



## Hiperbarik oksijen uygulamasının sıçanlarda irradiye otojen kemik grefti üzerine etkisi: Deneysel çalışma

### *Impact of hyperbaric oxygen therapy on irradiated autogenous bone grafts in rats*

Levent ERALP,<sup>1</sup> Mehmet KOCAOĞLU,<sup>1</sup> Ata Can A TALAR,<sup>1</sup> Şamil AKTAŞ,<sup>2</sup> Salih AYDIN,<sup>2</sup>  
Okan SOYHAN,<sup>1</sup> Maktav DİNÇER,<sup>3</sup> Vakur OLGAC,<sup>4</sup> Rian DİŞÇİ<sup>5</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Deniz ve Sualtı Hekimliği Anabilim Dalı, Onkoloji Enstitüsü <sup>3</sup>Radyasyon Onkolojisi Bölümü, <sup>4</sup>Patoloji Bölümü, <sup>5</sup>Preventif Onkoloji ve Epidemiyoloji Bölümü

**Amaç:** Radikal radyoterapinin kullanımı, yol açtığı doku hasarı nedeniyle kısıtlıdır. Ek hiperbarik oksijen tedavisi potansiyel olarak radyasyonun yarattığı devaskularizasyon sürecini engelleyebilir ve biyolojik rekonstrüksiyon modellerinin dezavantajlarını ortadan kaldırabilir. Bu çalışmada radyasyonun ve hiperbarik oksijen uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine etkileri araştırıldı.

**Çalışma planı:** Yüz yirmi adet Wistar cinsi sıçan rastgele dört gruba ayrıldı. Kontrol grubunda, tibia diafizinden çıkartılan segment tekrar implante edildi. İkinci gruptaki sıçanlara, rezeksiyon ve reimplantasyondan sonra hiperbarik oksijen tedavisi uygulandı. Üçüncü gruba ait diafiz kemik segmentleri tekrar implante edilmeden önce irradiye edildi. Dördüncü grupta ise irradiye segmentler tekrar implante edildikten sonra, deneklere ek olarak hiperbarik oksijen tedavisi uygulandı.

**Sonuçlar:** Hiperbarik oksijen tedavisi konvansiyonel otoplastik kemik iyileşmesini altıncı haftanın sonunda anlamlı derecede artırdı. Tek fraksiyonda uygulanan tümörisidal dozda radyasyon, kemik iyileşmesini kronik fazda engelledi. On ikinci haftanın sonunda, histolojik ve radyolojik bulgular, dördüncü grup örneklerinde üçüncü gruba göre anlamlı derecede daha iyi kemik iyileşmesi ortaya koydu.

**Çıkanmlar:** Hiperbarik oksijen tedavisi, radyasyonun kemik iyileşmesi üzerindeki kötü etkilerini engelleyebilir ve habis kemik tümör cerrahisinde rezeksiyonu takiben, tümörlü segmentin irradiye edilip tekrar implante edilmesi ile yapılan biyolojik rekonstrüksiyonlarda yararlı olabilir.

**Anahtar sözcükler:** Hayvan; Kemik/fizyoloji/radyasyon etkisi; kemik gelişimi/radyasyon etkisi; kemik rejenerasyonu; kemik transplantasyonu/yöntem; hiperbarik oksijenasyon; osseointegrasyon; osteoradionekrosis; radyasyon etkisi; tibia/radyasyon etkisi; yara iyileşmesi.

**Objectives:** Limited tissue tolerance precludes the use of radical radiotherapy. Adjuvant hyperbaric oxygen therapy potentially can revert the devascularization process in radiation-induced injuries and eliminate the disadvantages of biologic reconstruction methods. The aim of this experimental study is to evaluate the effects of irradiation and hyperbaric oxygen therapy on bone healing.

**Methods:** One hundred-twenty Wistar rats were randomly allocated into four groups. A tibial diaphyseal segment was resected and reimplanted in one group as controls. Rats in the second group received adjuvant hyperbaric oxygen therapy following resection and reimplantation. In the third group, reimplantation was performed following irradiation of bone segments. The fourth group was treated with adjuvant hyperbaric oxygen therapy after reimplantation of an irradiated bone segment.

**Results:** Hyperbaric oxygen therapy significantly increased healing of conventional bone autografts after six weeks. Tumorcidal irradiation administered at a single fraction caused marked impairment in bone healing at the chronic phase. Histologic and radiologic findings after 12 weeks revealed substantial improvement in bone healing in the fourth group in comparison to the third group.

**Conclusion:** Hyperbaric oxygen therapy may have a relevant role in eliminating deleterious effects of irradiation on the biologic potential of bone tissue and may be used as an adjunct for bone segments resected and irradiated to be used in biological reconstruction.

**Key words:** Animal; bone and bones/physiology/radiation effects; bone development/radiation effects; bone regeneration; bone transplantation/methods; hyperbaric oxygenation; osseointegration; osteoradionecrosis; radiation effects; tibia/radiation effects; wound healing.

**Yazışma adresi:** Dr. Levent Eralp, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 34390 Çapa - İstanbul.  
Tel: 0212 - 635 12 35 Faks: 0212 - 635 28 35 e-posta: yeralp@superonline.com

**Başvuru tarihi:** 27.11.2000 **Kabul tarihi:** 25.12.2000

Günümüzde kemik ve yumuşak doku sarkomlarının cerrahi ve medikal tedavi felsefelerinde yaşanan radikal değişiklikler ile ekstremitelerde kurtarma girişimleri amputasyonların önüne geçmiştir. Bu gelişmelerde etkili faktörler, görüntüleme tekniklerindeki ilerlemeler ve bu sayede evreleme çalışmalarının mükemmelleşmesi; kemoterapi ve radyoterapinin ameliyat öncesi ve sonrası dönemde etkili olarak kullanılabilmesi; hem biyolojik, hem de mekanik rekonstrüksiyon alanında ulaşılan noktadır.<sup>[1]</sup>

Kemik bankacılığındaki gelişmelerin eşliğinde masif interkalar ve osteoartiküler allogreftlerin kullanımı, tümör dokusunu içeren rezektata otoklavizasyon ve irradyasyonun etkisinin ortaya konması, mikrocerrahi alanındaki gelişmeler sayesinde kemik ve yumuşak dokuların biyolojik rekonstrüksiyonunun daha kolay uygulanır hale gelmesi ve biyomedikal mühendislikteki buluşlar ile endoprotetik rekonstrüksiyon yöntemlerinin kullanıma girmesi, rezeksiyon sonrası oluşan dev defektlerin nasıl köprülenebileceği sorununa çözüm getirmişlerdir.

İnterkaler rezeksiyonlardan sonra yapılan rekonstrüksiyonların aksine hareketli eklem segmentlerinin rekonstrüksiyonu, güncel teknolojilere rağmen birçok biyolojik ve mekanik dezavantaj taşımaktadır.

Artroplastik rekonstrüksiyon, erken fonksiyonel rekonstrüksiyon sağlamakla birlikte, enfeksiyon, gevşeme, yumuşak dokuların anatomik periartiküler rekonstrüksiyonun sağlanamaması gibi problemleri de karşımıza çıkarmaktadır.<sup>[2]</sup>

Hareketli segmentin biyolojik rekonstrüksiyonu için kullanılan masif osteoartiküler allogreftlerin (MOA) damarlı greftlerle kombinasyonu, osteoartiküler rezektatın otoklavizasyonu/irradyasyonu ve reimplantasyonu gibi yöntemler ise biyolojik dokuların anatomik rekonstrüksiyonu gibi avantajlara rağmen, enfeksiyon, kaynamama, kırılma gibi dezavantajlardan dolayı amaçlanan yaygınlığa ulaşamamışlardır.<sup>[3]</sup>

Bu deneysel çalışmanın amacı, bahsedilen orijinal anatomik boyuttaki biyolojik rekonstrüksiyon yöntemlerinin dezavantajlarını azaltacak ya da ortadan kaldıracak bir adjuvan tedavi yönteminin, hiperbarik oksijen tedavisinin (HBO) etkilerini araştırmaktır.

