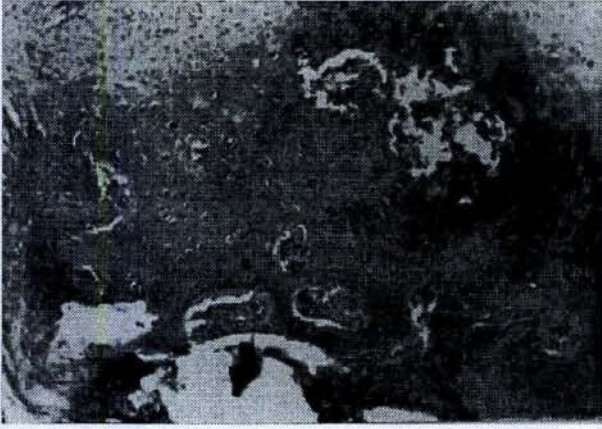
kondral kemikleşme alanları görülmüyordu (Şekil 6). HBO grubunda greft ile kemik arasında genç mezenkimal hücreleri, fibrosit ve fibroblastlardan oluşan bağ dokusu seçiliyordu.

Ameliyat sonrası 90. Gün: Kontrol grubunda greft içerisindeki nekroze alanlarda kalsifikasyon yoktu (distrofik kalsifikasyon) (Şekil 7). Ayrıca greft iltihapsal hücreler ve genç mezenkimal hücreleri içeren bağ dokusu ile tamamen sarılmış ve bağ dokusu içerisinde kemikleşen kıkırdak adacıkları görülmekteydi (Şekil 8). Greft çevresinde yoğun osteoklastik aktivite dikkat çekiyordu. HBO grubunda ise bunlara ek olarak greftin yer yer rezorbe olduğu ve yerini yeni oluşan canlı kemik trabeküllerinin aldığı görülmekteydi. Greftin distal ve proksimalinden grefte doğru yoğun yeni kemik yapımı belirgindi (Şekil 9).

HBO grubunda membranöz kemikleşme olurken kontrol grubunda kondral kemikleşmenin olması dikkat çekiciydi.

Tartışma

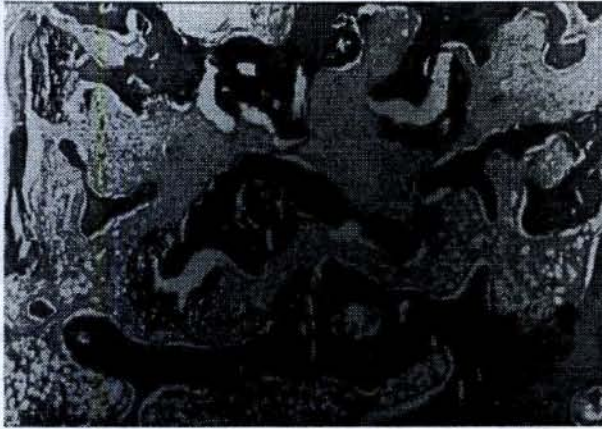
Otoklavize greftlerin geniş kemik boşluklarının rekonstrüksiyonunda kullanılması yeni bir teknik değildir. Greftin tamamıyla steril hale gelmesini sağlayacak ısı derecesi ve süre aranırken kemiğin mekanik özelliklerinin de olabildiğince korunması gereklidir. Isının artırılmasıyla sürenin kısaltılması veya ısının azaltılmasıyla sürenin uzatılmasının kemiğin



Şekil 6: 6 haftalık kontrol grubunda kondral kemikleşme alanları (H&E X250)



Şekil 8: 12 haftalık kontrol grubunda fragman uçlarında yeni kemik yapımı (H&E X250)



Şekil 7: 12 haftalık kontrol grubunda greft içinde distrofik kalsifikasyon alanları (H&E X100)



Şekil 9: 12 hafta deney grubunda greft içinde yeni kemik yapımı alanları (H&E X100)

fiziksel özelliklerini ne oranda etkilediği araştırılmış ve en uygun koşulların 121 C°'de 20 dakikalık otoklavizasyon süresi olduğuna karar verilmiştir (10, 11). Böylelikle kemiğin sertlik ve çeşitli yönlerden gelen kuvvetlere karşı direncinin normale göre en az etkilendiği standart değer bulunmuştur. Bu standart değer olan 121C°'de 20 dakikalık otoklavizasyon işleminde diafizler kemikte hiçbir hücrenin canlı olarak kalmasının mümkün olmadığı yine aynı çalışmayla gösterilmiştir (10). Bunun yanı sıra ısının proteinleri denatüre edici etkisiyle sadece kemiğin inorganik kısmının kalması sanki bir ksenogreftte olduğu gibi immünolojik reaksiyonlara da neden olabilmektedir (12). Teorik olarak greftin vaskülarize olmasıyla pluripotensiyel mezenkimal hücreler greft içerisine girerek önce osteoklastik aktivite ile rezorpsiyon, daha sonra osteoblastik aktivite ile greftin inkorporasyonunu sağlarlar (1, 6). Fakat uygulamanın yapıldığı olgularda belli süreler sonunda alınan biopsilerde bu olayın düşünüldüğü hızda gerçekleşmediği ve gerek immünolojik reaksiyonlar gerekse enfeksiyon nedeniyle kaynamama ve sekestr formasyonu gelişmesi gözlenmiştir (11, 12). Bu olumsuz sonuçları düzeltmek ve kaynamayı sağlamak için otoklavize greftler demineralize allojenik kemik matriksi (11, 12) ve otojenik kemik greftleri (14) ile desteklenmiştir. Bu uygulamalarla sonuçlar kısmen düzelmiş, fakat en-

feksiyon her zaman için problem olmağa devam etmiştir. Özellikle rezeksiyon protezlerini desteklemek ve erken dönemde grefte binen, geç dönemde ise proteze binen yükleri azaltmak amacıyla otoklavize greft+protez kullanılan olgularda enfeksiyon çok büyük sorun olmuş ve girişimin başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olmuştur (9).