Radyoterapi öncesi ve sonrasında hipoksi varlığının doku cevabını etkilediği bilinmektedir. Hiperbarik

oksijen tedavisi, kemik ve yumuşak dokuların, termal yanık, irradyasyon ve diabet fibrozisinin devaskularizasyonunda çok etkili bir adjuvan tedavi yöntemidir.<sup>[4]</sup> Radyasyonun, ağır ve uzamış antianjiyojenik ve antifibrojenik etkilerinin mekanizması tümüyle tanınmasa da, bir bölümünün sitokin supresyonuna bağlı olduğu bilinmektedir.<sup>[5]</sup> Çalışmamızın hipotezini ortaya atarken, anjiyojenik tedavi yöntemlerinin irradyasyonun erken ve geç komplikasyonlarını önleyeceğini düşündük.

## Gereç ve yöntem

### Hayvan modeli

Çalışmanın başlangıcında 120 adet Wistar cinsi sıçan, 30'luk dört grup halinde ayrıldı. Deneklerin ortalama ağırlığı 280 gr (240-320 gr), ortalama yaşları 6 ay (dağılım 5-9) idi. Çalışmaya başlamadan önce, hayvan deneyi için birimize ait etik kuruldan gerekli onay alındı.

Seçilen Wistar cinsi sıçanları dört gruba ayırdık; rezeksiyon-reimplantasyon grubu (grup 1), rezeksiyon-reimplantasyon-HBO tedavi grubu (grup 2), rezeksiyon-irradyasyon-reimplantasyon grubu (grup 3), rezeksiyon-irradyasyon-reimplantasyon-HBO tedavi grubu (grup 4). Böylece kontrol grubumuzla da karşılaştırarak, irradyasyonun ve HBO tedavisinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdık.

Cerrahi uygulama sırasında sadece bir sıçan anestezi komplikasyonu ile öldü. Deney hayvanlarının cerrahi uygulaması, takibi ve HBO tedavisi İstanbul Tıp Fakültesi, Deniz ve Sualtı Hekimliği Anabilim Dalı'nda tamamlandı. Rezeke edilen kemik segmentlerinin irradyasyonu, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü bünyesinde uygulandı. Her dört grupta toplam 12 sıçan öldükleri için çalışma kapsamına alınmadı. Takipleri yapılan sıçanların gruplara ve sakrifikasyon sürelerine göre dağılımı Tablo 1'de görülmektedir.

### Ameliyat tekniği

Sıçanların sol bacaklarına ameliyattan bir gün önce Lapidin jenerik adlı tüy dökücü krem sürüldü. Ameliyat günü tüyler temizlendikten sonra, alan povidon iodür ile temizlendi ve steril bir delikli kompres ile örtüldü. Cerrahi alan tekrar povidon iodür ile temizlendi. Diz fleksiyona getirilerek tibia ön yüzü belirgin hale getirildi ve 2 cm'lik anteromedial, longitudinal cilt-ciltaltı kesisi yapıldı. İnsizyon boyun-

**Tablo 1.** Gruplara göre sıçanların çalışma içerisinde dağılımı

Gruplar	Sıçan sayısı	Takip süresi
1. grup	10	15 gün
	9	6 hafta
	8	12 hafta
2. grup	10	15 gün
	9	6 hafta
	9	12 hafta
3. grup	9	15 gün
	8	6 hafta
	8	12 hafta
4. grup	10	15 gün
	9	6 hafta
	9	12 hafta

ca periost kesildi ve mini elevatörler yardımıyla yumuşak dokularla beraber kemikten ekarte edildi ve 5-7 mm'lik segment rezektü edildi. Grup 3 ve 4'teki sıçanlardan çıkartılan kemik, işaretlenmiş steril enjektörler içinde irradyasyona gönderildi. Bu süre boyunca yara ıslak gazlarla örtüldü. Tüm gruplarda çıkarılan segmentler, daha sonra anatomik yerlerine repoze edildi ve intramedüller kullanılan 0.6 mm çaplı Kirschner telleri ile osteosentez sağlandı. Stabil bir osteosentezin elde edildiği görüldükten sonra periost ve ciltaltı absorbe olan sütür materyali (Vicryl® 3/0, Ethicon, Edinburgh, Büyük Britanya) ile, cilt ise absorbe olmayan dikişle (Prolene® 4/0, Ethicon, Edinburgh, Büyük Britanya) per primum kapatıldı. Yara bölgesi tekrar povidon iyodür ile temizlendi. Steril gazlı bez, kurdele şeklinde insizyonun üzerine bağlandı. Hiçbir farede dışarıdan tespit uygulanmadı.

#### Anestezi tekniği

Anesteziye 1.5 mg Rompun® (Xsilazin, Bayer-Türk, İstanbul, Türkiye) i.m. ve 15 mg Ketalar® (Ketamin, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) i.m. uygulanmasıyla başlandı. Segment çıkarıldıktan sonra irradiye edilip geri getirilmesi ortalama 30 dakikalık bir süre gerektiriyordu; bu süre içerisinde hiçbir ağrılı uyaran verilmemesine rağmen, uyanan sıçanlara eter inhalasyonu ve/veya 5 mg Ketalar i.m. uygulanması ile anestezi sürdürüldü. Kemik segmenti reimplante edilmeden önce 1.5 mg Xsilazin i.m. uygulanarak anestezi derinleştirildi. Anestezi komplikasyonu ile kaybedilen tek sıçan, bekleme aşamasından sonra verilen ikinci doz Xsilazin nedeniyle öldü.

#### Hiperbarik oksijen uygulama protokolü

Sıçanlar 0.4 m<sup>3</sup> hacimli, tek bölmeli, deney basınç odasında 2.5 ATA'lık basınç altına alındı. 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.

Bu profil ameliyat sonrası birinci gün başlamak kaydıyla günde bir kez, haftada yedi gün olmak üzere, hiç ara verilmeden belirtilen sürelerde uygulandı (Tablo 1). Hiperbarik oksijen tedavisi sırasında her iki gruptan da birer sıçan enfeksiyon, birer sıçan diğer nedenlerle öldüklerinden çalışma dışı kaldılar.

#### İrradyasyon protokolü

Cerrahi girişim sırasında rezektü edilen tüm tibia difüz fragmanları steril enjektörler içerisinde İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü'nde bulunan Cobalt-60 cihazına taşındı. İrradyasyon tek fraksiyonda, 5000 cGy dozunda uygulandı. Bu doz kemikteki tüm canlı hücreleri nekroze eden minimum değer olarak önceden belirlendi.

#### Ameliyat sonrası takip protokolü

Her dört grup için ameliyat öncesi ve sonrası dönemde koruyucu antibiyoterapi uygulanmadı. Sadece hayvanların günlük bakımı ve temizlikleri titizlikle takip edildi. Ameliyattan sonra, tüm hayvanların tam yük vererek yürümeleleri sağlandı.

#### Histolojik değerlendirme

Sakrifikasyonu takiben ameliyat edilen tibialar izole edildi ve intramedüller teller çıkartıldı. Kemikler çevre yumuşak dokulardan, kallus dokusuna zarar vermeden ayrıldı. Örnekler daha sonra %10 tamlonlu formalin içinde iki hafta fikse edildi; %5 formik asit ile demineralize edilip yıkandı ve dereceli etanol ile dehidrate edildi, xylene ile durulandıktan sonra parafin içine gömüldü. Kırık hattı merkezli olarak, 6 mikron kalınlığında longitudinal kesitler alındı. Kesitler cam slaytlara yapıştırıldı ve hematoxilen-eosin ile boyandı.

Tüm kallus dokularına Huo ve ark.nın<sup>[6]</sup> önerdiği sisteme göre bir numerik puan verildi (Tablo 2). Bu sisteme göre yüksek bir puan daha matür kallus dokusuna işaret eder.

#### Radyolojik değerlendirme

Tüm hayvanlar sakrifiye edildikten ve opere edilen ekstremite izole edildikten sonra, histolojik çalışmalara başlamadan önce, bu ekstremitenin kon-

**Tablo 2.** Kırık iyileşmesinin histolojik değerlendirilmesi için kullanılan numerik sistem

Skor	Kırık bölgesindeki bulgular
1	Fibröz doku
2	Ağırlıklı fibröz doku ve az miktarda kıkırdak
3	Eşit miktarda fibröz ve kıkırdak doku
4	Ağırlıklı kıkırdak ve az miktarda fibröz doku
5	Kıkırdak doku
6	Ağırlıklı kıkırdak ve az miktarda immatür kemik
7	Eşit miktarda kıkırdak ve immatür kemik dokusu
8	Ağırlıklı immatür kemik ve az miktarda kıkırdak doku
9	İmmatür kemik ile kırık iyileşmesi
10	Matür kemik ile kırık iyileşmesi

vansiyonel radyolojik tetkiki yapıldı. Lane ve Sandhu'nun<sup>[7]</sup> önerdikleri puanlama sistemine göre her bir osteotomi sahasına 0 ve 4 arasında değişen puanlar verildi. Bu puanlama sisteminde bir ekstremitenin ulaşabileceği en yüksek skor 8'dir (Tablo 3).

#### İstatistik değerlendirme

Tüm veriler "SPSS ver. 7.5 for Windows" ve "Primar of Biostatistics" ile değerlendirildi. Değerlendirmeler ilk yazar tarafından yapıldı. Tüm grupların her sakrifikasyon haftası için, histolojik ve radyolojik skorlamaları takiben, ortalama  $\pm 1$  SD ve ortanca değerleri saptandı. Ortanca değerlerin (nonparametrik) karşılaştırması Mann-Whitney-U ve Kruskal-Wallis testleri ile, çoğul grupların karşılaştırılması

**Tablo 3.** Radyografik numerik skorlama sistemi

Skor	Radyografik bulgu
0	İyileşme yok
1	Kallus formasyonu
2	Osseöz union başlangıcı
3	Osteotomi alanının kaybolmaya başlaması
4	Tam osseöz kaynama

Dunn yöntemi ile yapıldı. İstatistik anlamlılık %95'lik güven aralığına göre belirlendi ( $p < 0.05$ ).

#### Sonuçlar

Her grupta 30'ar adet olmak üzere 120 adet fare ile başlatılan çalışma, perioperatif ve postoperatif dönemde kaybedilen toplam 12 fare hariç tutularak 108 fare ile tamamlandı. Tedavi uygulanan tüm grupların ortalama  $\pm 1$  SD ve ortanca (minimum-maksimum) değerleri Tablo 4'te verilmiştir.

Tüm çalışma gruplarının skorlanması tamamlandı. Ortalama, ortanca (minimum-maksimum) değerler saptandıktan sonra, öncelikle sakrifikasyon zamanına göre her dört grubun radyolojik ve patolojik ortanca değerleri nonparametrik Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı; istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ) bir değer elde edildiğinde gruplar kendi aralarında ikili olarak Kruskal-Wallis (Dunn yöntemi) ve Mann-Whitney U-testleri ile değerlendirildi. Bu çalışmada gruplararası değerlendirme 1 ve 2. gruplar (HBO tedavisinin normal kırık iyileşmesine

**Tablo 4.** Tüm grupların sakrifikasyon zamanlarına göre patolojik ve radyolojik skorlarının dağılımı

Grup	Patolojik değerlendirme	Ortalama $\pm$ standart sapma	Radyolojik değerlendirme	Ortalama $\pm$ standart sapma
1	15. gün	1.70 $\pm$ .48	15. gün	4.50 $\pm$ .71
	6. hafta	6.11 $\pm$ .60	6. hafta	2.78 $\pm$ .67
	12. hafta	7.38 $\pm$ .74	12. hafta	6.13 $\pm$ .64
2	15. gün	1.80 $\pm$ .79	15. gün	1.44 $\pm$ .42
	6. hafta	7.67 $\pm$ .50	6. hafta	2.63 $\pm$ .44
	12. hafta	9.33 $\pm$ .71	12. hafta	6.00 $\pm$ .67
3	15. gün	1.67 $\pm$ .71	15. gün	1.44 $\pm$ .73
	6. hafta	6.75 $\pm$ .71	6. hafta	2.63 $\pm$ .52
	12. hafta	8.25 $\pm$ .71	12. hafta	6.00 $\pm$ .53
4	15. gün	2.00 $\pm$ .47	15. gün	1.60 $\pm$ .70
	6. hafta	7.00 $\pm$ .71	6. hafta	3.44 $\pm$ .53
	12. hafta	9.44 $\pm$ .73	12. hafta	6.89 $\pm$ .78

**Tablo 5.** Tedavi ve kontrol gruplarının sakrifikasyon sürelerine göre patoloji ve radyoloji sonuçları

Gruplar ve değerlendirme	Çalışma grubunun <i>p</i> değeri (Kruskal-Wallis bazlı DUNN yöntemi)
15 gün patoloji	0.580
15 gün radyoloji	0.644
6 hafta patoloji	0.001
6 hafta radyoloji	0.026
12 hafta patoloji	0.0001
12 hafta radyoloji	0.02

anlamli katkısı var mıdır?); 1 ve 3. gruplar (irradiasyonun normal kırık iyileşmesine negatif etkisi var mıdır?); 3 ve 4. gruplar (irradiasyonun kırık iyileşmesi üzerine negatif etkisi HBO tedavisi ile ortadan kaldırılabilir mi?) arasında uygulandı. Elde edilen istatistik değerler Tablo 5, 6 ve 7'de özetlenmiştir.

Aşağıda, sakrifikasyon periyotlarına göre patolojik ve radyolojik skorlar özetlenmiştir.

### 15. gün

**Patoloji:** Her dört grupta da yapılan histopatolojik inceleme, ağırlıklı olarak fibröz doku ve az miktarda kırık doku gösterdi (Şekil 1a) (Tablo 5, 6 ve 7).

**Radyoloji:** Tüm gruplarda proksimal ve distal osteotomi alanlarında minimal kallus formasyonu gözlemlendi (Şekil 1b) (Tablo 5, 6 ve 7).

### 6. hafta

**Patoloji:** (Şekil 2, Şekil 3a) (Tablo 5, 6 ve 7) Normal kırık iyileşmesi seyrine paralel olarak, kontrol

grubunda ağırlıklı kırık doku ve az miktarda immatür kemik dokusu gözlemlendi. İkinci grupta bu immatür trabekülasyonun miktarı daha fazlaydı ( $p=0.001$ ). Üçüncü grupta ise, yine kırık doku ağırlıktaydı; yer yer nekrotik kemik gözlemlendi. Ancak bulgular irradiasyonun istatistiksel açıdan normal kemik iyileşmesine negatif etkisini kanıtlanamamaktaydı ( $p>0.05$ ). Dördüncü grupta ise kırık doku ve fibröz doku oranı oldukça azdı; immatür trabekülasyon ağırlık kazanmıştı ve yer yer periosteal kallus izlenmekteydi. Bu grup ile üçüncü grup arasında anlamlı farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ).

**Radyoloji:** (Şekil 3b) (Tablo 5, 6 ve 7) Kontrol grubunda, normal kırık iyileşmesi gösteren radyolojik bulgulara paralel olarak, her iki osteotomi alanında osseöz kaynama gözlemlendi. İkinci ve üçüncü gruplarda da bu iyileşme seyri değişmemekteydi. Dördüncü grupta ise bazı örneklerde, özellikle proksimal osteotomi alanında tam osseöz kaynama saptandı. Üçüncü ve dördüncü grup lehine anlamlı radyolojik iyileşme farklılığı görüldü ( $p=0.01$ ).

### 12. hafta

Sıçanlarda kırık iyileşmesinin tamamlanmaya başladığı 12. hafta, irradiasyonun da geç sonuçlarını göstereceği için, ana inceleme kümemizi yansıtmaktadır.