Otoklavize otojen kemik greftleri bu dezavantajlarına rağmen anatomik olarak boşluğu tam olarak doldurmaları, örneğin bir tibia üst ucunda pateller tendonun yeniden yerine dikilmesini sağlayabilme kolaylığını sunması, üzerini örten yumuşak dokuların grefte yapışabilmeleri (14) ve temin edilme zorluğu olmaması açısından önemli avantajlara da sahiptirler (11, 12, 13). Hipoksik kemiğin hiperbarik oksijen ile oksijenlenmesinin artırılmasıyla angiogenesinin, fibroblastik aktivitenin ve kollagen sentezinin artması hipotezinden yola çıkılarak normal greftler ve radyasyon osteonekrozuna uğramış kemiklerde çalışmalar yapılmıştır ve bu çalışmalarda olumlu sonuçlar alınmıştır (4, 7). Yaptığımız literatür taramasında otoklavize greftlere ait böyle bir çalışmaya rastlanmadığı için konuyu araştırdık. HBO uygulamasının aynı zamanda immün sistemi de etkiliyerek, özellikle hipoksik lökositlerin ve makrofajların fonksiyonlarını artırarak enfeksiyona bağlı sorunları azaltabileceğini düşündük. HBO grubunda 15. gün

yapılan histolojik incelemelerde grefte komşu kemiklerin uçlarında mikroskopik olarak görülen peristol kallus 45. günde radyolojik olarak karşımıza çıkmaktaydı. Oysa ki kontrol grubunda bu aşamalara henüz ulaşılmamıştı. 90 günlük çalışmamızın sonunda histopatolojik, sintigrafik ve radyolojik sonuçların birbirlerine uygun olarak hipotezimizi desteklediğini gördük.

Sonuç

HBO tedavisi gören grupta greftin kaynaması ve revaskülarizasyonu HBO tedavisi almayan gruba göre radyolojik, sintigrafik ve histopatolojik incelemelerde hep bir adım önde gitmiştir. HBO'nun immün sisteme olan etkisiyle de grefte karşı yabancı cisim reaksiyonu daha hafif seyretmiş ve bunun sonucunda yeni kemik yapımı daha hızlı ve fazla olmuştur.

Kaynaklar

1. Bauer FCH, Nilson OS, Törnkvist H: Formation and resorption of bone induced by demineralized bone matrix implants in rats. *Clin Orthop* 191:139-143, 1984.
2. Choong PFM, Sim FH, Pritchard DJ, Rock MG, Chao EYS: Megaprosthesis after resection of distal femoral tumors. *Acta Orthop Scand* 67(4): 345-351, 1996.
3. Cohn GH: Hyperbaric oxygen therapy. *Postgraduate Medicine* 79: 89-92, 1986.
4. Compressi EM: Radiation Tissue Damage (osteoradionecrosis). *A Committee Report Undersea and Hyperbaric Medical Society*, 1996.
5. Enneking WF: Reconstruction and Rehabilitation. In: Enneking WF eds. *Musculoskeletal Tumor Surgery*. New York, etc: Churchill Livingstone, 1: 215-288, 1983.
6. Heppenstall RB: Bone grafting. In: Evarts CMC eds. *Surgery of the Musculoskeletal System*, 1st ed. New York, etc: Churchill Livingstone, 1: 89-106, 1983.
7. Jain KK: Hyperbaric oxygen therapy in the management of radionecrosis. In: *Textbook of hyperbaric Medicine*. Eds: K.K. Jain, Hagrefe and Huber Publ. Inc., 2nd ed. Kirkland, 202-211, 1996.
8. Jain KK: Hyperbaric oxygen therapy in wound healing. In: *Textbook of hyperbaric Medicine*. Eds: K.K. Jain, Hagrefe and Huber Publ. Inc., 2nd ed. Kirkland, 224-236, 1996.
9. Johnston JO, Harries TJ, Alexander CE, Alexander AH: Limb salvage procedure for neoplasms about the knee by spherocentric total knee arthroplasty and autogenous autoclaved bone grafting. *Clin Orthop* 181:137-145, 1983.
10. Köhler P, Kreicbergs A, Strömberg L: Physical properties of autoclaved bone. *Acta Orthop Scand* 57:141-145, 1986.
11. Köhler P, Kreicbergs A: Incorporation of autoclaved autogenic bone supplemented with allogenic demineralized bone matrix. *Clin Orthop* 218:247-258, 1987.
12. Köhler P, Kreicbergs A: Chondrosarcoma treated by reimplantation of resected bone after autoclaving and supplementation with allogenic bone matrix. *Clin Orthop* 294: 281-284, 1993.
13. Üzel M, Hız M, Kasabalıgil A, Okkan S: Non-autoclaved and autoclaved autograft reconstruction of bone defects in the musculoskeletal tumor surgery. *Limb Salvage, Current Trends, 7th International Symposium*, Singapore, 1993.
14. Üzel M: Kişisel görüşme, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 1997.

Yazışma Adresi:

Uzman Dr. Fahri Erdoğan

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

Kocamustafapaşa, İstanbul, Türkiye