**Patoloji:** (Şekil 4, 5 v 6) (Tablo 5, 6 ve 7) Kontrol grubunda ağırlıklı olarak immatür kemik dokusu, yer yer matür kemik alanları, periosteal uzun kemik köprüleri gözlemlendi. İkinci grupta ise, matür kemik dokusu içeren alanlar anlamlı derecede artış gösterdi ve immatür kemik dokusu ile kemik iyileşmesi tüm alanlarda sağlandı (1-2,  $p=0.0001$ ). Üçüncü

**Tablo 6.** Araştırma gruplarının sakrifikasyon zamanı ve patoloji/radyoloji zamanına göre karşılaştırılması (Kruskal-Wallis testi Dunn yöntemi)

Grup (6. hafta)	<i>p</i>	Grup (12. hafta)	<i>p</i>	Grup (15. gün)	<i>p</i>
Patoloji		Patoloji		Patoloji	
1-2	0.001	1-2	0.0001	1-2	0.663
1-3	0.05	1-3	0.06	1-3	0.321
3-4	0.05	3-4	0.009	3-4	0.752
Radyoloji		Radyoloji		Radyoloji	
1-2	0.05	1-2	0.049	1-2	0.721
1-3	0.05	1-3	0.06	1-3	0.667
3-4	0.026	3-4	0.025	3-4	0.812

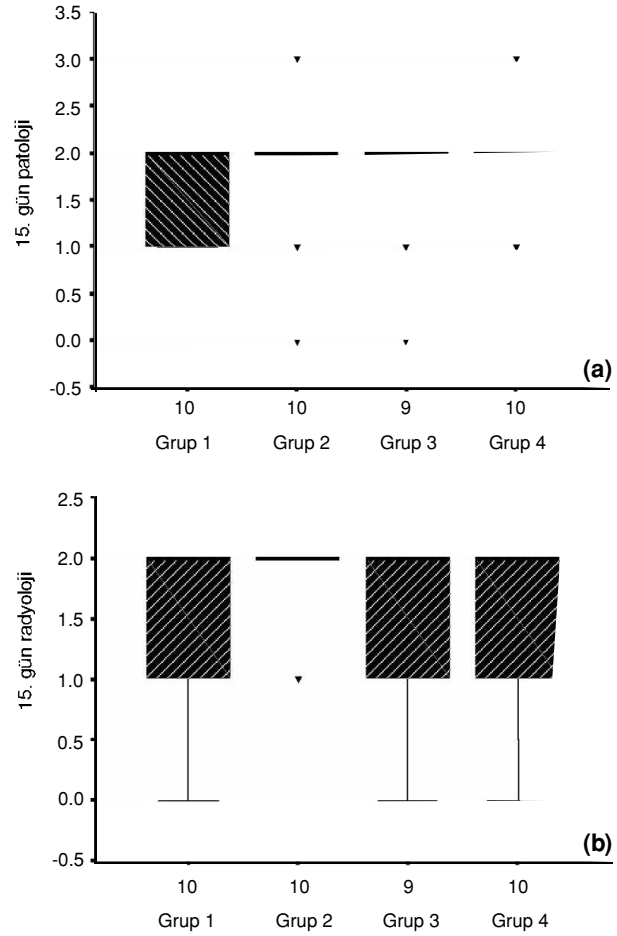
**Tablo 7.** Araştırma gruplarının sakrifikasyon zamanı ve patoloji/radyoloji skorlarına göre karşılaştırılması (Mann-Whitney U-testi)

Değerlendirme	Karşılaştırılan tedavi grupları*		
	1-2	1-3	3-4
<b>Patoloji</b>			
15. gün	n=20 z=-0.656 p=0.631	n=19 z=-0.212 p=0.832	n=19 z=-1.088 p=0.276
6. hafta	n=18 z=-3.477 p=0.001	n=17 z=-1.818 p=0.069	n=17 z=-0.742 p=0.458
12. hafta	n=17 z=-3.364 p=0.0001	n=16 z=-2.100 p=0.05	n=17 z=-2.676 p=0.007
<b>Radyoloji</b>			
15. gün	n=20 z=-1.037 p=0.436	n=19 z=-0.185 p=0.853	n=19 z=-0.573 p=0.567
6. hafta	n=18 z=-1.587 p=0.113	n=17 z=-0.443 p=0.658	n=17 z=-2.559 p=0.01
12. hafta	n=17 z=-1.850 p=0.064	n=16 z=0.449 p=0.653	n=17 z=-2.328 p=0.02

\*: p değerleri iki yönlü karşılaştırma sonucunu vermelidir (2-tailed)

grupta periosteal kemik köprüler görülmekle birlikte, yer yer greft ve kemik arası nekrotik kemik alanları gözlemlendi. Nekrotik alanların ortaya çıkması, irradyasyonun geç dönemde kırık iyileşmesine negatif etkisine işaret etmekteydi (Kruskal-Wallis yöntemi ile  $p=0.06$ , Mann-Whitney U yöntemi ile  $p=0.05$ ). Dördüncü grupta ise tüm küme içinde en yüksek ortalama ve ortanca değerler elde edildi. Örneklerin çoğunda immatür, bir kısmında ise matür kemik ile kırık iyileşmesi gerçekleşti. Hiperbarik oksijen tedavisinin irradyasyonun kırık iyileşmesine negatif etkisini anlamlı ölçüde geri döndürdüğü gözlemlendi ( $p=0.007$ ).

**Radyoloji:** (Şekil 7 ve 8) (Tablo 5, 6 ve 7): Kontrol grubundaki örneklerde her iki osteotomi alanında kemik iyileşme ilerlemiş ve osteotomi alan görüntüsü kaybolmaya başlamıştı. Yer yer tam osseöz kaynama görüldü. İkinci grupta ise, tam osseöz iyileşme alanları anlamlı derecede arttı ( $p=0.02$ ). Üçüncü

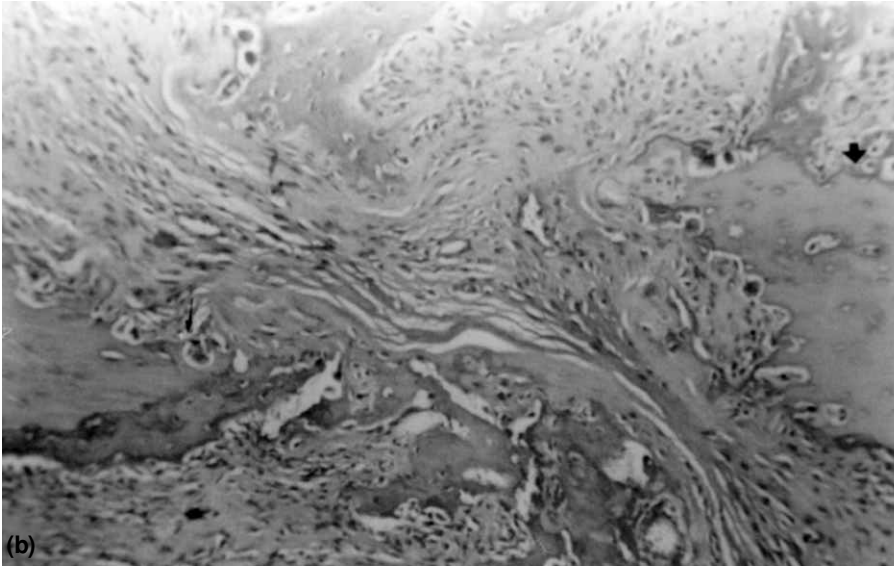


**Şekil 1.** 15. gündeki (a) patolojik (2a) ve (b) radyolojik (2b) skorların tedavi gruplarına göre grafik görüntüleri (ortanca değer temel alınmıştır).

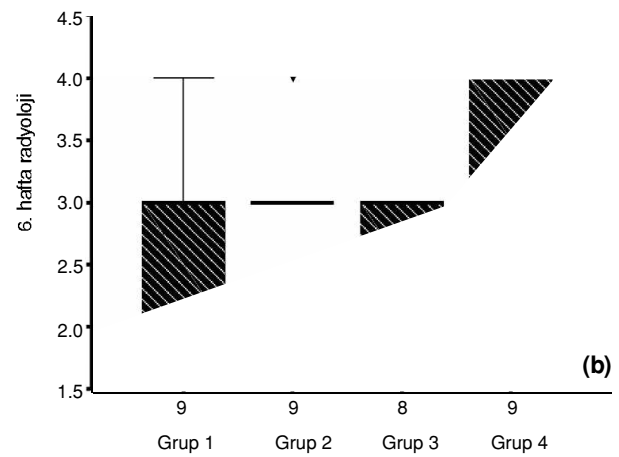
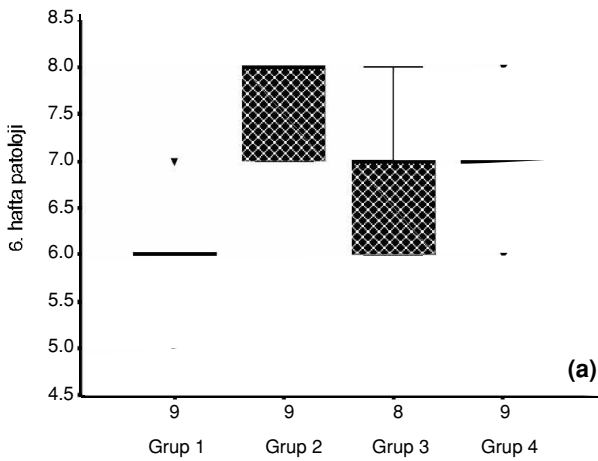
grupta, birinci grup ile karşılaştırıldığında, kırık iyileşmesi yönünden anlamlı bir radyolojik negatiflik gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Radyolojik olarak da, en yüksek ortalama ve ortanca değerler dördüncü grupta elde edildi. Tam osseöz iyileşme alanları bu grupta oldukça fazlaydı. Üçüncü ve dördüncü gruplar karşılaştırıldığında, HBO tedavisinin irradyasyonun kırık iyileşmesi üzerine etkisini geri döndürmesi ya da kırık iyileşmesini stimüle etmesi radyolojik açıdan anlamlı bulundu ( $p=0.02$ ).

## Tartışma

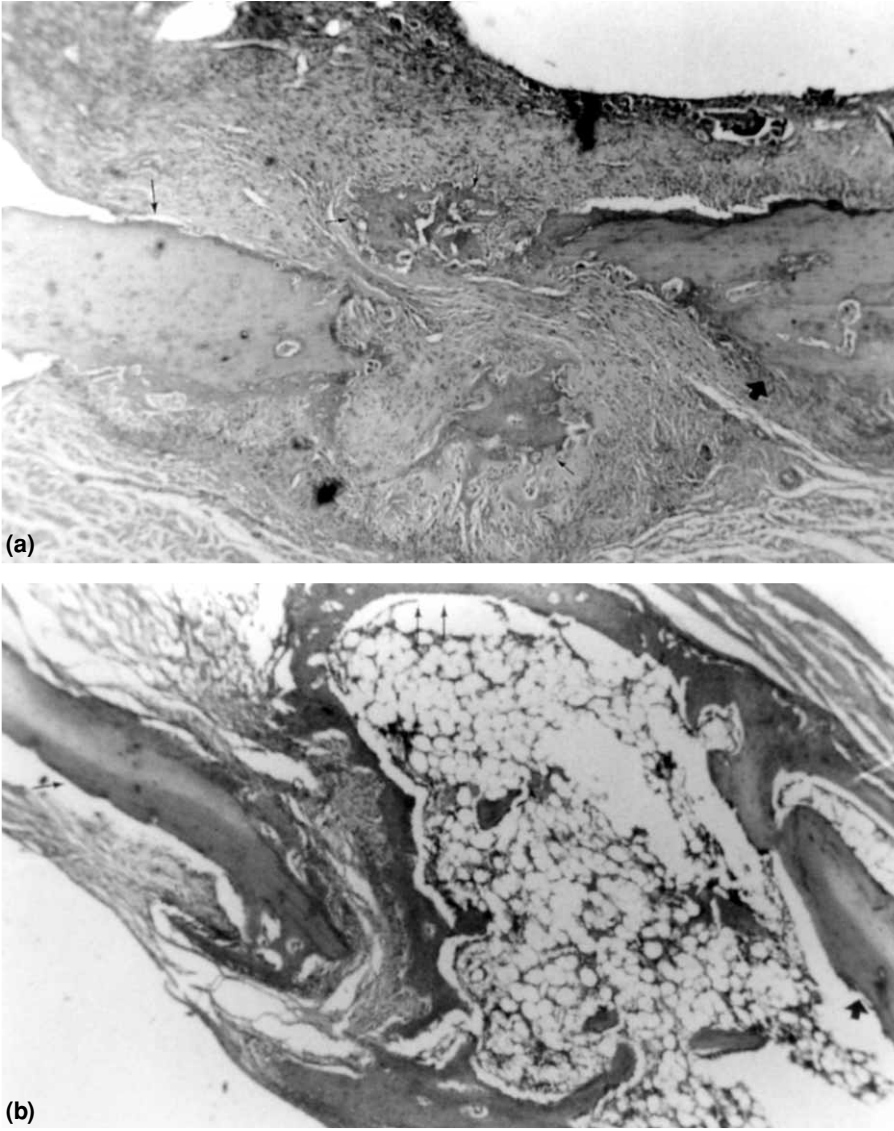
Görüntüleme yöntemleri, histopatolojik analiz şekilleri, cerrahi sınıflama sistemleri, kemoterapi ve radyoterapinin kullanıma girmesi gibi faktörlerin etkisiyle ekstremitelerin sarkomlarında koruyucu ameliyatlara, ablatif ameliyatlara tercih edilir olmuştur.



**Şekil 2.** 16. haftadaki patolojik incelemeler. **(a)** Grup 1'e ait bir örnekte, greft çevresinde fibrotik ve kırdak dokunun yoğunlaştığı gözleniyor (Masson trikromx40); **(b)** Grup 2'ye ait bir örnekte, tibia (kalın ok) ve greft (ince ok) arasında düzensiz kemik trabekülleri oluşmuş (H-E x250).



**Şekil 3.** Altıncı haftada **(a)** patolojik (3a) ve **(b)** radyolojik (3b) skorların tedavi gruplarına göre grafik görüntüleri (ortanca değerler temel alınmıştır).

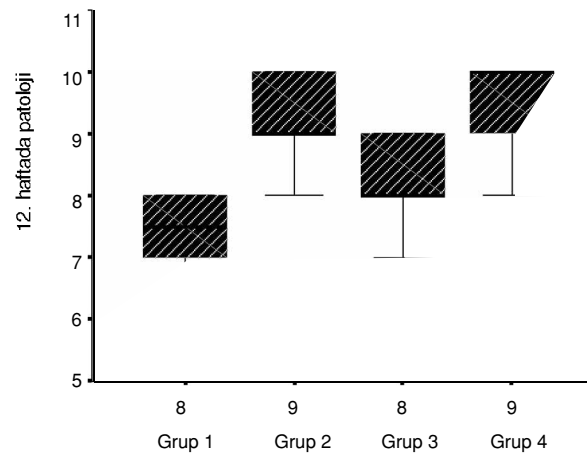


**Şekil 4.** On ikinci haftadaki patolojik incelemeler: **(a)** Grup 1'e ait örnekte tibia (kalın ok) ile greft (ince ok) aktif bağ dokusunun içinde yer yer birleşme sağlayan yeni kemik trabekülleri izlenmektedir (H-Ex100). **(b)** Grup 2'ye ait örnekte tibia (kalın ok) ile greft (ince ok) arasında kemiksel birleşme (çift ok) ve kemik iliğinin oluşmakta olduğu görülüyor (H-Ex100).

Yapılan geniş rezeksiyonlardan sonra oluşan segmenter ve osteoartiküler defektlerin rekonstrüksiyonunu sağlayan birçok mekanik ve histolojik yöntem, avantaj ve dezavantajları bilinerek, günümüzde cerrahın tercih ve tecrübesine bağlı olarak kullanılmaktadır.

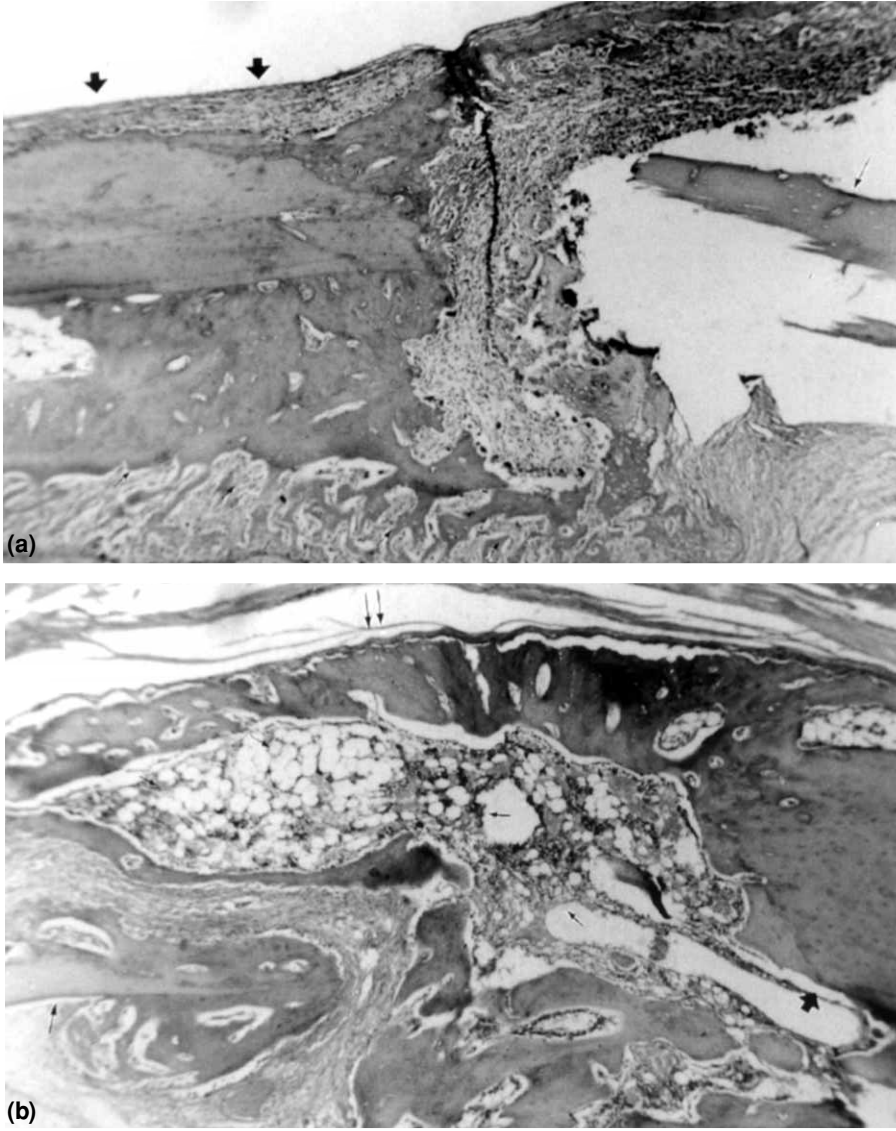
Malign kemik tümörünün rezeksiyonunu takiben çıkarılan parçanın ekstrakorporeal irradyasyonu ve reimplantasyonu bu yöntemlerden biridir.<sup>[1]</sup>

Rezeksiyon alanına anatomik uyum, zaman zaman muskületendinöz yapışma yerinin korunması gibi önemli rekonstrüksiyon avantajlarına rağmen nonunion enfeksiyon gibi komplikasyon oranlarının yüksek olması, bu yöntemin yaygınlaşmasını önlemiştir.<sup>[3]</sup>

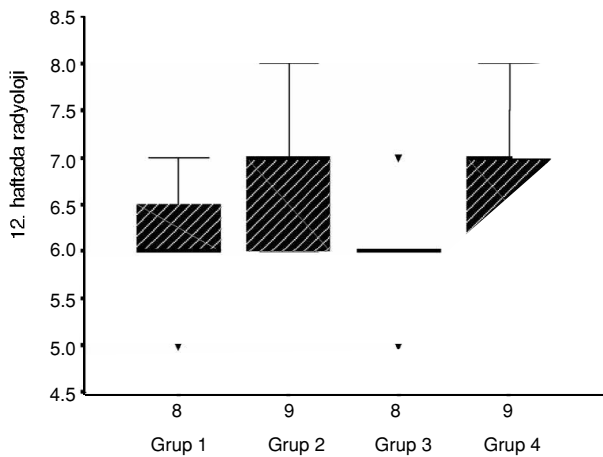


**Şekil 5.** On ikinci haftada patolojik skorların tedavi gruplarına göre grafik görüntüleri (ortanca değerler temel alınmıştır).





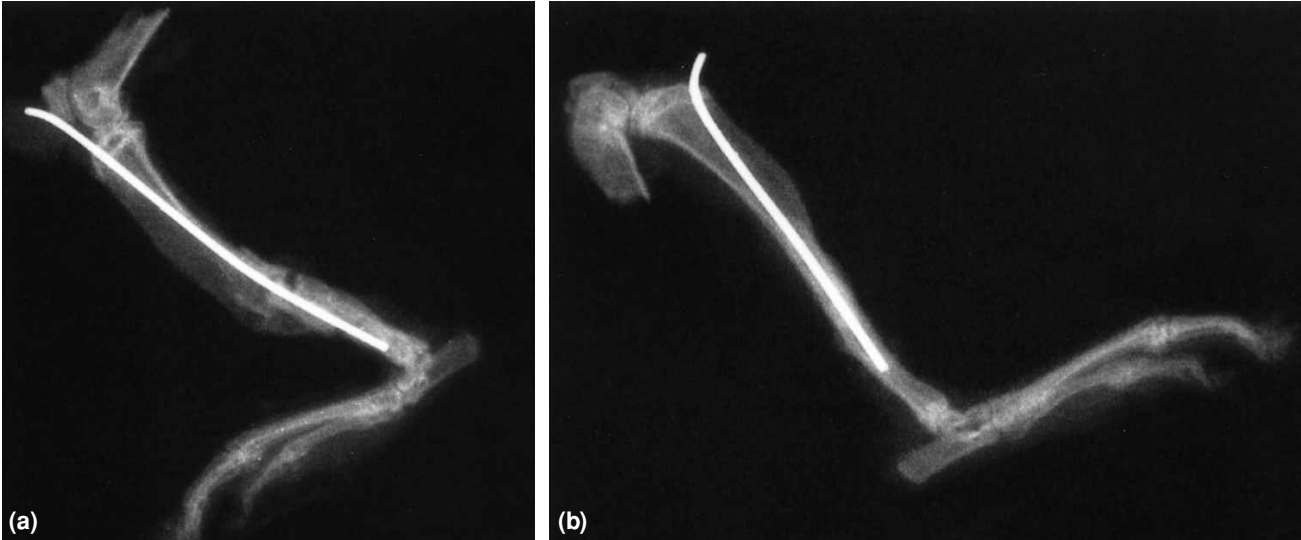
**Şekil 6.** On ikinci haftada, (a) grup 3'e ait bir örnekte nekrotik görünümlü rezorbe olan greft (ince ok) ile tibia (kalın ok) arasında kortikal kemik yapımı izleniyor (H-Ex100). (b) Grup 4'e ait örnekte tibia (kalın ok) ile greft (ince ok) arasında periosteal kemik yapımı (birleşme) ve yeni kemik trabeküller arasında kemik iliği oluşmuştur (H-Ex100).



**Şekil 7.** On ikinci hafta radyolojik skorların tedavi gruplarına göre grafik görüntüleri (ortanca değerler temel alınmıştır).

İrradyasyonun muskuloskeletal sistem üzerindeki, erken ve geç yan etkilerinin profilaksisi amacıyla kullanılan bir tedavi yöntemi bilinmemektedir. Tümörosidal dozdaki ışınlamanın kemik doku üzerindeki etkileri ise iyi bilinmektedir.<sup>[8]</sup> İrradyasyon kemik matriksinin osteoindüktif özelliğini bozmaz.<sup>[9]</sup> Bununla birlikte, matriks, morfojenetik özelliklerin denatürasyonu ve destruksiyonu kaçınılmazdır.<sup>[10]</sup> Kortikal kemiğin belirgin yüzey yapıları ise irradyasyondan etkilenmez; ancak yapılan çalışmalarda elektron mikroskopik olarak otoklavizasyonun, zamana bağlı olarak, fibriller matrikste de tansiyon ve amalgamasyona yol açtığı gösterilmiştir.<sup>[11]</sup>

İrradyasyonun kemik doku üzerine yaptığı tahribat antianjiojenik ve antifibrojenik etkilerle gerçek-



**Şekil 8.** On ikinci haftadaki radyolojik incelemelerin sonuçları. **(a)** Grup 3'e ait bir örnekte kemik iyileşmesinde belirgin ya-  
vaşlık dikkat çekiyor. **(b)** Grup 4'e ait örnekte solid kemik kaynaması izleniyor.

leşir. Devaskularizasyonla karakterize birçok patolojinin tedavisinde kullanılan HBO'nun irradye kemikteki kırık iyileşmesi üzerine etkisinin araştırılması bu çalışmanın temelini oluşturmaktadır. Literatürde irradyasyonun ve HBO'nun kemik doku üzerine etkileri ile ilgili birçok yayın mevcuttur; ancak HBO tedavisinin kırık iyileşmesi üzerine irradyasyonun yaptığı etkileri ne derece geri döndürdüğünü araştıran bir yayına rastlamadık. Bu çalışmada oluşturulan kontrol grupları sayesinde (i) HBO tedavisinin kırık iyileşmesi üzerine etkisi, (ii) radyoterapinin kırık iyileşmesi üzerine etkisi ve (iii) HBO tedavisinin irradye kemiğin kırık iyileşme kapasitesini nasıl etkilediği incelenmiştir.

Hiperbarik oksijen tedavisinin kemik iyileşmesi ve greft inkorporasyonu üzerine etkisi konusunda çeşitli araştırmalar yapılmıştır.<sup>[12-14]</sup> Nilsson,<sup>[12]</sup> sıçan mandibulalarında uygulanan osteotominin iyileşmesi üzerine deneysel araştırmasında, HBO tedavisinin etkisini, lokal kanlanmanın ölçülmesi gibi dinamik ve serum alkalen fosfataz değerinin tayini gibi indirekt biyokimyasal yöntemlerle değerlendirmiştir. Hiperbarik oksijen tedavisi alan grupta, lokal kan akımının anlamlı derecede attığı ve doku yıkımının azaldığı gözlenmiştir. Çalışmamızda da, HBO tedavisi gören grubun, kontrol grubuna altıncı haftada histopatolojik ( $p=0.001$ ) ve 12. haftada hem histolojik hem de radyolojik üstünlük sağladığı gösterilmiştir.

Primer veya sekonder kırık iyileşmesi yetmezliği olan kişilerde, konvansiyonel travmatolojik tedavi yöntemlerinin türleri ve etkileri bilinmektedir. Elde ettiğimiz sonuçların, lokal veya sistemik nedenlerden dolayı kaynama gecikmesi potansiyeli taşıyan hastalarda HBO tedavisinin rolü üzerine yeni bir tartışma başlatacağını düşünüyoruz.

Aitasalo'nun<sup>[15]</sup> cerrahi travmaya uğramış tavşan tibiasına irradyasyonun etkilerini araştıran çalışması oldukça dikkat çekicidir. Tek doz irradyasyondan bir gün sonra, kemik iliğinde hemoraji, erozyon ve ödem oluşmuştur. Takip eden 11 hafta boyunca ödem ve fibrozis histolojik tabloda sürekli yer almıştır. Değişiklikler doza bağlı olarak artış göstermiştir. Kortikal kemikteki hasarın göstergesi olan boş lakünler birinci günden itibaren gözlenmiş ve 20 Gy'i aşan dozlarda bu dejeneratif etki asgari düzeye düşmüştür. Yine akut dönemde, tüm dokularda  $pO_2$  değerleri düşerken, sekizinci haftadan sonra bu değerler normal düzeye geri dönmüştür. Kemik metabolizmasının göstergesi olan alkalen fosfataz, asit fosfataz, sitokrom oksidaz, laktat dehidrogenaz, süksinat dehidrogenaz düzeyleri irradyasyondan hemen sonra akut bir düşüş gösterirler. Sekiz ve on ikinci haftalar arası bu enzimler normal seviyelerine dönerler.<sup>[15]</sup>

Arnold ve ark.<sup>[16]</sup> ise yaptıkları deneysel çalışmada Wistar cinsi sıçanlarda femurda mikrokotikal bir drill defekti meydana getirmişler ve bir gün sonra

cerrahi bölgeye tek doz, gruplara göre değişen büyüklükte irradyasyon uygulamışlardır. Kontrol grubunda kemik iyileşmesi yedinci haftada tamamlanmıştır. 15 Gy ve altındaki dozlarda primer kallus ve matür kemik oluşumunda doza bağımlı bir gecikme görülürken; daha yüksek dozlarda 30. haftaya kadar yapılan takiplerde kemik iyileşmesinde gecikme, hatta duraksama gözlenmiştir.<sup>[16]</sup>

Pelker ve Friedlaender,<sup>[17]</sup> cerrahi olarak defekt yaratılan Sprague Dawley sıçanlarda çeşitli doz ve fraksiyonlarda irradyasyon uygulamışlar ve sonuçları değerlendirmişlerdir. İki ayrı doz ve fraksiyonu (1100 rad/tek doz, 2500 rad/10 doz 12 gün) ve üç ayrı tedavi başlangıç protokolü (kırıktan bir gün önce, 3 ve 20 gün sonra) seçilmiştir. Tüm gruplardaki kırıklar, üçüncü günde tek doz 1100 rad uygulanan sıçanlar hariç, çeşitli oranlardaki gecikmelerle birlikte iyileşmiştir. İstisnai grupta ise, tüm kontrol süresi boyunca histolojik immatür dokular gözlenmiştir. Bu sonuçlar, irradiye kemiklerde kırık, refraktür, kaynama gecikmesi, irradiye alanlarda allogreft uygulanması ve bunların iyileşmesi ile ilgili komplikasyonlar üzerine klinik gözlemlere açıklama getirebilirler.

Çalışma grubumuza daha benzer bir çalışma DeSantis ve ark.<sup>[18]</sup> tarafından yayınlanmıştır. Yeni Zelanda tavşanlarının tibialarında segmenter rezeksiyon (damar pediküllü ve damar pedikülsüz) yapılmış ve rezektatlar reimplante edilmiştir. Operasyondan iki hafta sonra, kontrol grupları ayrı tutularak, çalışma gruplarına fraksiyonel olarak toplam 48 Gy ışın verilmiştir. Operasyondan dokuz ve 17 hafta sonra deney hayvanları sakrifiye edilmiş, örnekler histolojik, radyolojik ve biyomekanik olarak incelenmiş, irradyasyonun greft inkorporasyonu üzerine olumsuz bir etkisi gösterilememiştir.<sup>[18]</sup>

Bu konuda en son yapılan ve bizim deney düzenimizin üçüncü grubuna benzerlik gösteren bir çalışma Voggenreiter ve ark.na<sup>[11]</sup> aittir. Wistar sıçanlarının tibialarına segmenter rezeksiyon, irradyasyon ve reimplantasyon uygulanmıştır. Kontrol grubu dışında 1, 5, 25, 50 kGy dozlarında irradyasyon kümeleri oluşturulmuş ve deney hayvanları 3, 6, 9 ve 12. haftalarda sakrifiye edilerek örnekler radyolojik ve histomorfometrik yöntemlerle değerlendirilmiştir. 50 kGy kümesindeki tüm greftler üçüncü haftada kırıldıkları için, bu grup çalışma dışında tutulmuştur. Üçüncü ve altıncı haftaların sonunda, kontrol grubu,

1 ve 5 kGy ışınlama grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. 25 kGy ışınlama grubunda altıncı haftadan itibaren iyileşmede gecikme başlamış ve 12. haftanın sonuna kadar sürmüştür (inkorporasyonda %50 azalma). On ikinci haftanın sonunda 1 ve 5 kGy ışınlanmış greftler kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında, biyolojik potansiyellerinin büyük kısmını korudukları (inkorporasyonda %16-24 azalma) görülmüştür.<sup>[11]</sup> Bu çalışmanın sonuçları, kemik tümörlerinin rezeksiyon-irradyasyon ve reimplantasyonunun allogreftlere iyi bir alternatif teşkil edebileceği şeklindeki yorumlanabilir.

Çalışma grubumuzun bir farkı, mevcut tüm canlı hücrelere öldürücü etki gösteren, potansiyel tümörisidal, 50 cGy'lik bir dozun tek bir kerede ve intraoperatif olarak verilmesidir. On beşinci gün, altıncı hafta ve 12. hafta sonunda yaptığımız histolojik ve radyolojik tetkikler sonucunda kontrol grubu ile irradyasyon grubu arasında anlamlı bir fark bulamadık. Ancak 12. haftanın sonunda yapılan histolojik değerlendirmede, kontrol grubundakinin aksine, nekrotik alanların var olması, istatistiksel analizlerin  $p=0.006$  (Kruskar-Wallis) ve  $p=0.05$  (Mann-Whitney U) gibi anlamlılığa çok yakın değerler vermesi, irradyasyonun geç dönemde kırık iyileşmesini negatif yönde etkilediği görüşünü desteklemektedir.

Hiperbarik oksijen tedavisi, irradiye kemiğin bozulan biyolojik iyileşme potansiyelini geri döndürebilir mi? Literatürde bu sorunun cevabını ve dolayısıyla getireceği klinik avantajları sorgulayan herhangi bir yayına rastlamadık. Benzer amaçla yapılan bir deneysel çalışmada, Larsen ve ark.<sup>[5]</sup> irradiye kemik zemininde uygulanan implantların integrasyonuna HBO tedavisinin etkisini araştırmışlardır. Tavşan tibialarında yapılan deneyde preoperatif fraksiyone total 4500 rad ışınlanan zeminde uygulanan implantların, adjuvan HBO tedavisi alan grupta anlamlı olarak daha iyi entegre olduğu gösterilmiştir.<sup>[5]</sup>

Wang ve ark.nın<sup>[19]</sup> başka bir çalışmada irradiye fare femurlarının büyüme potansiyelinin azaldığı ve HBO tedavisinin 33. hafta sonunda 10 ve 20 Gy'lik çalışma grubunda bu yan etkiyi ortadan kaldırdığı, 30 Gy'lik ışınlama grubunda ise büyüme retardasyonunun devam ettiğini göstermişlerdir. Çalışmamızda ise, rezeke edilen kemik segmenti protez alternatifi olarak kullanılmış ve kemiğe entegrasyonu (kemik iyileşmesi) incelenmiştir. Bu farklı amaçlar nedeniyle, kullandığımız 50 Gy'lik radyasyonun kemik iyi-

leşmesi üzerindeki etkilerinin hiperbarik oksijen ile geri döndürüldüğü izlenmiştir.

Çalışmamızda, adjuvan HBO tedavisi kontrol grubuna göre ve irradiye greft grubuna göre hem histolojik hem de radyolojik olarak anlamlı üstünlük göstermiştir. Özellikle 12. haftanın sonunda 4. grupta, 3. gruba göre anlamlı üstün histolojik ( $p=0.007$ ) ve radyolojik ( $p=0.02$ ) skorlar elde edilmesi, HBO tedavisinin irradyasyonun geç dönem fibrotik etkilerini geri döndürebildiğini göstermektedir.

Hiperbarik oksijen tedavisinin, bu etkileri hangi mekanizma ile gerçekleştirdiği henüz tam olarak bilinmemektedir. Ancak bu tedavinin zamanlaması iyi ayarlanmalıdır. Erken başlayan tedavi toksisiteyi artırma riskini taşır. Bu istenmeyen etkiye yol açan toksik süper oksit radikaller uygun zamanlama ile rahatça absorbe olurlar ve detoksifiye edici süper oksit dismutaz benzeri enzimlerin seviyelerinde artış görülür.<sup>[20]</sup>

Hiperbarik oksijen tedavisinin kemik greftlerinin iyileşmesi üzerine etkisini araştıran deneysel çalışma sayısı oldukça azdır. Bu çalışmaların hemen hepsi farklı tür greftlerin iyileşmesini değişik yöntemlerle araştırmıştır. Bu nedenle, yazının tartışma bölümünde yöntem ve bulgularımızı diğer çalışmalarla karşılaştırmaktan çok onların bulgularını özetledik.

Sonuç olarak;

1. Hiperbarik oksijen tedavisi konvansiyonel greftlerin iyileşmesini altıncı hafta sonunda hem histolojik ( $p=0.0001$ ) hem de radyolojik olarak ( $p=0.05$ ) anlamlı derecede artırmaktadır.

2. Tek seans ve tümörosidal dozda uygulanan irradyasyon (5000 rad) konvansiyonel kemik iyileşmesini kronik dönemde negatif etkilemeye başlar.

3. Hiperbarik oksijen tedavisi geç dönemde irradyasyonun kemik iyileşmesi üzerine olan antianjiyogenik ve antifibrotik etkisini geri döndürebilir. Bu etki bizim çalışmamızda 12. hafta sonunda hem histolojik ( $p=0.007$ ) hem de radyolojik ( $p=0.02$ ) yöntemlerle gösterilmiştir.

4. İrradyasyonun kemik dokusunun biyolojik potansiyelleri üzerine olan negatif etkisinin HBO ile geri döndürülebileceğini gösteren bu çalışmanın bir sonraki aşaması, kemik dokunun mekanik potansiyelleri ve osteoartiküler greftlerin sınanması amacıyla kırıldak doku üzerinde gerçekleştirilmelidir.

5. Hipotezimiz hem biyolojik hem de mekanik yöntemlerle sılandıktan sonra, rezeksiyon-irradyasyon-reimplantasyon-HBO tedavisi, malign kemik tümörlerinin rezeksiyonu sonrası uygulanabilecek seçkin bir rekonstrüksiyon yöntemi olarak kabul edilebilir.

## Kaynaklar

1. Springfield DS. Joint reconstruction after tumor resection. In: Petty W, editor. Total joint replacement. 1st ed. Philadelphia: WB Saunders; 1991. p. 957-69.
2. Sim FH, Beauchamp CP, Chao EY. Reconstruction of musculoskeletal defects about the knee for tumor. Clin Orthop 1987;(221):188-201.
3. Pho RW, Taguchi Y. Knee joint preservation with autoclaved bone reconstruction augmented with vascularized fibular graft and bone marrow transplantation. Proceedings of the 8th ISOLS Meeting; 1995 April; Florence, Italy, 1995. p. 33.
4. Jain KK. Hyperbaric oxygen therapy in wound healing. In: Jain KK, Neubauer R, Correa G, editors. Textbook of hyperbaric medicine. Toronto: Hogrefe and Huber Publishing; 1990. p. 193-204.
5. Larsen PE, Stroncsek MJ, Beck FM, Rohrer M. Osteointegration of implants in radiated bone with and without adjunctive hyperbaric oxygen. J Oral Maxillofac Surg 1993;51:280-7.
6. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, Friedlaender GE. The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. J Orthop Res 1991;9:383-90.
7. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. Orthop Clin North Am 1987;18:213-25.
8. Marx RE. Osteoradionecrosis: a new concept of its pathophysiology. J Oral Maxillofac Surg 1983;41:283-8.
9. Schwarz N, Redl H, Schiesser A, Schlag G, Thurnher M, Lintner F, et al. Irradiation-sterilization of rat bone matrix gelatin. Acta Orthop Scand 1988;59:165-7.
10. Urist MR, Hernandez A. Excitation transfer in bone. Deleterious effects of cobalt 60 radiation-sterilization of bank bone. Arch Surg 1974;109:586-93.
11. Voggenreiter G, Ascherl R, Blumel G, Schmit-Neuerburg KP. Extracorporeal irradiation and incorporation of bone grafts. Autogenic cortical grafts studied in rats. Acta Orthop Scand 1996;67:583-8.
12. Nilsson LP. Effects of hyperbaric oxygen treatment on bone healing. An experimental study in the rat mandible and the rabbit tibia. Swed Dent J Suppl 1989;64:1-33.
13. Sawai T, Niimi A, Takahashi H, Ueda M. Histologic study of the effect of hyperbaric oxygen therapy on autogenous free bone grafts. J Oral Maxillofac Surg 1996;54:975-81.
14. Kerwin SC, Lewis DD, Elkins AD, Oliver JL, Hosgood G, Pechman RD Jr, et al. Effect of hyperbaric oxygen treatment on incorporation of an autogenous cancellous bone graft in a nonunion diaphyseal ulnar defect in cats. Am J Vet Res 2000;61:691-8.
15. Aitasalo K. Bone tissue response to irradiation and treatment model of mandibular irradiation injury. An experimental and clinical study. Acta Otolaryngol Suppl 1986;428:1-54.
16. Arnold M, Kummermehr J, Trott KR. Radiation-induced impairment of osseous healing: quantitative studies using a standard drilling defect in rat femur. Radiat Res 1995; 143:77-84.

17. Pelker RR, Friedlaender GE. The Nicolas Andry Award-1995. Fracture healing. Radiation induced alterations. Clin Orthop 1997;(341):267-82.
18. De Santis G, Williams JF, Dvir E, O'Brien BM, Hurley JV, Goldberg I. Effect of postoperative radiation on the incorporation of tibial bone grafts in the rabbit. J Bone Joint Surg [Br] 1990;72:309-11.
19. Wang X, Ding I, Xie H, Wu T, Wersto N, Huang K, et al. Hyperbaric oxygen and basic fibroblast growth factor promote growth of irradiated bone. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1998;40:189-96.
20. Lian QL, Hang RC, Yan HF, Chen T, Ni GT, Lu HQ, et al. Effects of hyperbaric oxygen on S-180 sarcoma in mice. Undersea Hyperb Med 1995;22:153-60.